

VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

UN ENEMIGO SILENCIOSO
EN EL ECUADOR Y EL MUNDO



REDLIC
Red Editorial
Latinoamericana de
Investigación Contemporánea

VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

UN ENEMIGO SILENCIOSO EN
EL ECUADOR Y EL MUNDO



Título: Virus del Papiloma Humano
Un Enemigo Silencioso en el Ecuador
y el mundo.

Primera edición: Febrero 2024

e - ISBN: 978-9942-7159-7-5

DOI:

<https://doi.org/10.58995/lb.redlic.29>

Link:

<https://redliclibros.com/index.php/publicaciones/catalog/book/29>

Obra sometida al arbitraje por pares académicos bajo la modalidad de doble par ciego.



Este material está registrado bajo licencia Creative Commons International, con permiso para reproducirlo, publicarlo, descargarlo y/o distribuirlo en su totalidad únicamente con fines educativos y/o asistenciales sin ánimo de lucro, siempre que se cite como fuente a los autores y a la Red Editorial Latinoamericana de Investigación Contemporánea.

Cuenca - Ecuador

Producción editorial y coordinación técnica



Red Editorial Latinoamericana de Investigación Contemporánea REDLIC S.A.S. (978-9942-7063)



Avenida 3 de Noviembre y Segunda Transversal



www.editorialredlic.com



rev.investigacioncontemporanea@gmail.com
contactos@editorialredlic.com



+593 98 001 0698

Coordinador editorial:

REDLIC Red Editorial Latinoamericana de Investigación Contemporánea S.A.S.

Diseño de portada: Pablo Cueva

Diseño y diagramación: Pablo Cueva



<https://doi.org/10.58995/lb.redlic.29>

AUTORES

Julia Irma Carrión Ordóñez
Universidad Católica de Cuenca

Sara Elizabeth Bravo Salinas
Universidad Católica de Cuenca

Fabian Alejandro Escandón Carrión
Universidad Católica de Cuenca

María Augusta Escandón Carrión
Universidad Católica de Cuenca

¿CÓMO CITAR?

Cita

(Carrión Ordoñez et al., 2024)

Referencia

Carrión Ordoñez JI, Bravo Salinas SE, Escandón Carrión FA, Escandón Carrión MA. Virus del Papiloma Humano. Cuenca: Red Editorial Latinoamericana de Investigación Contemporánea, 2024.

AVISO LEGAL

IMPORTANTE

Los contenidos presentados en este libro son para fines informativos y educativos, y no sustituyen el diagnóstico, tratamiento o consejo médico profesional. Los autores, editores y publicadores no se hacen responsables de cualquier consecuencia derivada del uso o interpretación de la información presentada en este libro. Se recomienda a los lectores consultar a profesionales de la salud cualificados para obtener un diagnóstico adecuado y un tratamiento personalizado.

PRÓLOGO

El Virus del papiloma humano (en adelante HPV) es una infección de transmisión sexual que, por lo general, afecta mayoritariamente las mucosas orales y genitales, causa crecimiento (conocidas como vegetaciones o verrugas) en piel o membranas mucosas, existiendo más de 200 variedades del virus, siendo causantes de patologías benignas en la mayor parte de pacientes, sin embargo, algunos tipos son los causantes de varios cánceres como cáncer de ano, pene, vagina, vulva u orofaringe, siendo el cáncer cervical el más frecuente, constituyéndose este último en uno de los cánceres más silenciosos, siendo el cuarto tipo de cáncer más frecuente en las mujeres a nivel mundial, por lo que se ha vuelto un problema de salud pública a nivel global.

A pesar de las múltiples patologías causadas por el HPV, en la actualidad existen vacunas para la protección contra las cepas que puedan causar tanto verrugas genitales o cáncer de cuello del útero, aunque en la mayoría de casos el sistema inmunitario vence la infección del virus antes de crear las verrugas. Muchas veces, han transcurrido semanas o meses, incluso años, antes de su aparición y el tipo de verrugas estará determinado por la cepa del virus.

En el caso del cáncer cervical el desarrollo del mismo puede tardar hasta veinte años o más después de una infección por el HPV, siendo muy silencioso los primeros estadios, lo que se puede evidenciar con una prueba de Papanicolaou, por lo que hoy en día es imprescindible la promoción de un adecuado chequeo ginecológico, sobre todo, en mujeres sexualmente activas, en período fértil e incluso

posmenopáusicas. Aunque las mujeres mayores de 65 años también pueden hacerse un Papanicolau, éstas pueden dejar de hacerse la prueba si se han obtenido resultados normales en tres pruebas de Papanicolaou seguidas o si se hicieron dos análisis de ADN del virus del papiloma humano y pruebas de Papanicolaou sin resultados anormales.

En cualquier caso, un chequeo-y una prueba a tiempo pueden permitir una adecuada pesquisa, instaurando un tratamiento adecuado dependiendo del grado de afectación, que influya de forma positiva en el futuro del individuo, su familia y su entorno. Por ende, este libro describe las principales características del virus y los principales hallazgos en la población ecuatoriana.

Sara Elizabeth Bravo Salinas

Médico especialista en Medicina Familiar y Comunitaria
Máster en Atención de pacientes con VIH
Especialista en Docencia Universitaria
Universidad Católica de Cuenca

VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO
UN ENEMIGO SILENCIOSO EN EL
ECUADOR Y EL MUNDO

ÍNDICE

Introducción :Capítulo

I

15	Introducción
16	Antecedentes
19	Novedad Científica

Fundamentación Teórica :Capítulo

II

22	Tejidos Susceptibles a la infección por VPH y localización Anatómica
24	Antecedentes sobre el virus del papiloma humano
24	Clasificación y Taxonomía
26	Estructura, Organización Genómica y Proteínas virales del VPH
28	La Replicación del VPH y diferenciación del epitelio
29	Historia Natural de la infección por VPH
33	Manifestaciones Clínicas
40	Histología y Colposcopia
42	Factores de Riesgo Asociados a las transmisión, prevalencia y persistencia de la infección con VPH

Epidemiología del VPH y el caCu a nivel mundial y en Ecuador	44
Diagnóstico de las infecciones con VPH	47
Prevención y Control	49

III

Capítulo: Diseño Metodológico

Diseño del estudio y contexto	60
Universo y muestra	60
Criterios de Inclusión y Exclusión	61
Definición y Operacionalización de las variables	61
Técnicas y procedimientos	68

IV

Capítulo: Resultados y Discusión

Principales hallazgos del estudio	78
Características generales de la población estudiada	78
Resultados de la citología cervico-vaginal o prueba de papanicolaou	83
Infección con el virus del papiloma humano en mujeres residentes en el Cañar	92

VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO
UN ENEMIGO SILENCIOSO EN EL
ECUADOR Y EL MUNDO

ÍNDICE

100 Infección con VPH en las mujeres
estudiadas que presentan
alteraciones en la prueba de
papanicolaou

115 Variables sociodemográficas,
clínicas y epidemiológicas
asociadas a la infección con el
virus del papiloma humano

130 Consideraciones Generales

Conclusiones

V

136 Conclusiones

Anexos

VI

163 Anexos

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características generales de las proteínas de VPH.	28
Tabla 2. Grupos étnicos de la parroquia General Morales del cantón Cañar.	56
Tabla 3. Descripción de la población femenina de la parroquia General Morales según los grupos etarios.	57
Tabla 4. Operacionalización de variables.	63
Tabla 5. Datos sociodemográficos y epidemiológicos de mujeres estudiadas, residentes en el Cañar, Ecuador.	79
Tabla 6. Historia sexual y datos ginecológicos de las mujeres estudiadas.	80
Tabla 7. Distribución de las lesiones citológicas en los dos grupos de mujeres analizadas, rurales y urbanas.	88
Tabla 8. Distribución de los genotipos más frecuentes identificados en el presente estudio, según el diagnóstico citológico del total de mujeres cañaris examinadas.	100
Tabla 9. Variables sociodemográficas, clínicas y epidemiológicas asociadas a la infección con el Virus del Papiloma Humano en mujeres residentes en la provincia de Cañar, Ecuador.	117
Tabla 10. Variables sociodemográficas, clínicas y epidemiológicas asociadas a la infección con el Virus del Papiloma Humano en mujeres indígenas residentes en la zona rural del Cañar.	121
Tabla 11. Variables sociodemográficas, clínicas y epidemiológicas asociadas a la infección con el Virus del Papiloma Humano en mujeres residentes en el área urbana de la provincia del Cañar.	124

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Anatomía interna e histológica del cuello uterino	22
Figura 2. Representación gráfica de los tipos de epitelios en el cérvix. ...	23
Figura 3. Historia natural de la infección por VPH. Infección productiva	31
Figura 4. Historia natural del cáncer cervicouterino. Infección por VPH-AR y persistencia viral.....	33
Figura 5. Cambios celulares reactivos-reparadores.....	35
Figura 6. Células atípicas de significado indeterminado (ASC-US).	36
Figura 7. Atipia de células escamosas que no excluye una lesión de alto grado (ASC-H).	38
Figura 8. Lesión intraepitelial de bajo grado.....	38
Figura 9. Lesión intraepitelial de alto grado (HSIL).....	39
Figura 10. Fotografías de Colposcopías.....	41
Figura 11. Mapa de Cañar, Ecuador.....	55
Figura 12. Flujograma y principios moleculares del estuche comercial CLART® HPV2 (Genómica, España).	72
Figura 13. Muestras citológicas de células superficiales y zona de transición.....	84
Figura 14. Extendido citológico con lesiones escamosas intraepiteliales de bajo grado	85
Figura 15. Muestras citológicas con células escamosas atípicas de significado indeterminado	86
Figura 16. Extendidos citológicos con lesiones escamosas intraepiteliales de alto grado.....	87
Figura 17. Frecuencia de infección por el Virus del Papiloma Humano en mujeres residentes en el Cañar, Ecuador.....	94

Figura 18. Frecuencia de infección por el Virus del Papiloma Humano en mujeres indígenas, residentes en la zona rural de la provincia del Cañar, Ecuador.	95
Figura 19. Frecuencia de infección por el Virus del Papiloma Humano en mujeres residentes en la zona urbana de la Provincia del Cañar, Ecuador...	96
Figura 20. Carga viral de los genotipos del Virus del Papiloma Humano de alto riesgo oncogénico en mujeres del Cañar.	106
Figura 21. Carga viral de los genotipos del Virus del Papiloma Humano de alto riesgo oncogénico más frecuentes en mujeres residentes en la zona rural y urbana del Cañar.....	107
Figura 22. Carga viral del Virus del Papiloma Humano tipo 16 en mujeres residentes en la zona rural y urbana del Cañar.....	108
Figura 23. Carga viral del Virus del Papiloma Humano tipos 32 y 58 ..	109
Figura 24. Carga viral del Virus del Papiloma Humano tipos 59 y 66 ..	110
Figura 25. Carga viral del Virus del Papiloma Humano por lesiones en mujeres residentes de la provincia Cañar.....	111
Figura 26. Flujograma de la investigación con los principales resultados.	132



REDLIC | Red Editorial
Latinoamericana de
Investigación Contemporánea

CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Los Virus del Papiloma Humano (VPH) son partículas virales de ácido desoxirribonucleico (ADN), pertenecientes a la familia *Papillomaviridae* y causantes de la infección de transmisión sexual (ITS) más frecuente en todo el mundo (1). Como el resto de los virus de esta familia, los VPH tienen un marcado tropismo por las células epiteliales, por lo que originan infecciones productivas en el epitelio estratificado de la piel y las mucosas, principalmente de los humanos (2, 3).

La historia natural de la infección por VPH en el cuello uterino, indica que la mayoría de las infecciones pueden ser autolimitadas sin ningún cambio citológico detectable. No obstante, en los casos sintomáticos las manifestaciones clínicas incluyen condilomas benignos y lesiones intraepiteliales cervicales de diferente grado. De estas manifestaciones clínicas solo cerca del 10% resultan en lesiones persistentes, de las cuales, aproximadamente el 75% evoluciona hacia la carcinogénesis (4, 5).

Estudios basados en evidencias epidemiológicas, clínicas y virológicas han permitido demostrar que la infección por VPH es la causa etiológica del cáncer cervicouterino (CaCU). Esta infección también se encuentra asociada a otros tipos de cáncer de origen epitelial; como las neoplasias de ano, de genitales externos y carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello, fundamentalmente de laringe y orofaringe (6).

Se han descrito hasta la fecha, aproximadamente 120 genotipos de VPH, que, de acuerdo a su potencialidad para inducir carcinogénesis, se clasifican en genotipos de alto y de bajo riesgo oncogénico. Dentro del grupo de alto riesgo oncogénico (VPH-AR) se incluyen entre 15 y 19 genotipos que se relacionan, en mayor o menor proporción, con la etiología del CaCU (7).

La prevalencia de la infección por VPH está asociada a algunos factores relacionados con la pobreza y la marginación de la población, así como al poco

acceso a los programas de salud (8). La Sociedad Americana del Cáncer (del inglés, *American Cancer Society*) en el 2019, definió el papel de los factores relacionados con la infección por VPH y el desarrollo del CaCU.

Entre ellos, el tabaquismo, la inmunosupresión, la alta frecuencia de infecciones de transmisión sexual, particularmente la infección por *Chlamydia trachomatis*, la mala alimentación, el sobrepeso, el uso prolongado de anticonceptivos hormonales, uso de dispositivos intrauterinos, partos vaginales múltiples, abortos, embarazo antes de los 17 años, la pobreza y los antecedentes familiares de cáncer de cuello uterino (9). También se ha demostrado la relación entre la alta frecuencia de infección y las conductas sexuales de riesgo como el inicio temprano de las relaciones sexuales desprotegidas y el número de compañeros sexuales. Todos estos aspectos pueden incidir directa o indirectamente en la susceptibilidad y persistencia de la infección (10).

ANTECEDENTES

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el CaCU es el cuarto tipo de cáncer más frecuente en mujeres en el mundo y la incidencia varía de acuerdo a la región geográfica. Se calcula que en 2018 hubo 570 000 casos nuevos, que representaron el 7,5% de la mortalidad femenina por cáncer. Un dato muy relevante es que, de las aproximadamente 311 000 defunciones por CaCU que se registran cada año, más del 85% se produce en las regiones menos desarrolladas (11).

El CaCU es la segunda neoplasia más común en mujeres de América Latina, con 68 818 casos anuales. La incidencia en la región es de 21,2 casos por 100.000 mujeres, con valores superiores a 30 en algunos países de la región, según los datos publicados por la OMS (12, 13). Bolivia constituye el país latinoamericano con mayor tasa de mortalidad debido a esta afección, seguido de Perú y Ecuador (12-14).

Asimismo, la prevalencia del VPH en América Latina es dos veces más alta comparada con el promedio mundial y tres veces más alta que en Norteamérica y Canadá (15, 16). Las tasas de incidencia del VPH van desde un 20 a 80 por 100.000 mujeres y 31 712 muertes por CaCU cada año, asociadas a la infección viral, la cual

aporta la mayor carga de enfermedad atribuible a este agente. Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS) si la tendencia actual continúa, el número de casos alcanzará la cifra de más de 110 000 casos anuales para el año 2030. Todo ello evidencia las enormes desigualdades en cuanto a la salud pública en los países de Latinoamérica (17).

En Latinoamérica, son pocos los estudios realizados en los últimos años acerca de la prevalencia del VPH y los genotipos circulantes. No obstante, se resalta la presencia de los tipos 16 y 18, más frecuentemente asociados a lesiones precancerosas y al CaCU. Existen reportes recientes sobre altas prevalencias para otros tipos de VPH diferentes al 16 y 18, sobre todo, los tipos 33 y 58 al noroeste de Brasil, sur de México, Argentina, Colombia y Ecuador (18-21).

En los últimos veinte años se han realizado pocos estudios sobre la epidemiología del VPH en Ecuador. La mayor parte de los estudios efectuados se basan en variados métodos de detección y tipificación de VPH, por lo que existen discrepancias en cuanto a la prevalencia de los genotipos de VPH de mayor circulación (22, 23). El Ministerio de Salud Pública (MSP) de este país, en el año 2014, realizó un estudio sobre genotipificación del VPH y su relación con el CaCU. En dicho estudio, el VPH 16 se detectó con mayor frecuencia en la población femenina, seguido del VPH 18. Estos son los genotipos de alto riesgo oncogénico más frecuentemente asociados a lesiones precursoras y al CaCU en el mundo (24). Sin embargo, en investigaciones recientes se muestra que, aunque el VPH 16 presenta una alta frecuencia en la población femenina, el VPH 58 se detecta también en una elevada proporción en mujeres ecuatorianas (21).

Según el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC) (25) del Ecuador, aproximadamente, 20 de cada 100 000 mujeres padecen CaCU en el Ecuador y se presentan 1 200 casos nuevos cada año, de esas mujeres, 300 fallecen por esta causa (26). Estos datos no se han actualizado en los últimos 10 años. La Sociedad de Lucha Contra el Cáncer (SOLCA) de Guayaquil, que es una institución privada, durante el periodo 2013-2017 reportó un total de 18 805 casos nuevos de cáncer en diferentes localizaciones, de los cuales, el 63% fueron mujeres y 37% hombres. De acuerdo al

tipo de cáncer en mujeres, se presentaron con mayor frecuencia; en primer lugar, el CaCU con un 14,4%, seguido por el cáncer de mama (27).

Añadido a esta situación epidemiológica en el Ecuador, según los datos publicados por la Organización Panamericana de la Salud (OPS), hasta el año 2013, la cobertura de la citología era muy baja, aproximadamente de un 28%. Además, el MSP no ha actualizado las guías de tamizaje del CaCU, desde el año 1999. Hasta el momento no están incluidas técnicas moleculares para la detección del VPH, manteniendo solo el uso de la citología convencional (técnica de Papanicolaou) para el diagnóstico (28, 29). Sin embargo, recientemente se han introducido en el Ecuador las vacunas comerciales contra el VPH, lo cual aumenta la posibilidad de prevenir la infección por este agente y disminuir el número de mujeres con CaCU en el futuro (21). Sin embargo, no toda la población femenina tiene acceso a estas vacunas preventivas ni a los programas de detección precoz del CaCU.

En este escenario, se hace necesario contar con información epidemiológica sobre la circulación del VPH en diferentes poblaciones femeninas del Ecuador. Es por lo tanto de gran relevancia determinar la frecuencia de circulación y los genotipos más frecuentes del VPH en las poblaciones vulnerables desde el punto de vista socioeconómico, así como los factores que pudieran influenciar en el desarrollo del CaCU.

Tal es el caso de Cañar, un cantón del Ecuador, situado en la región andina y en la provincia del mismo nombre. En ese territorio los índices de pobreza son elevados, la población femenina representa el 53,9% y de ellas, el 30% son analfabetas, sólo un 22,6% del total de habitantes reside en la zona urbana. Existen diferencias reconocidas entre los asentamientos urbanos y rurales del pueblo cañari, pues la migración de grupos poblacionales hacia la zona urbana durante los últimos 30 años, ha generado diferentes estilos de vida y un marcado mestizaje en los individuos del área urbana. Sin embargo, en los asentamientos rurales, se mantiene y acentúa la etnicidad indígena-quechua, tanto desde el punto de vista sociocultural, como lingüístico (30, 31). Por esas razones, las poblaciones femeninas que han residido en diferentes asentamientos, urbanos o rurales, han estado expuestas a

diferentes factores, desde el punto de vista étnico, cultural, socioeconómico y a diferentes estilos de vida, incluso bajo la influencia medioambiental (31). Existen muy pocas investigaciones enfocadas a la detección de VPH y lesiones citológicas en mujeres del cantón Cañar; donde de manera general, la población cañari femenina sufre las consecuencias de las deficiencias en la infraestructura sanitaria, difícil acceso a los servicios de salud, tradiciones socioculturales y religiosas propias de los pueblos originarios que pudieran influir en la aparición y desarrollo de diversas patologías cervicouterinas, asociadas o no, a la infección con VPH (14).

A partir de estos antecedentes, este trabajo se propone conocer la situación epidemiológica del VPH en el Cañar, Ecuador y contribuir al conocimiento nacional e internacional sobre la distribución y epidemiología del VPH. Esta investigación fortalece el “Plan Nacional Ecuatoriano del Buen Vivir” que tiene como objetivo mejorar la calidad de vida de la población, ampliar la prevención y promoción de salud y garantizar a la vez una atención integral y gratuita a la población más vulnerable (32).

El objetivo principal de la investigación fue determinar la circulación del Virus del Papiloma Humano, la presencia de lesiones cervicouterinas y los factores asociados en mujeres residentes en dos asentamientos, urbano y rural, del cantón Cañar, Ecuador.

NOVEDAD CIENTÍFICA

- ~ Es el primer estudio realizado, donde se determina la frecuencia de infección, los genotipos de VPH circulantes, las infecciones múltiples y el valor de la carga viral en población femenina del cantón Cañar, Ecuador, incluyendo mujeres residentes en la zona rural con marcada etnicidad indígena-quechua.
- ~ Primer estudio donde se identifica mediante el diagnóstico citológico, la presencia o no de lesiones cervicales, en mujeres urbanas y rurales del cantón Cañar, Ecuador.

- ~ Se investigan por primera vez las variables virológicas, sociodemográficas y clínico- epidemiológicas de dos grupos de mujeres; urbanas y rurales residentes en el cantón Cañar, Ecuador.
- ~ Mediante esta investigación se obtienen evidencias de la alta prevalencia, variedad de genotipos, mayoritariamente oncogénicos, e infecciones múltiples de VPH en mujeres del Cañar, Ecuador.
- ~ La investigación demuestra cómo la infección viral y las variables asociadas difieren de manera significativa entre las dos poblaciones femeninas, residentes en asentamientos, urbano y rural, del cantón Cañar.



REDLIC | Red Editorial
Latinoamericana de
Investigación Contemporánea

CAPÍTULO II FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

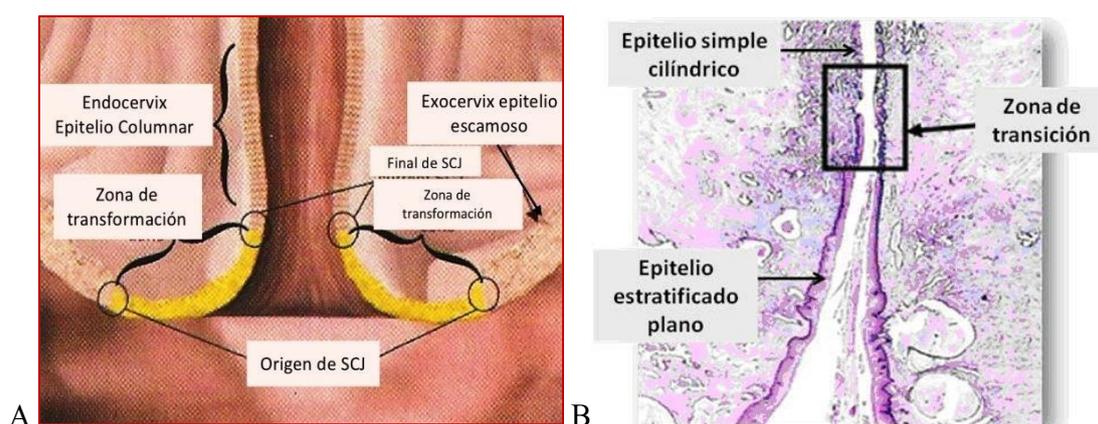
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

TEJIDOS SUSCEPTIBLES A LA INFECCIÓN POR VPH Y LOCALIZACIÓN ANATÓMICA

Los epitelios son un conjunto de tejidos que recubren todas las superficies corporales y revisten el interior de las cavidades del organismo funcionando como barreras entre los compartimentos biológicos. Existen dos tipos de epitelios; piel y mucosas. Ambos están constituidos por capas de células epiteliales estrechamente unidas entre sí, bajo las cuales se encuentra la membrana basal (33).

Cada VPH posee un sitio relativamente específico de infección definido por el grosor, el grado de queratinización y el pH del epitelio que infecta. Los VPH con tropismo por los epitelios mucosos, infectan preferentemente las zonas de transición entre la piel y la mucosa anogenital adyacente. En el aparato genital femenino la mayoría de las lesiones afectan a los labios menores, la vagina y el cuello uterino o cérvix. El cérvix es la porción inferior y estrecha del útero, el conducto endocervical atraviesa el cuello y provee una vía de comunicación entre la vagina y la cavidad uterina. (Figura 1) (33).

Figura 1. Anatomía interna e histológica del cuello uterino



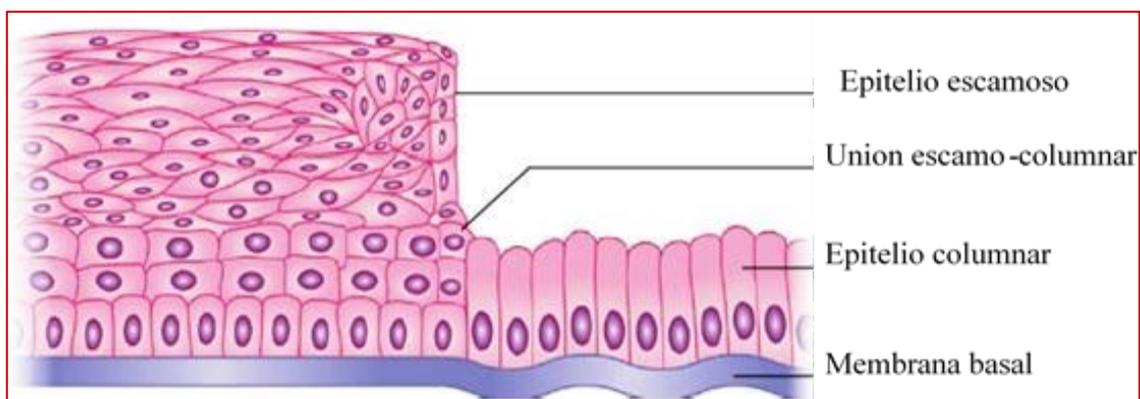
Nota: En la imagen (A) se muestra el esquema anatómico interno del cuello uterino **SCJ**: Squamous columnar junction que es la unión escamo-columnar (UEC) en español, donde coexisten el epitelio escamoso estratificado del exocérvix y el epitelio cilíndrico columnar

del endocérvix, mimos que se evidencia histológicamente en la imagen (B). **Fuente:** Fernández JV et al., Biology and natural history of human papillomavirus infection, (33).

El corte histológico muestra dos tipos de epitelio en el cérvix, uno es un epitelio escamoso plano estratificado y el otro es el cilíndrico simple. El escamoso estratificado está dividido en tres capas o estratos: estrato basal, intermedio y superficial (Figura 2) (34). La mayoría de las infecciones por VPH están limitadas a los epitelios estratificados escamosos y glandulares.

La unión escamo-columnar (UEC) o SCJ (del inglés, *squamous columnar junction*) da paso a la zona de transformación entre el epitelio escamoso estratificado del exocérvix y el epitelio cilíndrico columnar del endocérvix y es donde se desarrollan la mayoría de las lesiones asociadas al VPH (Figuras 1 y 2). La localización de la UEC en el cérvix varía durante el tiempo de vida de la mujer y es dependiente de la edad, el estatus hormonal, traumas de nacimiento y embarazos (33, 34).

Figura 2. Representación gráfica de los tipos de epitelios en el cérvix.



Fuente: Sellors J, Sankaranarayanan R. An introduction to the anatomy of the uterine cervix. Colposcopy and treatment of Cervical Intraepithelial Neoplasia (34).

Los constantes cambios de la mucosa del epitelio cervical incrementan la vulnerabilidad para la alteración de la integridad de la barrera facilitando la invasión por patógenos, entre ellos el VPH (33). Las neoplasias intraepiteliales de las mucosas cervicales son lesiones precursoras de cáncer que se inician con la infección viral y son las lesiones más frecuentes, de ahí su importancia, aunque también se pueden producir en el ano, vulva y vagina. En la zona cervical las lesiones comúnmente se desarrollan entre el epitelio estratificado escamoso del exocérvix y la zona de

transición que lo separa del epitelio cilíndrico glandular del endocérvix. Su evolución puede variar desde la remisión espontánea sin tratamiento alguno, hasta el desarrollo de un CaCU (35).

ANTECEDENTES SOBRE EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

Desde las civilizaciones greco-romanas los Virus del Papiloma (VP) (36) se identificaron como causa de infección a través de la formación de verrugas; pero no fue hasta 1900 que la etiología de estas fue confirmada. A partir de ese momento, se identificaron VP en varias especies de vertebrados, incluyendo los humanos (37, 38).

Los VPH son incapaces de propagarse en cultivos celulares, por lo que la posibilidad de estudiar sus propiedades biológicas y bioquímicas fueron solo posible a partir la década de 1970 a 1980 con el surgimiento del clonaje y la secuenciación del genoma viral (39, 40).

En 1975, se difundió por primera vez, el posible rol causal de estos virus en la etiología del CaCU, proporcionando un vuelco importante en este campo de la investigación (41). Años más tarde se identificaron los tipos de VPH 16 y 18 en casos de CaCU (42).

Los aspectos clínicos y experimentales sobre los VPH se estudiaron con profundidad en la segunda mitad de la década de 1980 enfocándose, principalmente, en aquellos tipos virales asociados a las lesiones genitales. Los VPH se consideran como los agentes virales que constituyen la mayor causa de los cánceres humanos de origen epitelial, encontrándose en casi el 100% de los casos de CaCU y asociándose con otros cánceres anogenitales y orofaríngeos (43, 44).

CLASIFICACIÓN Y TAXONOMÍA

La clasificación de los VP ha sido algo complicada debido a varios factores. A diferencia de otros virus, los VP no generan una respuesta inmunitaria humoral consistente, ya sea en humanos o en otros mamíferos, por lo cual no ha sido posible desarrollar un sistema de clasificación por serotipos, a lo que se agrega la carencia de modelos de infección celulares o de animales de laboratorio (45).

El Comité Internacional de Taxonomía de Virus clasificó los VP en la familia *Papillomaviridae* independiente de la familia *Papovaviridae* dada la diferencia en la organización genética de los miembros de ambas familias (46). Hasta la fecha se han identificado y secuenciado completamente cerca de 200 tipos de VP y más de 120 de VPH, de ellos cerca de 50 están asociados a las infecciones del tracto anogenital (47).

La secuenciación del genoma de estos virus permite establecer su organización filogenética de acuerdo a la homología de la secuencia del marco abierto de lectura (MAL) L1, que codifica una de las proteínas estructurales y la más conservada. Se describen relaciones filogenéticas similares entre otras regiones del genoma (48). La clasificación actual se propone cubrir esta amplia gama estableciendo: género, especie, tipos o genotipos, subtipos y variantes. La categoría más abarcadora es el género. Los VP se dividen en 29 géneros, cada uno de los cuales está designado por una letra del alfabeto griego. Al ser el número de géneros superior al de letras, se utiliza el prefijo “dyo”, que significa por segunda vez. De esta forma, después de Omega-VP se continúa con Dyodelta-VP. Con esta clasificación, los VPH se agrupan en 5 de los 29 géneros: *Alfa*, *Beta*, *Gamma*, *Mu* y *Nu*. El resto de los géneros están constituidos por VP animales (46, 49).

Todos los miembros de un género determinado comparten más del 60% de homología en cuanto a la secuencia nucleotídica del gen L1. Una especie está constituida por aquellos VP que, dentro de un mismo género, comparten entre 60% y 70% de homología. Por otro lado, un genotipo dentro de una especie tiene de 71% a 89% de homología con otros genotipos. Dentro de los genotipos puede haber subtipos, los cuales comparten de 90% a 98% de homología y variantes, las cuales tienen más de 98% de homología entre ellas (46, 49). Mientras que existen relativamente pocos subtipos, hay muchas variantes, fundamentalmente para VPH 16, el genotipo más estudiado debido a su importancia médica (50).

También se describen variantes para los genotipos de VPH 18, 31, 45, 52 y 58. Los VPH con mayor importancia médica son los pertenecientes al género Alfa. La mayoría de estos infectan principalmente mucosas y genitales externos (51).

VPH de alto y bajo riesgo oncogénico

Los VPH que infectan el cuello uterino se dividen en dos grandes categorías de acuerdo al potencial o riesgo oncogénico: Los genotipos de bajo riesgo (VPH-BR), comúnmente causan lesiones benignas como condilomas o verrugas anogenitales y lesiones intraepiteliales cervicales de bajo grado (LIEB), con mínimo riesgo de progresión a lesiones intraepiteliales de alto grado (LIEA). Los genotipos más frecuentes son VPH 6, 11, 40, 42, 43, 44 y 61, los que usualmente están asociados con condilomas o verrugas genitales y a una proporción muy baja de LIEB, pero nunca se encuentran en el cáncer invasivo (52). El VPH 6, causante de la mayoría de las verrugas genitales, forma parte de la especie 10 y está comprendido dentro de los genotipos de VPH de bajo riesgo oncogénico (53).

Los genotipos asociados al CaCU y a otros tumores malignos, se denominan como genotipos de VPH de alto riesgo oncogénico (VPH-AR) y forman parte de las especies 5, 6, 7, 9 y 11 (43, 54).

Dentro de los VPH-AR más frecuentes están los VPH 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 y 59, por su capacidad de desarrollar lesiones precursoras (LIEA) y cáncer. Dentro de este grupo los tipos 16 y 18 son los más importantes dado que son los causantes de aproximadamente el 70% de los cánceres de cuello de útero (55). El VPH 16, genotipo hallado con mayor frecuencia en el CaCU, es miembro de la especie 9, el siguiente genotipo más comúnmente asociado al CaCU es el VPH 18, incluido en la especie 7 (53).

ESTRUCTURA, ORGANIZACIÓN GENÓMICA Y PROTEÍNAS VIRALES DEL VPH

Los VPH son un grupo de virus con genoma de ADN de doble cadena que pertenecen a la familia *Papillomaviridae*. Poseen una cápside viral con simetría icosaédrica compuesta por 72 capsómeros, de los cuales 60 son hexonas y el resto pentonas, y tienen un diámetro aproximado de 52-55 nm. Las proteínas que forman la cápside contienen un 95% (360 copias) de la proteína L1 y un 5% (12 copias) por la proteína L2. Los VPH son relativamente resistentes al calor y a los solventes orgánicos debido a que son virus desnudos. En el interior de la cápside está el ADN

circular de doble cadena de 8Kb constituido por ocho genes y una región regulatoria no codificante, la cual contiene sitios de unión para factores proteicos y hormonales del hospedador, necesarios para que el virus pueda completar su ciclo de replicación (53).

El contenido guanina-citosina de la mayoría de los VPH es de 42% y el ADN constituye aproximadamente un 12% del peso del virión. Disponen de aproximadamente 10 MAL codificantes en las etapas tempranas de la infección, conocidos como genes E (del inglés *early*, temprano), y aquellos que son codificados durante las etapas tardías del ciclo de replicación del mismo, conocidos como L (del inglés *late*, tardío). Aunque el número de genes está limitado por el pequeño tamaño del genoma del virus, el número de proteínas codificadas es mucho mayor, ya que la expresión génica implica el uso de múltiples promotores y patrones complejos de empalme (3, 56).

La región E codifica las proteínas tempranas E6, E7, E1, E2, E4 y E5, involucradas en la persistencia viral, en la replicación del ADN, en la activación del ciclo de división celular, asociadas a la transformación celular y a la regulación de los genes virales, fundamentalmente en el caso de los genotipos oncogénicos (56, 57).

La región L codifica las proteínas estructurales L1 y L2, que solo se expresan en células infectadas que se encuentran en la fase productiva de viriones (58). La proteína L1 tiene la capacidad de auto-ensamblarse espontáneamente en partículas similares a virus (VLPs, del inglés, *virus like particles*). Estas partículas presentan una superficie exterior indistinguible del virión nativo. Las VLPs son inmunógenos potentes, probablemente debido a la capacidad de las células B para reconocer sus epítopos de superficie, lo cual estableció las bases para el desarrollo de las vacunas actuales, altamente eficaces contra la infección por los VPH-AR 16 y 18 (59).

La capacidad transformante de los VPH-AR se expresa principalmente por la función de sus oncoproteínas E5, E6 y E7 (Tabla 1). Estas proteínas se unen a un gran número de reguladores celulares importantes en el control de procesos biológicos como: la apoptosis, la proliferación celular, la estabilidad cromosómica,

la transcripción de genes (oncogenes y genes supresores de tumores), la diferenciación celular y la respuesta inmunológica (60, 61).

Tabla 1. Características generales de las proteínas de VPH.

Proteínas	FUNCIÓN
E6	Oncoproteína. Genera la inmortalización celular por degradación de p53, transforma la adhesión diferenciación celular por degradación de TAp63 y p73.
E7	Oncoproteína. Genera la degradación de pRb accediendo la progresión de la fase S del ciclo celular.
E5	Oncoproteína. Interacción con el receptor de EGF. Provoca la proliferación celular y retraso de la diferenciación, favorece la evasión de apoptosis, baja la expresión de MHC.
E1	ADN helicasa dependiente de ATP, interviene en la replicación viral
E2	Coactivador de la replicación del ADN viral, represor transcripcional de E6 y E7.
E4	Unida a las proteínas del citoesqueleto altera su estructura en la fase G2.
L1	Proteína estructural mayoritaria, junto a L2 forma la cápside.
L2	Proteína minoritaria de la cápside.

Nota: EGF- Factor de crecimiento epidérmico (Epidermal growth factor); MHC: Complejo mayor de histocompatibilidad (Major histocompatibility complex).

LA REPLICACIÓN DEL VPH Y DIFERENCIACIÓN DEL EPITELIO

El ciclo replicativo de los VPH está caracterizado por su relación con el grado de diferenciación del epitelio que infecta. La infección se inicia con el acceso del virus a las células epiteliales basales en división, a través de abrasiones microscópicas y su adhesión mediante moléculas presentes en la superficie celular tales como: la $\alpha 6$ -integrina, primer candidato reconocido como receptor de los VPH y los proteoglicanos de heparán sulfato. La entrada ocurre por medio de endocitosis, mediada por clatrina o claveolas y luego ocurre la decapsidación; el ADN vírico

alcanza el núcleo celular donde permanece de forma episomal replicándose a niveles muy bajos en coordinación con la división celular (63).

Las células infectadas se diferencian y migran desde la capa basal hacia el estrato espinoso del epitelio y se estimula la replicación viral, produciendo la acumulación de viriones dentro del núcleo. La expresión de los genes tempranos ocurre a lo largo de todos los estratos epiteliales, sin embargo, en los genes tardíos se observa únicamente en los queratinocitos totalmente diferenciados de los estratos más superficiales. En estas células también ocurre el ensamblado de las cápsides virales que dan lugar a la formación de viriones (58, 64).

Los VPH no presentan una fase lítica, por lo tanto, se valen de las características propias de las células que los albergan para propagar su descendencia, la cual se libera cuando las células terminales del estrato córneo sufren un proceso de descamación (65). No obstante, la infección puede persistir en la célula madre infectada y sus células hijas durante un largo período, hasta varios años. Este fenómeno se conoce como persistencia viral y se considera como el factor de riesgo principal para la progresión tumoral (66).

HISTORIA NATURAL DE LA INFECCIÓN POR VPH

La infección del tracto genital por el VPH es la más común, aunque no es exclusivamente una ITS, esta puede ser asintomática o provocar una serie de manifestaciones que varían desde la presencia de condilomas benignos, hasta la ocurrencia de alteraciones neoplásicas de diferente grado, cáncer anogenital y CaCU (33, 53).

La infección por el VPH debe estar presente para que se produzca el CaCU. La mayoría de los VPH que infectan el área genital pertenecen al género Alfa y se asocian con lesiones benignas y malignas del tracto anogenital tanto en hombres como en mujeres. Aunque su prevalencia es elevada, la mayoría de las infecciones se eliminan de forma espontánea. En la literatura se describe que entre el 80% y el 90% de las infecciones cervicouterinas por VPH son transitorias y dejan de ser detectables entre uno y dos años (67).

La penetración vaginal o el coito anal no son pre-requisitos necesarios para adquirir la infección por este virus, ya que se puede transmitir por contacto directo con la piel o las mucosas durante el contacto íntimo de los genitales (67).

El VPH es altamente infeccioso, con un periodo de incubación que va desde tres a cuatro semanas, meses o años. Por razones, todavía no muy bien comprendidas, la célula deviene permisiva y comienza la multiplicación viral. Esta fase de replicación activa también permanece por un tiempo variable, pero finalmente la mayoría de los individuos infectados desarrollan una

respuesta inmune efectiva, con una subsecuente y sostenida remisión clínica de la enfermedad (68). Una minoría (10% a 20%) de los individuos infectados no elimina efectivamente el virus y permanecen con una infección viral persistente activa. En el caso de las mujeres, estas están en riesgo para la progresión a una lesión precancerosa de alto grado en el cérvix, conocida como neoplasia intraepitelial cervical de diferente grado (NIC 2/3) e incluso pueden desarrollar CaCU (67).

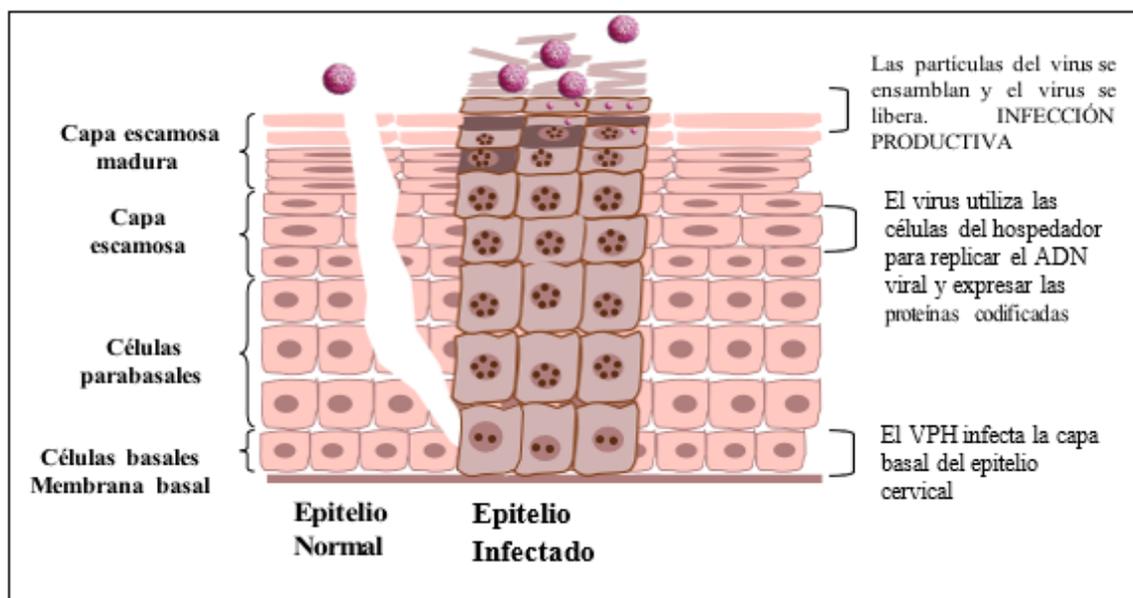
La presencia del VPH es exclusivamente epitelial, el virus se mantiene en el núcleo de las células basales del epitelio, fuera de los cromosomas del hospedador, replicándose a niveles muy bajos, en coordinación con la división celular (69).

El queratinocito es la célula hospedadora del VPH y el ciclo de infección se encuentra relacionado directamente con la diferenciación del mismo. Por este motivo el VPH es un virus dependiente del proceso completo de diferenciación de los queratinocitos. El virus infecta a los queratinocitos y adhiriéndose a la membrana basal, entra a la célula. En el epitelio del cérvix normal, las células madres se dividen a lo largo de la membrana basal y maduran verticalmente a través del epitelio, sin divisiones adicionales. El virus y la célula se replican juntos y el genoma viral permanece en la membrana basal en un bajo número de copias. La replicación del VPH está acompañada por la expresión de las proteínas tempranas E1 y E2 en la capa basal.

El ciclo viral va sucediendo a través de estados de amplificación sucesivos del genoma, ensamblaje y liberación. Como la célula hospedadora detiene la división,

esta comienza a diferenciarse en queratinocitos maduros. La población de células en división se expande verticalmente y el virus activa todos los genes, incrementando su número de copias, esto es llamado infección productiva y puede ser evitado con una respuesta inmune efectiva. La reactivación de la división celular permite además la amplificación del genoma del virus, provocando la producción de miles de copias. Luego de la diferenciación de la capa epitelial granular, las proteínas L1 y L2, se expresan y encapsidan los genomas virales recién sintetizados. La liberación de estos depende de la rotura mecánica de las células infectadas desprendidas de la última capa del epitelio (Figura 3), (61, 70).

Figura 3. Historia natural de la infección por VPH. Infección productiva



Fuente: Hamid NA, Brown C, Gaston K. The regulation of cell proliferation by the papillomavirus early proteins. Cell Mol Life Sci. (70). **Modificado por:** Carrión J.

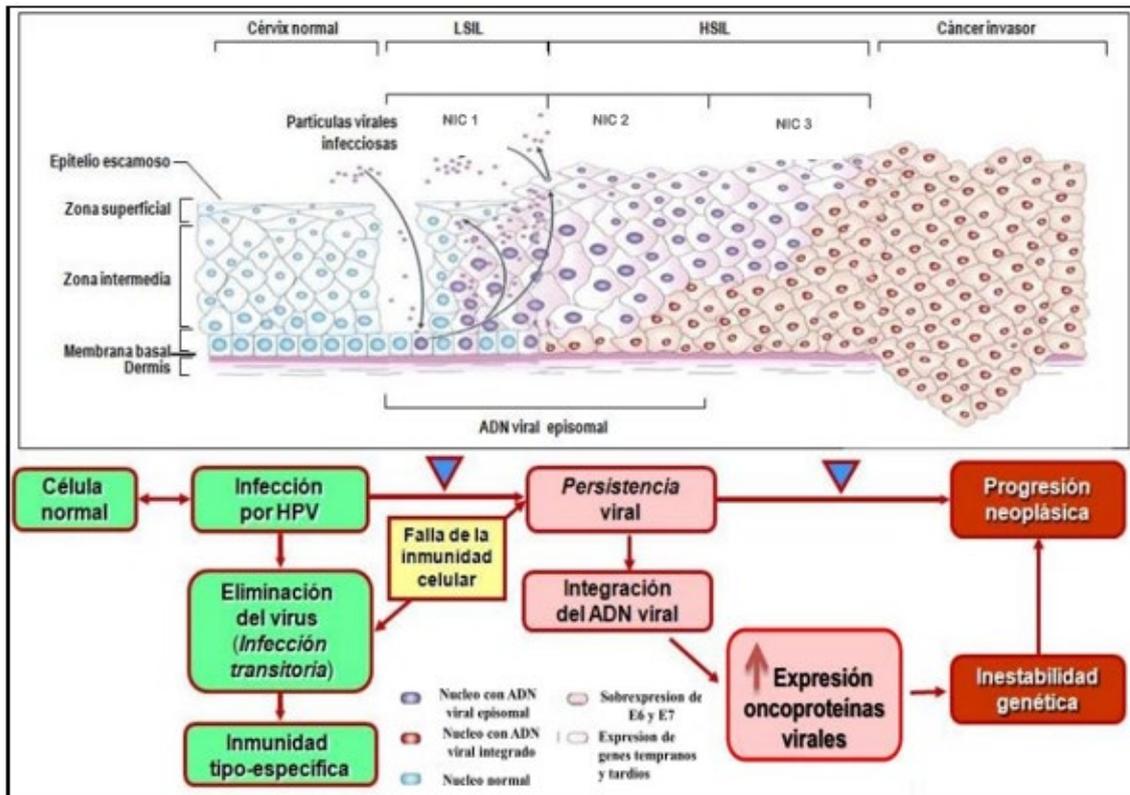
El 50% de mujeres se hacen negativas al virus a los 6 meses, el 70% al año y entre el 80-82% a los 2 años, gracias a su propio sistema inmunitario. Un cambio en los patrones de infección del virus en la expresión de los oncogenes E6 y E7 conduce a una replicación incontrolada del ADN viral y a una supresión del control del ciclo celular normal. La acción concertada de las oncoproteínas E5, E6 y E7 y sus proteínas asociadas p53 y pRb, respectivamente, reactiva la división celular, inhibe la apoptosis y suprime la diferenciación epitelial (71).

Las infecciones por VPH-AR persisten en el epitelio infectado con mayor frecuencia que las infecciones por genotipos de VPH-BR (72). Si bien la infección por VPH debe estar presente para la ocurrencia del CaCU, la infección persistente es el requisito principal para la progresión de lesiones intraepiteliales de alto y bajo grado hacia el cáncer cervical; aunque está modulada por otros factores ambientales y del hospedador (73). La infección por VPH-AR es un factor esencial para el desarrollo y la progresión de las lesiones pre-neoplásicas, este es reconocido como un paso importante en el proceso carcinogénico del CaCU. La carcinogénesis cervical evoluciona a partir de estas lesiones después de una infección con VPH-AR persistente por un largo periodo (Figura 4) (66).

Se describe la existencia de tres eventos fundamentales durante la infección persistente con VPH-AR como promotores del CaCU: la integración del ADN viral al genoma de la célula hospedadora, la expresión de las oncoproteínas virales E6 y E7 y finalmente las complejas

Las interacciones entre E6/E7 y las proteínas celulares (74). Estas se basan fundamentalmente en su capacidad para degradar proteínas que actúan como represores tumorales como las proteínas p53 y pRb que intervienen en la reparación del ADN durante la división celular o induciendo la apoptosis. Además, E6 es capaz de inducir la actividad telomerasa y degradar proteínas que controlan la adhesión celular, la polaridad de la membrana y el control de la proliferación. Por su parte, E7 degrada la pRb impidiendo así su función apoptótica. Estas son las vías más estudiadas, por las cuales las oncoproteínas de los VPH-AR conducen a las células epiteliales a la transformación celular y al cáncer (74, 75) (Figura 4).

Figura 4. Historia natural del cáncer cervicouterino. Infección por VPH-AR y persistencia viral



Nota: NIC: neoplasia intraepitelial cervical; LSIL: lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (LSIL del inglés, low grade squamous intraepithelial lesion); HSIL: lesión escamosa intraepitelial de alto grado (HSIL del inglés, high grade squamous intraepithelial lesion).

Fuente: Adaptado de 76. Van Doorslaer K, Burk RD. Evolution of human papillomavirus carcinogenicity (76).

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Lesiones benignas en la mucosa anogenital

Verrugas genitales o condilomas: Los condilomas tienen diferente morfología (77). Aparecen generalmente en adultos jóvenes y en individuos con marcada promiscuidad sexual (78). Se localizan, en los hombres, principalmente en el pene y alrededor del ano, y en las mujeres, en el introito vaginal, la vulva, el ano, el periné y raras veces en el cérvix uterino (77). Muchas de las lesiones condilomatosas se eliminan espontáneamente o como respuesta a un tratamiento, sin embargo, en poblaciones con inmunosupresión, pueden provocar serios problemas de salud (79). Los genotipos de VPH asociados con más frecuencia a estas lesiones son los VPH 6

y 11, aunque en algunos estudios se detecta la presencia de genotipos de alto riesgo oncogénico, fundamentalmente el VPH 16 (80, 81).

Papulosis Bowenoide: La Papulosis Bowenoide es una enfermedad relacionada con las verrugas genitales. Las lesiones consisten generalmente en pequeñas pápulas que son similares histológicamente a las lesiones provocadas por la enfermedad de Bowen (82). En la mayoría de estas lesiones se detecta el VPH 16, aunque también se encuentran asociados otros genotipos como los VPH 18, 32, 33, 31, 34, 39, 42 y 45 (83).

Lesiones malignas asociadas al VPH

Lesiones malignas en vulva, vagina y pene: Los VPH pueden infectar otras regiones genitales constituidas por epitelio plano escamoso. La presencia de VPH, generalmente del genotipo 16, se detecta con frecuencia en cánceres de vulva, vagina y pene (84-86).

Cáncer cervicouterino (CaCU): Los carcinomas escamosos de cérvix representan el 85% de los casos de CaCU, mientras que los adenocarcinomas que surgen en el epitelio glandular, son los tumores menos frecuentes. La mayoría de los CaCU se localizan en la UEC o zona de transformación, la cual se ubica en el extremo inferior del cérvix estratificado uterino, donde las células columnares del endocérvix se unen al epitelio escamoso de la vagina (87). El CaCU invasivo está precedido por una serie de anomalías progresivas en el epitelio cervical, las cuales se diagnostican de acuerdo al análisis citológico e histológico, empleando el Sistema de Clasificación de Bethesda (88).

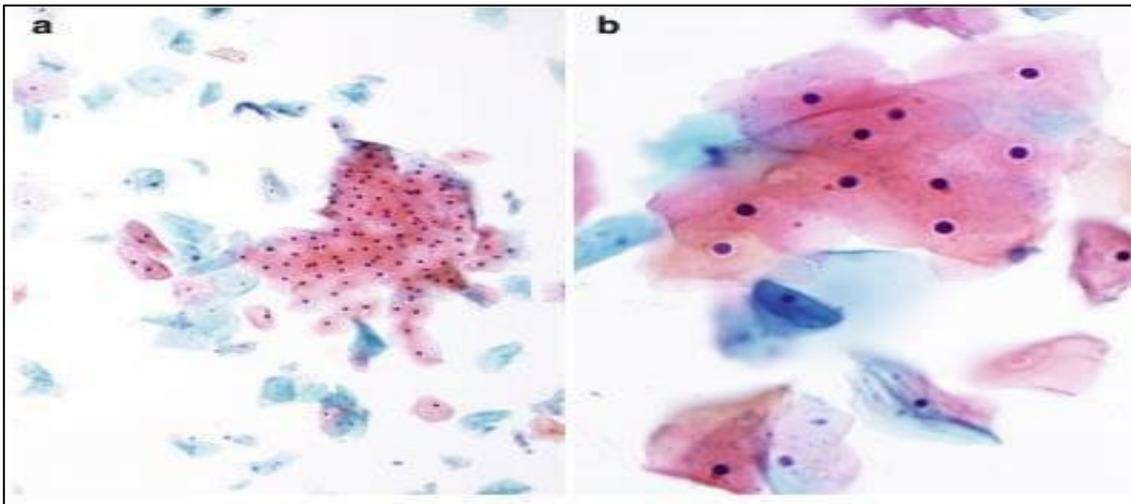
Citología cervicouterina: El diagnóstico citológico mediante el Sistema de Clasificación de Bethesda está difundido ampliamente en la práctica clínica desde el año 2001 (89) y se ha venido actualizando hasta su última edición en el año 2014 (88).

Este sistema se emplea indistintamente para el reporte de la citología cervical y anal, incluyendo la interpretación citológica y el estado de adecuación de la muestra, según las particularidades del sitio anatómico. Establece que las citologías se dividen

en dos grandes categorías: Negativa para lesión intraepitelial o malignidad, (NILM del inglés, *negative for intraepithelial lesion or malignancy*) y anomalías de células escamosas (88).

En la Figura 5 a y b, se pueden observar preparaciones de citologías negativas para lesión intraepitelial o malignidad, sin embargo, se describen una serie de modificaciones de origen benigno que deben aparecer en el reporte citológico, cuando se utiliza el Sistema de Clasificación de Bethesda, para aportar los datos que el especialista necesita para completar su evaluación clínica (88)

Figura 5. Cambios celulares reactivos-reparadores



Nota: halos inflamatorios. Ejemplos de halos perinucleares reactivos inducidos por microorganismos/inflamación tal como se ve en la infección por *Trichomonas vaginalis*. Las imágenes muestran células escamosas reactivas con pequeños halos perinucleares que deben diferenciarse claramente del halo coilocítico típico del efecto citopático del VPH. (a) Citología en base líquida (10X). (b) Citología convencional e imagen de mayor resolución (100X). **Fuente:** Ritu N, Wilbur DC. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology (88).

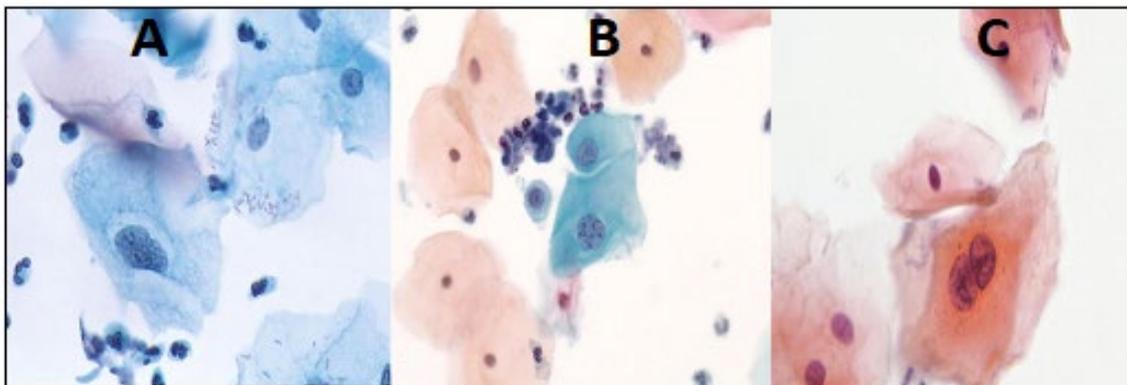
Las anomalías de células escamosas incluyen estas categorías: células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US del inglés, *atypical squamous cells of undetermined significance*), células escamosas atípicas de significado indeterminado que no excluye una lesión de alto grado (ASC-H del inglés, *atypical squamous cells cannot exclude high grade*), lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (LSIL del

inglés, *low grade squamous intraepithelial lesion*), lesión escamosa intraepitelial de alto grado (HSIL del inglés, *high grade squamous intraepithelial lesion*) y carcinoma de células escamosas (SCC del inglés, *squamous cells carcinoma*) (88).

El sistema de Bethesda establece adecuadamente, dentro de las anomalías de células epiteliales escamosas, a las atipias. Estas se identifican como células escamosas, de sus siglas en inglés (*atypical squamous cells*, ASC) que incluyen dos categorías: la atipia de células escamosas de significado indeterminado (ASC-US) y la atipia de células escamosas que no puede excluir lesión escamosa de alto grado (ASC-H). Esta división en la terminología para el reporte de la atipia está relacionada con la historia natural y la evolución de la infección por VPH. En este sentido se pueden producir cambios de bajo grado por infecciones transitorias o lesiones de alto grado por infecciones persistentes de larga evolución.

La Figura 6 muestra células atípicas de significado indeterminado. Las ASC-US no representan una entidad biológica simple, sino que también pudieran incluir cambios citológicos que no se relacionan directamente con una infección por VPH de alto riesgo oncogénico, lo que sugeriría una posible lesión de bajo grado, pero rara vez indicaría un carcinoma

Figura 6. Células atípicas de significado indeterminado (ASC-US).



Nota: (A) Citología en base líquida, se observa célula escamosa atípica única con halo citoplasmático mal definido en un contexto de inflamación. La célula escamosa adyacente muestra lactobacilos adherentes (100X). (B) Célula escamosa intermedia con un núcleo agrandado y ligera irregularidad de la membrana nuclear (40X). (C) Célula intermedia

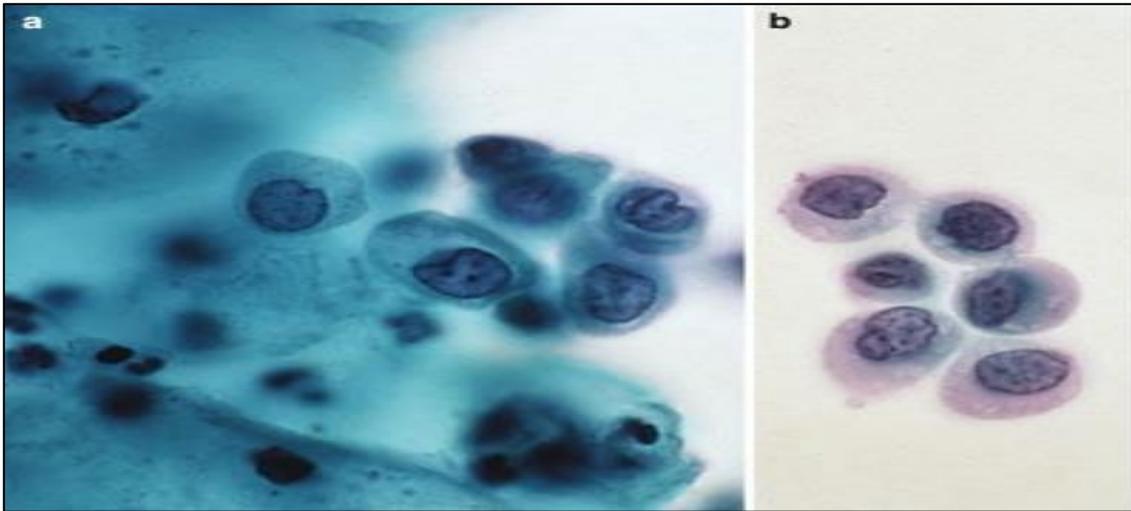
binucleada atípica con núcleos moldeados y citoplasma hipercromático (100X). **Fuente:** Ritu N, Wilbur DC. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology (88).

A los cambios citológicos que son considerados como lesión de ASC-US también pudieran sumársele condiciones no neoplásicas como la inflamación crónica, infecciones, atrofia, degeneraciones y cambios hormonales (Figura 6 a) (88). La figura 6 b expone células con características atípicas que no cumplen con los criterios para una lesión de bajo grado. El caso de la figura 6 c fue sugestivo, pero no diagnóstico definitivo, de LSIL. La clasificación ASC-US se refiere a cambios sugestivos de SIL, pero la cantidad y la calidad de la muestra no permiten una interpretación definitiva.

Los hallazgos nucleares y citoplasmáticos asociados a la infección por VPH son: halo perinuclear/coilocitos, halo citoplasmático y binucleación. Estos elementos conllevarían a una interpretación de SIL, no obstante, los cambios incompletos sugestivos de coilocitos con mínima o sin anomalías, o células pobremente preservadas, son generalmente designadas como ASC-US (88).

Atipia de células escamosas que no excluye una lesión de alto grado (ASC-H). Esta categoría se usa para la minoría de casos ASC en los cuales la citología es sugestiva de una lesión intraepitelial de alto grado (HSIL), aunque no concluyente (Figura 7). En estos casos se tiene como criterio; la presencia de células solas o en grupos menores de 10 con fondo mucoso, dos células con tamaño y forma metaplásica con núcleo de 1,5 a 2,5 veces o más grande que el normal y relación núcleo/citoplasma casi idéntico al HSIL (Figura 7 a y b) (88).

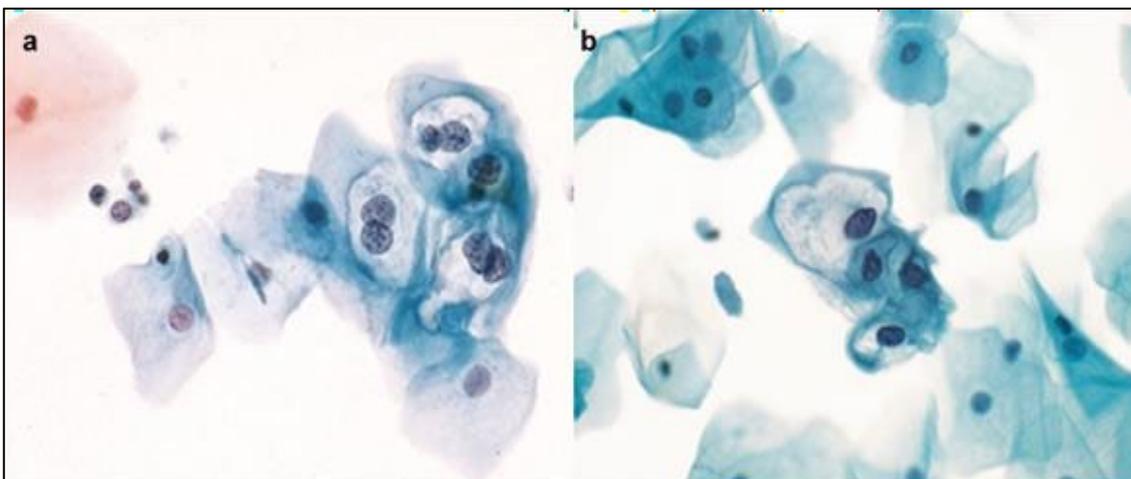
Figura 7. Atipia de células escamosas que no excluye una lesión de alto grado (ASC-H).



Nota: (a) Células pequeñas aisladas con relaciones núcleo/citoplasma variables y algunas células que muestran una irregularidad nuclear prominente (100X). (b) Vista de seis pequeñas células con núcleos agrandados e irregulares, pero degenerados (100X). El seguimiento resultó en HSIL. **Fuente:** Ritu N, Wilbur DC. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology (88).

La LSIL es una manifestación citológica de la replicación activa del VPH en las células escamosas superficiales e intermedias (Figura 8)

Figura 8. Lesión intraepitelial de bajo grado

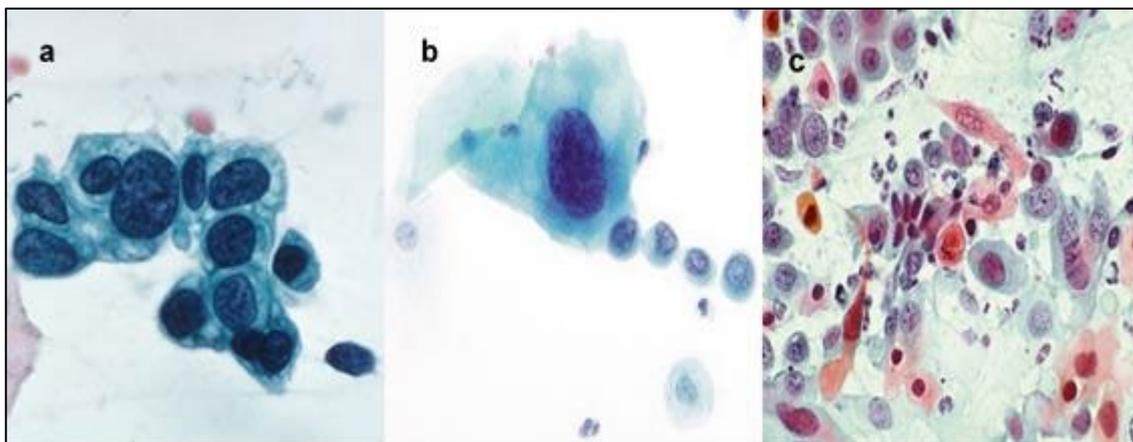


Nota: (a) Efecto citopático asociado a infección por VPH con binucleación. (b) Células coilocíticas con cavidad perinuclear bien definida, condensación citoplasmática alrededor de la periferia y características nucleares anormales que incluyen, hiperchromasia, agrandamiento e irregularidad de la membrana nuclear (40X). **Fuente:** Ritu N, Wilbur DC. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology (88).

En dichas lesiones, la infección viral produce un incremento de la relación núcleo/citoplasma, pleomorfismo nuclear, membrana nuclear irregular, hiperchromasia, cromatina densa y halo perinuclear (atipia colocítica), multinucleación, mitosis atípicas, células típicamente aneuploides, cuerpos redondos y células disqueratósicas. En la LSIL pueden identificarse también cambios displásicos ligeros (Figura 8 a y b) (88).

La HSIL es un precursor potencial de cáncer. En estas lesiones, las células con anomalías pierden la relación núcleo/citoplasma (Figura 9). Los cambios nucleares son similares a los que se observan en las LSIL, aunque más marcados (citoplasma escaso, metaplasia o queratinización, atipia nuclear más marcada e irregularidad en la membrana nuclear, numerosas mitosis) (Figura 9 a). En ocasiones se puede observar la presencia de una mezcla de LSIL y HSIL en la citología (Figura 9 b), especialmente en población de alto riesgo, como en inmunocomprometidos. La presencia de células con formas y tamaños variables, núcleos irregulares e hiperchromáticos con nucléolo distintivo sugieren la posibilidad de carcinoma de células escamosas con carácter invasivo (Figura 9 c) (88).

Figura 9. Lesión intraepitelial de alto grado (HSIL).



Nota: (a) Variación en el tamaño y la forma nuclear, células con citoplasma escaso y fino (100X). (b) Mezcla de células displásicas, una célula LSIL grande y cuatro células adyacentes, pequeñas, con aumento en la relación núcleo/citoplasma y con características nucleares compatibles con HSIL (100X). (c) Carcinoma de células escamosas (SSC) con marcado pleomorfismo celular, en cuanto a tamaño y forma, queratinización citoplasmática

y propensión tumoral (40X). **Fuente:** Ritu N, Wilbur DC. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology (88).

HISTOLOGÍA Y COLPOSCOPIA

Histología de las lesiones cervicales:

Existe una clasificación histológica, publicada en el año 1995, conocida como Sistema de Richart (90) y que es todavía el método utilizado para el diagnóstico histológico de las lesiones cervicales. Mediante este sistema, las lesiones cervicales se clasifican en: no útil, negativo para células neoplásicas, infección con VPH, neoplasia intraepitelial cervical de grado 1 (NIC1), neoplasia intraepitelial cervical de grado 2 (NIC 2), neoplasia intraepitelial cervical de grado 3 (NIC 3), carcinoma *in situ*, carcinoma invasor, célula neoplásica de otro origen e infecciones por gérmenes específicos u otras observaciones.

En este caso, la clasificación de NIC 1 incluye los casos con displasia leve, la NIC 2 incluye casos con displasia moderada y la NIC 3 incluye aquellos casos con displasia severa o carcinoma *in situ*. Este sistema de clasificación histológica se actualizó durante los últimos años, para homogeneizar criterios con el sistema de clasificación citológica de Bethesda. Esto permite una correlación entre los diferentes grados de displasia y las anomalías detectadas por citología, incluyendo las citologías atípicas o ASC. De esta forma, se puede confirmar que las citologías ASC-US se corresponden con displasias leves o moderadas, mientras que las ASC-H revelan una histología compatible con displasia severa o carcinoma *in situ* (91).

El diagnóstico histológico es la prueba confirmatoria para la citología cervicouterina, mientras que la colposcopia es el complemento esencial entre ambos estudios, porque permite el examen clínico y morfológico que orienta las biopsias para la histología (92).

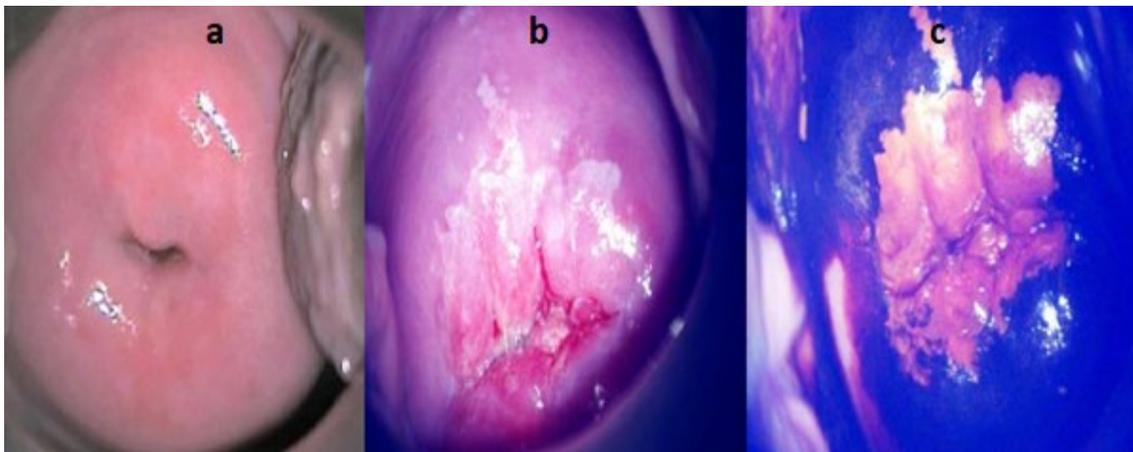
Colposcopia:

La colposcopia es un procedimiento ginecológico que consiste en la exploración del cuello uterino, la vagina y la vulva. Se realiza, generalmente, para evaluar a la paciente con resultados anormales en la prueba de Papanicolaou o citología cervical.

El principal objetivo de la colposcopia es la prevención del CaCU, mediante la detección y el tratamiento de las lesiones premalignas en estadios tempranos (93).

El colposcopio, es un microscopio de campo estereoscópico de bajo aumento con fuente de luz blanca, que permite la observación en detalle de zonas con anomalías del cuello uterino, de la vagina y de la vulva y permite extraer una biopsia del área afectada para el estudio histológico en el laboratorio de anatomía patológica (93). Para la visualización de las áreas anormales se aplica una solución de ácido acético al 5% y posteriormente una solución de yodo llamada Lugol. Esta prueba se conoce como la prueba de Schiller mediante colposcopia (Figura 10) (94, 95)

Figura 10. Fotografías de Colposcopías



Nota: (a) Negativa, cérvix con epitelio y anatomía normal (b) Epitelio acetoblanco tenue y mosaico de campos pequeños y bordes irregulares (geográfico), (c) Zona irregular que no capta el Lugol. **Fuente:** Andía D, et al. Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia (94); Saslow D, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cáncer (95).

El cérvix normal toma una coloración rosa (Figura 10 a) y absorbe el yodo completamente, las zonas acetoblanco son áreas con diagnóstico presuntivo de infección por VPH (Figura 10 b) y son generalmente negativas para la tinción con yodo/Lugol (Figura 10 c), permitiendo así dirigir las biopsias al sitio anatómico con sospecha de lesión (93-95).

Como parte de los programas de prevención del CaCU, se realiza la prueba citológica o prueba de Papanicolaou a todas las mujeres sexualmente activas. Cuando una citología es positiva en el nivel primario de atención de salud pública, la triada Citología-Colposcopia-Histología, constituye la etapa confirmatoria en las consultas especializadas de patología de cuello y es la piedra angular de dichos programas (96).

La edad a la que se inician estos programas de pesquisa en la población femenina puede depender de las particularidades de cada país, pero generalmente comienzan a partir de los 20 o 25 años (97, 98). La presencia de VPH en el CaCU se ha comprobado en casi el 100% de los casos y aproximadamente la mitad de ellos están asociados a VPH 16, mientras que entre un 4% y un 24% están asociados a VPH 18. Otros genotipos de alto riesgo oncogénico detectados con frecuencia en el CaCU son los VPH 31, 33, 45, 52 y 58 (99).

FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA TRASMISIÓN, PREVALENCIA Y PERSISTENCIA DE LA INFECCIÓN CON VPH

Existen una variedad de factores de riesgo asociados a la adquisición, persistencia y desarrollo de la infección por VPH y el consecuente progreso al CaCU, entre ellos, factores socio- demográficos, conductuales y biológicos que determinan la persistencia de la infección y el desarrollo de lesiones cervicales precursoras y de la carcinogénesis cervicouterina. Entre los factores sociodemográficos se incluyen el analfabetismo, la pobreza, el poco o ningún acceso a los servicios médicos o a programas de pesquisa y atención, basados en citologías periódicas. Estos elementos, están estrechamente asociados a altas tasas de incidencia y mortalidad por CaCU (100, 101).

Edad de las primeras relaciones sexuales

La relación entre la edad y la prevalencia del VPH es similar en todo el mundo, con la mayor prevalencia en mujeres menores de 25 años y declina en edades mayores (6). En Europa y Norteamérica, las mujeres jóvenes, menores de 25 años, tienen tasas muy altas de infección (20-30%) que decrece a niveles muy bajos sobre

los 45 años de edad (<5%). En África y Asia, la prevalencia de VPH es $\geq 10\%$ entre grupos de mayor edad (>45 años) y en América Latina y el Caribe, existe un descenso inicial y luego un aumento en mujeres de mediana edad (98, 102)

El pico de transmisión del VPH es típicamente entre mujeres jóvenes, posterior al debut sexual, debido a que la prevalencia es alta en estos grupos de edades, en los cuales es también transmitido fácilmente. Por tanto, la adquisición de la infección por VPH comienza con el debut de la actividad sexual que puede ser tan alta como 45% en mujeres en edades de 15–19 años. El inicio temprano de las relaciones sexuales o intervalos cortos entre la menarquia y el debut sexual, según varios estudios, constituye un factor de riesgo para la infección por VPH. No obstante, el número de compañeros en la vida sexual, además de estar asociado a la adquisición de la infección, es un factor más predictivo para el riesgo de infección (103, 104).

Hábito de fumar

El número de cigarrillos por día o la historia de tabaquismo, incrementan las probabilidades del carcinoma *in situ* y el cáncer cervical invasivo (105). El tabaco contiene carcinógenos conocidos tales como los hidrocarburos aromáticos policíclicos que pueden tener un efecto transformante directo sobre el cérvix (106). Tal es el caso del Benzopireno, presente en el humo del tabaco, que puede modular el ciclo de vida del VPH, potenciar la persistencia viral, estimular la carcinogénesis y la permisividad para la progresión del cáncer (107).

Se relaciona el consumo de cigarrillos con valores elevados de la carga viral de VPH-AR y se considera que los carcinógenos del humo, en sinergia con la infección viral, aumentan el riesgo de progresión al CaCU (108). Se conoce también que los compuestos del humo del tabaco suprimen la respuesta inmune por reducción del número de las células de Langerhans y otros marcadores celulares, permitiendo por tanto la persistencia del VPH y el desarrollo de lesiones cervicales (109).

Edad, embarazo y paridad

Se plantea que un mayor número de embarazos a término en edades tempranas tiene un rol potenciador para la transición de la infección por VPH y el desarrollo de

lesiones neoplásicas. El incremento del riesgo de CaCU en mujeres jóvenes con embarazo a término, se puede atribuir a traumas cervicales durante el parto, que pueden resultar en una ectopia, incrementando así la exposición del tejido escamocolumnar a la infección por VPH. Este fenómeno se estudió en varias regiones geográficas, particularmente en Estados Unidos (110) e Inglaterra (111) y también resultó un factor de riesgo para la aparición y el desarrollo de las lesiones precursoras de CaCU en poblaciones similares. La infección por VPH es un requisito previo para el desarrollo de este tipo de cáncer, pero varios cofactores, entre ellos la acción de las hormonas esteroideas sexuales, pudieran ser desencadenantes en este proceso (112).

Conducta sexual

Si bien el riesgo de contraer una infección por VPH depende fuertemente de la conducta sexual de la mujer, no es menos cierto que también depende de la conducta sexual de su pareja. Es conocido que la promiscuidad es el factor de riesgo principal para las infecciones por VPH en el pene y que la prevalencia de esta infección en hombres es un alto riesgo para el desarrollo de CaCU en sus esposas (113).

De igual forma, el efecto de la circuncisión tiene implicaciones en el riesgo de infección por VPH en los hombres, así como en sus parejas sexuales femeninas. La remoción de la piel del prepucio, mediante la circuncisión en el hombre, disminuye la probabilidad de trauma en la mucosa durante el coito. El glande del pene circuncidado tiene un epitelio más grueso haciéndolo más resistente a las abrasiones y por tanto menos susceptible a la entrada del VPH (114).

Anticonceptivos hormonales

Las hormonas influyen en la diferenciación y maduración del epitelio cervical, lo que puede conducir a la disminución del grosor del epitelio y su micro-destrucción, actuando como puerta de entrada para el VPH (115, 116). Además, los anticonceptivos hormonales regulan la expresión de citoquinas e inmunoglobulinas, las cuales pudieran facilitar la persistencia del VPH. Tanto los estrógenos como la

progesterona incrementa la expresión de las oncoproteínas E6 y E7 vinculadas al desarrollo del CaCU. Estos elementos se relacionan con la capacidad de los estrógenos para promover la persistencia del virus y el crecimiento tumoral debido a la regulación positiva que ejercen los estrógenos y la progesterona sobre los oncogenes virales (117).

Otras ITS

La presencia de otras ITS incrementa el riesgo de infección por VPH posiblemente debido a la ruptura de la barrera epitelial de la mucosa, causada por la inflamación y la ulceración, facilitando así la entrada del VPH. Un ejemplo de ello es la vaginosis bacteriana (VB) (125).

La dieta y la nutrición

Existen evidencias que demuestran que la deficiencia nutricional, en particular las de vitaminas A y C, incrementa el riesgo del CaCU (101).

La reducción de los antioxidantes en la dieta se considera como un elemento que puede influir en la susceptibilidad a la infección por VPH. En la medida que la ingestión de alimentos con alto contenido de vitamina A, especialmente de retinol, se asocia con la reducción de desgarros del epitelio que pueden producirse durante el parto y por sus propiedades antioxidantes, parece que reducen el riesgo de infección (118).

EPIDEMIOLOGÍA DEL VPH Y EL CaCU A NIVEL MUNDIAL Y EN EL ECUADOR

Los VPH han convivido con la especie humana por miles de años, sin grandes cambios en su composición genómica. La infección cervical por VPH es la ITS de mayor prevalencia pues la mayoría de los individuos sexualmente activos contraerán una infección, con al menos, un genotipo de VPH, durante su vida. El 90% de las mujeres adquirirán al menos una infección por VPH a los 50 años, mientras que el 50% de los hombres lo harán durante toda su vida (119).

Existen cerca de 50 genotipos de VPH asociados con infecciones de la mucosa anogenital, de ellos, 20 tipos virales (designados como genotipos de alto riesgo oncogénico) están involucrados en diferente grado, con los procesos neoplásicos (7). Estos genotipos son; VPH 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73, 82 y 85. Además, se han identificado 22 genotipos de bajo riesgo o de riesgo desconocido: VPH 6, 11, 13, 32, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 62, 71, 72, 74, 81, 83, 84, 86, 87, 89, 90 y 91 (120). El VPH 16 es el más frecuente de los genotipos oncogénicos, responsable del 50% de los casos de CaCU, mientras que el VPH 18 está involucrado entre el 14% y el 24% de los mismos (121).

En el mundo existen variaciones importantes en la prevalencia del VPH según los grupos de edades. Si bien en Estados Unidos, Europa, y algunos países asiáticos la prevalencia declina con la edad, en América Latina y el Caribe en general se ha encontrado una prevalencia en la población dos veces mayor que en el resto del mundo (122).

En la mayoría de las poblaciones europeas y norteamericanas, las tasas de incidencia de CaCU comienzan a incrementarse entre los 20 y 24 años de edad, aumentando el riesgo con la edad, logrando un pico habitualmente alrededor de los 35 y 39 años. El CaCU es diagnosticado habitualmente entre los 35 y 64 años de edad, con una edad media de 49 años para las etapas tempranas de la enfermedad y de 58 años para la edad de la muerte (123).

La OMS reconoció en un estudio reciente que 529 409 mujeres en todo el mundo serán diagnosticadas con CaCU y 274 883 fallecerán por esta enfermedad. No menos del 80% de esta cifra es originada en los países menos desarrollados (11). En América Latina, el CaCU es la causa de mortalidad número uno debido a las neoplasias malignas entre mujeres de 20 a 40 años de edad y la tercera causa más común de muerte por cáncer en mujeres. En países como Honduras, Nicaragua, El Salvador, Bolivia, Paraguay y Ecuador, permanece como la causa principal de muerte por cáncer en la mujer (124).

La incidencia en la región de Latinoamérica es de 21,2 casos por 100.000 mujeres, con valores superiores a 30 en algunos países de la región, según los datos publicados por la OMS (12, 13). Bolivia constituye el primer país latinoamericano con mayor tasa de mortalidad debido a esta afección, seguido de Perú y Ecuador (12-14). El CaCU es mucho más común en poblaciones socioeconómicamente desposeídas. Haití es el ejemplo más ilustrativo de la incidencia de CaCU más alta en la región con una tasa de 87, 3 por 100.000 mujeres. Este es el país con más baja expectativa de vida (56 años) y de educación (50%), el más alto porcentaje de la población viviendo en extrema pobreza (54%) y el segundo en fertilidad en la región (3,8%) (125).

De acuerdo con los datos del Registro Nacional de Tumores (RNT) y de la Sociedad de Lucha Contra el Cáncer (SOLCA, 2010), en el Ecuador, el CaCU es considerado uno de los tipos de cáncer más frecuente en la población femenina y el grupo de mayor riesgo se encuentra entre los 30 y los 64 años de edad (26). Aproximadamente, 20 de cada 100 000 mujeres padecen este tipo de cáncer en el Ecuador y se presentan 1 200 casos nuevos cada año. Según las cifras del INEC del Ecuador (25), de esas mujeres, 300 fallecen por esta causa (26).

En Ecuador, según los datos publicados por la OPS, hasta el año 2016, la cobertura de la citología es muy baja, aproximadamente de un 28%. Además, el MSP no ha actualizado las guías de tamizaje del CaCU desde 1999. Desde el año 2010 hasta el 2017, se evidencia un mantenimiento de la mortalidad con una tendencia al crecimiento lineal positivo (11)

DIAGNÓSTICO DE LAS INFECCIONES CON VPH

Las infecciones con VPH son precedidas por una respuesta inmune humoral frente a la proteína mayoritaria de la cápside y estos anticuerpos se mantienen detectables por varios años, debido a esto, no se pueden diferenciar las infecciones pasadas de las infecciones presentes mediante un ensayo serológico (126). A esto se le añade que estos virus no se propagan en cultivos convencionales de células. Por consiguiente, las metodologías adecuadas para el diagnóstico de las infecciones

con VPH son las técnicas de biología molecular que permiten la detección de los ácidos nucleicos del virus (127).

Métodos de hibridación de ácidos nucleicos

Inicialmente la hibridación de ácidos nucleicos fue utilizada en sus múltiples variantes (hibridación *Southern Blot*, hibridación *in situ* e hibridación *Dot blot*) para la detección del genoma de VPH en muestras clínicas de tejidos o células infectadas. A pesar de que estas técnicas generaban resultados confiables, fueron sustituidas por técnicas más sensibles y específicas. Las desventajas fundamentales de estas técnicas incluyen la baja sensibilidad, la necesidad de elevadas concentraciones de ácidos nucleicos purificados y procedimientos laboriosos y demorados (128).

Reacción en Cadena de la Polimerasa

La Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP) es un método *in vitro* que permite la amplificación selectiva de secuencias específicas de ácidos nucleicos mediante síntesis enzimática. Esta técnica es muy sensible, específica y ampliamente utilizada en el diagnóstico de enfermedades infecciosas (129).

Mediante la RCP puede detectarse un solo genotipo viral o varios tipos simultáneamente, ya sea utilizando una mezcla de cebadores específicos o empleando cebadores generales o de consenso. Los cebadores consenso se seleccionan teniendo en cuenta la existencia de secuencias conservadas entre varios tipos de VPH (127). Los protocolos de RCP que se utilizan para la detección de VPH generalmente emplean cebadores degenerados o de consenso. Estos cebadores amplifican regiones conservadas del genoma de VPH dentro del gen L1 y permiten la amplificación de un gran número de genotipos en una misma reacción. Luego de la amplificación, los genotipos pueden identificarse individualmente mediante secuenciación nucleotídica, análisis con enzimas de restricción, hibridación con sondas específicas o por una RCP adicional con cebadores específicos (130-132).

RCP en Tiempo Real (RCP-TR)

La RCP-TR o RCP cuantitativa es una variante de la RCP convencional utilizada para amplificar y cuantificar simultáneamente de forma absoluta el producto de la amplificación de ADN o ADN complementario. Para ello emplea, del mismo modo que la RCP convencional, un molde de ADN, al menos un par de cebadores específicos, dNTPs, un tampón de reacción adecuado y una ADN polimerasa termoestable.

La RCP-TR es una técnica con elevada reproducibilidad, sensibilidad y especificidad, que se utiliza con frecuencia en la detección e identificación de genotipos de VPH. Las ventajas de esta técnica en el diagnóstico de las infecciones con VPH son: la capacidad para determinar el valor de la carga viral, la detección de múltiples genotipos en una misma reacción (debido al uso de diferentes fluorocromos que emiten fluorescencia durante la amplificación), la detección de ácidos nucleicos en pequeñas concentraciones, la reproducibilidad, rapidez y aplicabilidad a muestras clínicas. Para la detección de los genotipos se utilizan cebadores específicos que amplifican segmentos de interés para cada tipo de VPH (133).

Métodos comerciales para la detección de ácidos nucleicos de VPH

Debido a la importancia de la detección de VPH-AR en la prevención y seguimiento de las lesiones precursoras de cáncer, se han desarrollado métodos comerciales que permiten la detección y tipificación de los VPH más relevantes desde el punto de vista clínico. Entre ellos se encuentran: *Amplacor HPV test* (Roche Diagnostics, EE. UU), *Linear array HPV Genotyping test* (Roche Diagnostics, EEUU), *Innolipa HPV Genotyping Extra* (Innogenetics, Bélgica), *Biopat kit* (Biotools, España), *Cobas® 4800 HPV test* (Roche Molecular Systems, Pleasanton, CA, EEUU).

El estuche comercial CLART® HPV2 DNA test (Genómica, España) permite la detección del VPH mediante la amplificación de un fragmento de unos 450 pb dentro de la región del MAL L1 del virus. Esta región presenta suficientes variaciones como para poder diferenciar cada tipo de virus con sondas específicas. Mediante esta técnica se detecta la presencia de los 35 genotipos de VPH con mayor importancia clínica, en distintos tipos de muestras humanas (127, 134).

El estuche *Hybrid Capture 2 HPV DNA Test* (Captura Híbrida 2, Qiagen, MD, EE. UU) es un sistema que se basa en la hibridación directa del ácido nucleico viral sin previa amplificación. Este sistema no utiliza amplificación del ácido nucleico viral, sin embargo, es altamente sensible y específica, cuenta con la mayor cantidad de ensayos clínicos y con certificación internacional establecida por los controles de calidad de la Red Global de Laboratorios de VPH (WHO HPV LabNet) perteneciente a la OMS. Por esta razón la Captura Híbrida es la prueba universal de referencia para el diagnóstico *in vitro* de VPH (135).

PREVENCIÓN Y CONTROL

Prevención de la transmisión sexual

La prevención primaria de las enfermedades provocadas por el VPH involucra la educación de la población sobre prácticas sexuales seguras. Los programas de educación sexual elaborados por los Ministerios de Salud podrían prevenir la transmisión de las infecciones con VPH y disminuir el riesgo de desarrollar lesiones asociadas a esta infección (136).

Vacunación como método de prevención del CaCU

El desarrollo de las vacunas profilácticas para VPH se centra en la proteína estructural de la envoltura externa del virus, proteína L1, obtenida mediante técnicas de ingeniería genética. Esta proteína se autoensamblan cuando se expresa en cultivos de células eucariotas y forma partículas similares al virus (VLPs, del inglés virus like particles), que constituyen antígenos potentes cuando se inoculan por vía parenteral o intradérmica y son capaces de inducir una respuesta inmunitaria de anticuerpos neutralizantes que permite prevenir la infección por VPH, generando una respuesta duradera con títulos elevados. Estas VLPs, al no contener genoma viral, no pueden causar infección ni tienen potencialidad para causar lesiones neoplásicas (137, 138). Actualmente, existen tres vacunas profilácticas frente al VPH registradas por la Agencia de Drogas y Alimentos (FDA, del inglés *Food and Drug Administration*) y autorizadas a través del procedimiento centralizado por la Agencia

Europea de Medicamentos (EMA): la vacuna bivalente Cervarix®, la vacuna tetravalente Gardasil® y la vacuna nonavalente Gardasil 9® (137).

a. Tipos de vacunas, composición y presentación

Las tres vacunas disponibles contra VPH son inactivadas que contienen proteínas estructurales L1 (VLPs) de al menos dos genotipos, son obtenidas por técnicas de recombinación genética y no son infecciosas (137).

Cervarix®, comercializada por la compañía GlaxoSmithKline, Rixensart, Bélgica, con ficha técnica revisada en abril de 2017, contiene VLPs de los genotipos de alto riesgo VPH 16 y VPH 18. Se produce por recombinación genética mediante la utilización de un sistema de expresión en Baculovirus. Está adyuvada con AS04, sistema adyuvante que contiene hidróxido de aluminio y monofosforil lípido A. Esta vacuna está indicada en mujeres a partir de los 9 años de edad, para la prevención de lesiones genitales premalignas (cervicales, vulvares y vaginales) y cáncer de cérvix causados por VPH 16 y 18. También se indica en hombres y mujeres, a partir de los 9 años, para prevenir lesiones anales preneoplásicas y cáncer anal relacionados dichos genotipos de VPH (137).

Gardasil®, producida por Merck y Co, Inc., Whitehouse Station, New Jersey, EEUU con ficha técnica revisada en junio de 2017, contiene VLPs de los genotipos de alto riesgo oncogénico VPH 16 y VPH 18 y de los de bajo riesgo oncogénico VPH 6 y VPH 11. Se produce por recombinación genética mediante la utilización de un sistema de expresión que utiliza células derivadas de *Saccharomyces cerevisiae*. Está adyuvada con hidroxifosfato sulfato de aluminio amorfo. La indicación de esta vacuna es similar a la Cervarix®, incluyendo la prevención de verrugas anogenitales externas relacionadas con VPH 6 y 11 (137).

Gardasil9®, producida por Merck y Co, Inc., Whitehouse Station, New Jersey, EEUU con ficha técnica revisada en enero de 2018, contiene VLPs de los genotipos de alto riesgo oncogénico VPH 16, VPH 18, VPH 31, VPH 33, VPH 45, VPH 52, VPH 58 y de los de bajo riesgo oncogénico VPH 6 y VPH 11. Se produce por recombinación genética mediante la utilización de un sistema de expresión que

utiliza células derivadas de *Saccharomyces cerevisiae*. Está adyuvada con hidroxifosfato sulfato de aluminio amorfo y se indica para hombres y mujeres a partir de los 9 años. Previene lesiones precancerosas y cánceres que afectan al cuello uterino, vulva, vagina y ano causados por los tipos del VPH-AR y para la prevención de verrugas genitales o condilomas acuminados causados por los genotipos de VPH-BR incluidos en la vacuna (99, 137, 139).

b. Inmunogenicidad, eficacia y efectividad

Inmunogenicidad

Todos los preparados vacunales han mostrado en los estudios una elevada inmunogenicidad, con tasas de seroconversión próximas al 100% para las tres vacunas (140).

La vacuna Cervarix® presenta tasas de seroconversión del 100% tras la vacunación con tres dosis, en mujeres de 15 a 25 años, con tasas de seropositividad superiores al 98% y títulos 11 veces superiores a los generadas por la infección natural para ambos genotipos de VPH (140).

La vacuna Gardasil® presenta tasas de seroconversión del 99-100% tras la vacunación con tres dosis, para los tipos incluidos en la vacuna, y las tasas de seropositividad son superiores al 98% para el VPH 16 y del 65% para el VPH 18 a los 10 años post vacunación, en mujeres de 16 a 23 años (140, 141).

La vacuna Gardasil 9® ha demostrado la capacidad de inmunizar frente a los nueve genotipos de VPH incluidos en el preparado vacunal VPH (6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58), que causan aproximadamente el 90% de los cánceres de cérvix, más del 95% de los adenocarcinomas in situ, y entre el 75 y 85% de las neoplasias intraepiteliales cervicales de alto grado (142).

Eficacia clínica

Para las vacunas Cervarix® y Gardasil®, en los ensayos clínicos, con seguimiento clínico de las mujeres mayores de 16 años, durante un mínimo de ocho años, se corrobora una eficacia superior al 95% para la prevención de las lesiones

precancerosas de bajo, alto grado y adenocarcinomas *in situ* causados por los VPH oncogénicos 16 y 18. Se observó un grado de protección cruzada sobre otros tipos de VPH no incluidos en ambas vacunas (VPH 31, 33 y 45) (140, 141).

Para la vacuna Gardasil 9®, se evaluó la eficacia e inmunogenicidad en ocho ensayos clínicos. En todos los grupos analizados, del 98,2 al 100% de los individuos que recibieron la vacuna fueron seropositivos para anticuerpos frente a los nueve genotipos de la vacuna hasta siete meses post vacunación. La eficacia de la vacuna Gardasil 9® frente a lesiones intraepiteliales cervicales de alto grado relacionadas con los genotipos de VPH 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58 fue de 94,4 al 100% (142).

Además, las vacunas Gardasil® y Gardasil 9® han demostrado eficacia frente a verrugas genitales superior al 98% en mujeres y al 90% en hombres. También hay datos de protección superiores al 95% frente a otras lesiones precancerosas genitales, como es el caso de las lesiones intraepiteliales vaginales de alto grado (140, 141).

Con ambas vacunas, Gardasil® y Gardasil 9®, se demuestran diferentes grados de protección cruzada para otros genotipos de VPH oncogénicos, no incluidos en ambas formulaciones, lo que permite obtener una eficacia protectora global frente a lesiones preneoplásicas por VPH superior a la esperada (140, 142).

Efectividad

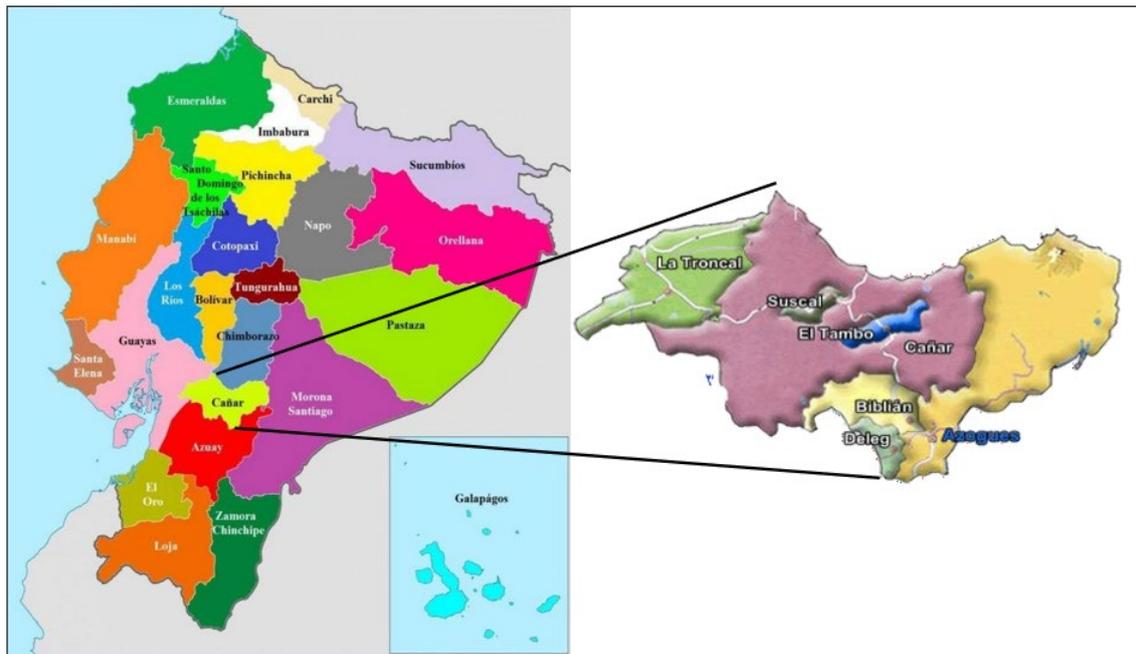
Las vacunas frente al VPH son vacunas profilácticas y, en principio, solo protegen frente a los VPH para los que la mujer no está infectada en el momento de la vacunación. Por ello, la mayor efectividad poblacional se obtendrá si todas las mujeres que se vacunan no están infectadas por VPH. La cobertura de la vacunación es esencial para obtener una efectividad elevada en la población, independientemente de la eficacia de la vacuna a nivel individual. Es muy importante extender la vacunación a todas las adolescentes y mujeres adultas, al menos, hasta la edad de 26 años (140, 142, 143).

Vacunación contra VPH en el Ecuador

Como parte de la estrategia nacional de salud para la prevención del CaCU, el MSP en el Ecuador en el año 2015, incorporó la vacuna contra VPH al esquema ampliado de inmunizaciones, con el fin de reducir la incidencia y mortalidad por esta grave enfermedad. En la actualidad las vacunas disponibles a nivel del país son la bivalente Cervarix® y la tetravalente Gardasil®. Sin embargo, una gran parte de la población ecuatoriana no se vacuna, fundamentalmente por tabúes morales y religiosos, ya que las madres consideran que la vacunación solo es importante para las jóvenes y niñas que ya han tenido relaciones sexuales e incluso que incita a sus hijas a iniciar dichas prácticas. Este comportamiento se evidencia en varios países subdesarrollados donde la población no tiene percepción de riesgo y donde las mujeres tienen falta de instrucción y de educación sobre su salud sexual y reproductiva (144).

El Cañar, Ecuador

El cantón Cañar se encuentra en la región sur del Ecuador, situado en la región andina y en la provincia del mismo nombre, tiene una extensión de 175 120 km², por lo que es el cantón más grande de la provincia de Cañar, ocupando el 56,07% del territorio (Figura 11).

Figura 11. Mapa de Cañar, Ecuador.

Fuente: Adaptado de www.azoguesvirtual.com y Orellana-Amoroso TM. Importancia del turismo comunitario para el desarrollo de las comunidades cañaris (145).

El cantón Cañar está dividido en 12 parroquias: Chontamarca, Ventura, San Antonio, Gualleturo, Juncal, Cañar, Zhud, General Morales, Ducur, Chorocopte, Ingapirca y Honorato Vásquez (30, 31, 145). En el cantón Cañar, los índices de pobreza son elevados, la población femenina representa el 53,9% y solo un 22,6% del total de habitantes reside en la zona urbana. El 30% de la población femenina es analfabeta y la salud sexual y reproductiva de estas mujeres se ve afectada tanto por tabúes socioculturales como por la falta de acceso a los servicios de salud (30).

Existen diferencias reconocidas entre los asentamientos urbano y rural del pueblo cañari, pues la migración de grupos poblacionales hacia la zona urbana y hacia otros países, durante los últimos 30 años, ha generado diferentes estilos de vida y un marcado mestizaje en los individuos del área urbana. Sin embargo, en el asentamiento rural, se mantiene y acentúa la etnicidad indígena- quechua, tanto desde el punto de vista sociocultural, como lingüístico (30, 31). Por esas razones, las poblaciones femeninas que han residido en diferentes asentamientos, urbano o rural, han estado expuestas a diferentes factores, desde el punto de vista étnico, cultural,

socioeconómico y a diferentes estilos de vida, incluso bajo la influencia de un entorno medioambiental diferente (31).

La parroquia General Morales, donde se realizó el presente estudio, está formada por 16 comunidades y está ubicada en el cantón Cañar de la provincia de Cañar. Fue reconocida mediante el registro oficial número 2-42 del 30 de mayo de 1925, y posteriormente aprobada el 30 de junio de 1925. De acuerdo con las proyecciones estadísticas del INEC, la parroquia en el año 2018 contaba con una población de 3 767 habitantes (26, 146). La población de la parroquia se caracteriza por dedicarse principalmente a las actividades agropecuarias, aunque existen marcadas diferencias entre los asentamientos urbano y rural dentro de esta comunidad (145).

La declaración de los grupos étnicos en el Ecuador ha sido imprecisa, por más de medio siglo y sólo en 1950 se hizo un recuento basado en la lengua indígena-quechua. Se plantea que fue debido a razones políticas e ideológicas y a la ignorancia antropológica de las instituciones estadísticas. Sobre la identidad étnica cuentan dos criterios: la visión étnica de la ecología y la apreciación lingüística de los grupos que forman la región. Últimamente, la evaluación algo más subjetiva pero efectiva, es el sentido de diferencia o pertenencia al pueblo indígena-quechua (26, 145, 146). Teniendo en cuenta este criterio y según lo establecido por el Reporte Nacional de Estadísticas y Censos del Ecuador, la distribución étnica de la población de la parroquia General Morales se muestra en la Tabla 2 (26, 145, 146).

Tabla 2. Grupos étnicos de la parroquia General Morales del cantón Cañar.

Grupos étnicos	Número	Porcentaje (%)
Indígena-quechua	2742	80,65
Afroecuatoriano (a)/Afrodescendiente	2	0,06

Mulato (a)	2	0,06
Montubio (a)	1	0,03
Mestizo (a)	609	17,91
Blanco (a)	39	1,15
Otro	5	0,15
Total	3400	100

Fuente: Adaptado del Reporte Nacional de Estadísticas y Censos, Ecuador (26, 145, 146).

De acuerdo al INEC la población parroquial de General Morales en el año 2010 fue de 3400 habitantes con una proyección al año 2020 de 3940 habitantes. Existe un predominio de la población femenina, debido a la migración, especialmente de la población masculina hacia el extranjero, por motivos económicos. Los datos de la Tabla 3 muestran la distribución de la población femenina en la parroquia General Morales, de Cañar, según los grupos etarios (26).

Tabla 3. Descripción de la población femenina de la parroquia General Morales según los grupos etarios.

Grupo etario (años)	Mujeres	Porcentaje (%)
< 1	35	1,95
1-4	163	9,19
5-9	208	11,61
10-14	250	13,96
15-19	204	11,39
20-24	133	7,13
25-29	86	4,80
30-34	94	5,25
35-39	94	5,25
40-44	89	4,97
45-49	69	3,85
50-55	96	5,36
56 y más	270	1,5

Total	1791	100%
-------	------	------

Fuente: Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC) (26).

La parroquia General Morales Centro es urbana, con un líder de la Unión Provincial de Comunas Campesinas del Cañar y es considerada urbana porque posee escuelas, iglesia, autoridad civil (teniente político) y eclesiástica (párroco católico). Los residentes en el centro urbano tienen un marcado mestizaje, debido a que por décadas han estado aislados de las comunidades rurales y se han expuesto a costumbres y estilos de vida diferentes.

Las comunidades rurales se ubican hacia la periferia del centro de la parroquia, carecen de todos estos servicios y en sus habitantes se mantiene y acentúa la etnicidad indígena-quechua, tanto desde el punto de vista sociocultural, como lingüístico. Por todas estas razones es que las mujeres residentes en la zona urbana son clasificadas fundamentalmente como mestizas y no como indígenas (26, 145, 146).



REDLIC | Red Editorial
Latinoamericana de
Investigación Contemporánea

CAPÍTULO III
DISEÑO
METODOLÓGICO

DISEÑO METODOLÓGICO

DISEÑO DEL ESTUDIO Y CONTEXTO

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal, entre julio de 2017 y septiembre de 2018. Este estudio fue conducido en población femenina residente en el cantón Cañar, del Ecuador, para determinar la circulación del Virus del Papiloma Humano, la presencia de lesiones cervicouterinas y los factores asociados, en mujeres residentes en dos asentamientos, urbano y rural, de dicha región.

El contexto en el que se desarrolla la investigación se basa en que las mujeres residentes en la zona urbana del cañar son censadas como mestizas y se rigen por una organización social estructurada. Sin embargo, las mujeres residentes en la zona rural son censadas como indígenas, carecen de todos los servicios relacionados con una organización social urbanizada y en ellas se mantiene y acentúa la etnicidad indígena-quechua, tanto desde el punto de vista sociocultural, como lingüístico (26, 145, 146).

UNIVERSO Y MUESTRA

El universo estuvo constituido por todas las mujeres entre 15 y 55 años de edad, residentes en dos asentamientos, urbano y rural, del cantón Cañar, que accedieron a participar en la investigación, en el periodo definido previamente y que cumplieron con los criterios de inclusión.

La muestra quedó integrada por 200 mujeres (100 mujeres residentes en el asentamiento urbano y 100 provenientes del asentamiento rural). El tamaño de la muestra estuvo en dependencia de las mujeres que asistieron voluntariamente para participar en el estudio, en el periodo establecido en el diseño de la investigación.

A todas las participantes se les tomaron muestras cervicouterinas para determinar la frecuencia de infección por VPH, los genotipos circulantes, la carga viral, la presencia de lesiones intraepiteliales cervicales y otras alteraciones cérvico-vaginales. Además, se analizó el comportamiento de algunas variables sociodemográficas, clínicas y epidemiológicas y su asociación con la infección viral.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Criterios de Inclusión: Se incluyeron mujeres con edades comprendidas entre 15 y 55 años, sexualmente activas y que dieron su consentimiento de participación en la investigación. Para ser considerada dentro del grupo proveniente del asentamiento urbano, se tuvo en cuenta que la participante hubiera estado residiendo dentro de dicho asentamiento al menos 10 años previos a la investigación y que en el último censo fuera clasificada como mestiza, según el Registro de Etnia del Ecuador (Anexo 1). Para ser considerada dentro del grupo proveniente del asentamiento rural, se tuvo en cuenta también un periodo de residencia dentro de dicho asentamiento de al menos 10 años previos a la investigación y que en el último censo fuera clasificada como indígena, según el Registro de Etnia del Ecuador (Anexo 1).

Como criterios de exclusión se tuvieron en cuenta: embarazo en curso, haber recibido tratamientos o procedimientos ginecológicos 3 meses antes de la prueba y haber tenido relaciones sexuales 48 horas antes de la prueba o tacto genital previo. También se consideró como criterio de exclusión, el uso de ciertos fármacos que podrían afectar el resultado de la prueba citológica o de la detección viral; como la colchicina, la podofilina y el uso del nitrato de plata (147, 148).

Una vez cumplidos estos requisitos, se procedió a llenar un modelo de consentimiento informado (Anexo 2), un cuestionario (Anexo 3) y la solicitud del examen citológico y de la detección viral. El cuestionario se completó mediante una entrevista realizada por un médico especialista en ginecología, un psicólogo y el investigador responsable del estudio. Mediante dicho cuestionario se recogieron los datos sociodemográficos, las variables clínico-epidemiológicas y los aspectos socioculturales. Además, la información, con respecto a la salud sexual, reproductiva, hábitos alimenticios y adicciones.

DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

La Tabla 4 refiere la operacionalización de las variables para definir la asociación entre la infección por VPH, la carga viral, las lesiones intraepiteliales cervicales y los factores sociodemográficos, clínicos y epidemiológicos en mujeres entre 15 y 55

años residentes en dos asentamientos, urbano y rural, del Cañar, Ecuador, 2017-2018.

Tabla 4. Operacionalización de variables.

Variable	Tipo	Escala	Definición
Edad	Cuantitativa discreta por intervalos	<20	Edad en años cumplidos. Dato tomado de la encuesta.
		20-30	
		31-40	
		41-50	
		51-55	
Procedencia rural	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Residir en el asentamiento rural del Cañar, al menos 10 años previos a la investigación y que en el último censo fuera clasificada como indígena, según el Registro de Etnia del Ecuador (Anexo 1).
Procedencia urbana	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Residir en el asentamiento urbano del Cañar, al menos 10 años previos a la investigación y que en el último censo fuera clasificada como mestiza, según el Registro de Etnia del Ecuador (Anexo 1).
Etnia indígena quechua	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Participante que en el último censo fuera clasificada como indígena, según el Registro de Etnia del Ecuador (Anexo 1) y que se comunique en lengua Quechua.
Nivel educacional	Cualitativa ordinal politémica	Analfabeta Primaria Secundaria Universitaria	Nivel educacional máximo alcanzado. Dato tomado de la encuesta.

Situación ocupacional	Cualitativa ordinal politómica	Estudiante Ama de Casa Agricultora Obrera Profesional	Oficio o profesión de una persona, independiente del sector en que puede estar empleada, o del tipo de estudio que hubiese recibido.
Estado civil	Cualitativa ordinal politómica	Casada Soltera Divorciada Unión Consensual Viuda	No se estableció según lo reconocido por la legislación ecuatoriana, sino por el tipo de unión estable o no, con una pareja del sexo opuesto.
Edad de la menarquia	Cuantitativa discreta por intervalos	≤ 14 ≥ 15	Edad en años cumplidos cuando tuvo su primera menstruación.
Número de parejas sexuales referidas en los últimos 2 años	Cuantitativa discreta	1 2-3 ≥ 4	Número de personas con las que mantuvo relaciones sexuales en el periodo analizado.
Edad de inicio de las relaciones sexuales en años	Cuantitativa discreta por intervalos	≤ 15 16-20 > 20	Edad en años cumplidos cuando tuvo su primera relación sexual.
Número de embarazos	Cuantitativa discreta por intervalos	0-1 2-3 ≥ 4	Número de embarazos que llegaron o no a término.
Número de partos	Cuantitativa discreta por intervalos	0-1 2-3 ≥ 4	Número de partos fisiológicos o mediante cesárea.

Número de abortos provocados	Cuantitativa discreta por intervalos	0-1 ≥2	Número de abortos provocados por métodos convencionales en medicina o por métodos caseros.
Antecedentes de infecciones de transmisión sexual	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Episodios de infecciones transmitidas a través del contacto sexual.

Continuación de la Tabla 4. Operacionalización de variables.

Variable	Tipo	Escala	Definición
Hábito de fumar	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Adicción al tabaco, provocada principalmente por uno de sus componentes más activos, la nicotina.
Consumo de alcohol	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Adicción al alcohol, cuando se consume alcohol de manera regular.
Consumo de drogas	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Adicción a cualquier tipo de droga natural o sintética, no se incluye el café.
Alimentación sana	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Dieta sana a base de frutas, verduras y legumbres.
Resultados de la citología cervical	Cualitativa nominal dicotómica	Normal Alterada	Interpretación de los resultados de la citología cervical, para evaluar alteraciones o cambios en las células escamosas, según la clasificación de Bethesda 2014.
Citologías cérvico-	Cualitativa nominal	Sí No	Si se realizó o no alguna citología cérvico- vaginales alguna vez,

vaginales alguna vez, durante su vida sexualmente activa	dicotómica		durante su vida sexualmente activa.
Citologías cérvico-vaginales en los últimos 5 años	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Si se realizó o no alguna citología cérvico- vaginal en los últimos 5 años.
Uso habitual del condón	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Disposición o conducta habitual de mantener relaciones sexuales utilizando condón. Dato tomado de la encuesta.
Uso de anticonceptivos hormonales	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Consumo de tabletas anticonceptivas con o sin prescripción médica.
Tiempo de uso de anticonceptivos hormonales en años	Cuantitativa discreta por intervalos	1 2-4 ≥5	Tiempo en años consumiendo tabletas anticonceptivas con o sin prescripción médica. Dato tomado de la encuesta.
Síntomas ginecológicos*	Cualitativa nominal politómica	Leucorrea Prurito Metrorragia Ninguno	Cualquier síntoma clínico que involucra el tracto genital inferior.
Resultados de la citología cervical	Cualitativa ordinal politómica	1. Negativas (NILM) 2. Atípicas de significado indeterminado (ASC-US) 3. Atípicas donde no se	Interpretación de los resultados de la citología cervical, según clasificación de Bethesda 2014.

			puede excluir lesión de alto grado (ASC-H)
		4.	Lesiones de Bajo grado (LSIL)
		5.	Lesiones de Alto grado (HSIL)
		6.	Carcinoma de células escamosas (SCC)

Procesos inflamatorios en la citología cervico -vaginal	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Cualquier proceso inflamatorio en la mucosa cervicouterina detectado mediante la prueba de Papanicolaou.
--	--------------------------------------	----------	---

Grado de inflamación en la mucosa cervico- vaginal	Cualitativa ordinal politémica	Leve Moderado Severo	Procesos inflamatorios de diferente grado en la mucosa cervicouterina detectados mediante la prueba de Papanicolaou.
--	--------------------------------------	----------------------------	--

Continuación de la Tabla 4. Operacionalización de variables.

Variable	Tipo	Escala	Definición
Atrofia cervical	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Procesos atróficos de la mucosa cervicouterina detectados mediante la prueba de Papanicolaou.
Infección por Virus del Papiloma Humano	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Presencia en la mucosa cervicouterina del VPH 6, 11,13, 32,40, 42, 43, 44, 54, 61, 62, 71, 72, 81, 83, 84, 86,87, 89, 90, 91,

			16, 18, 26, 30, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 69,70, 73, 82 y 85, determinada a través del estuche comercial de microarreglos de baja densidad (CLART® HPV2 (Genómica, España).
Infección por Virus del Papiloma Humano de alto riesgo oncogénico	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Presencia en la mucosa cervicouterina del VPH de alto riesgo (VPH 16, 18, 26, 30, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 69,70, 73, 82, 85), determinada a través del estuche comercial de microarreglos de baja densidad (CLART® HPV2 (Genómica, España), según el criterio de la Agencia Internacional de Investigaciones del Cáncer (IARC).
Carga viral de los Virus del Papiloma Humano de alto riesgo oncogénico más frecuentes en las mujeres estudiadas	Cuantitativa	Valor numérico en copias/mL	Valor de la carga viral de cada genotipo determinada a través de la Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real (RCP-TR), según la referencia de estándares de concentración conocida.

*Pueden aparecer varios síntomas ginecológicos en una misma paciente.

TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS

Toma de las muestras clínicas

La toma de la muestra se realizó primeramente para la citología cérvico-vaginal, mediante la técnica convencional (149). Para ello, con la paciente en posición decúbito dorsal, piernas separadas y en flexión a nivel de las rodillas, con ayuda del espéculo, se maniobró adecuadamente para visualizar y centralizar el orificio cervical externo (149). De esta manera, el cuello uterino quedó expuesto en la vagina y fue posible visualizar la zona de unión escamo-columnar o zona de unión entre el epitelio escamoso estratificado del exocérvix y el epitelio cilíndrico glandular del endocérvix, zona donde se originan y se desarrollan la mayoría de las neoplasias cervicales asociadas a infección por VPH (150).

Las muestras clínicas para el análisis citomorfológico fueron los extendidos de células cervicouterinas, clasificados como útiles para la realización de la citología cérvico-vaginal. Las citologías satisfactorias se clasificaron, según el sistema de Bethesda 2014 (88). Para la toma de la muestra de células cervicales se eliminó el moco sobrante del orificio cervical y exocérvix utilizando una torunda de algodón. Luego se realizó un raspado del exocérvix con espátula de Ayre y se extendió la muestra exocervical de un extremo de la espátula en una lámina portaobjetos (Min Sheng, China). Se procedió a la fijación inmediata con solución spray fijadora para citodiagnóstico (Merckofix, Alemania) (149). Dichas láminas se trasladaron hacia el departamento de anatomía patológica de los laboratorios especializados de referencia (NETLAB, Quito, Ecuador) donde se realizaron los estudios citológicos, por un especialista en anatomía patológica. En todos los casos, las citologías fueron analizadas por tres observadores independientes y se tuvieron en cuenta todos los parámetros para el control de calidad del proceso (151).

Las muestras clínicas para la detección de VPH fueron colectadas inmediatamente después de realizar los extendidos de células para la realización de la citología cérvico-vaginal y consistieron en cepillados endocervicales. Para ello, se empleó un cepillo citológico muescado (Becton Dickinson, Sparks, MD, EEUU) que se introdujo en el canal endocervical para al mismo tiempo realizar un barrido en la zona del exocervix, con el fin de obtener las células endo y exocervicales para la extracción del ADN. Una vez obtenidas las muestras, se mantuvieron en la solución

comercial SurePath (Becton Dickinson, Sparks, MD, EEUU) que es destinada a la preservación, traslado y almacenamiento de muestras para citología en base líquida y para la detección viral del VPH. Las muestras se conservaron a -20 °C hasta su procesamiento para la extracción del ADN en el Laboratorio de Biología Molecular del Centro de Biomedicina de la Universidad Católica de Guayaquil, Ecuador.

Prueba de Papanicolaou

La tinción se realizó por el método de Papanicolaou (152). La citología se catalogó según criterios de utilidad de la muestra en satisfactorias y no satisfactorias para evaluación de anomalías epiteliales. Las satisfactorias permitieron detectar coilocitos (células epiteliales modificadas relacionadas con una infección por VPH) y valorar el grado de atipia citológica (88). Los hallazgos y posteriormente la clasificación de los resultados se interpretaron utilizando la terminología del sistema Bethesda 2014 (88).

Una prueba de Papanicolaou es positiva si se observan las siguientes anomalías: células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US), lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (LSIL), células escamosas atípicas de significado indeterminado en las que no se excluye una lesión de alto grado (ASC-H), lesión escamosa intraepitelial de alto grado (HSIL) y carcinoma de células escamosas (SCC). También es positiva si existen anomalías de células glandulares, pero estas se presentan con menor frecuencia (88).

Extracción del ADN

Se realizó la homogeneización de las suspensiones celulares, mediante agitación vigorosa. La solución comercial SurePath, en la que se preservaron las muestras, es utilizada para la citología en base líquida y contiene formaldehído. Por ello, deben tenerse en cuenta tratamientos con calor para facilitar la extracción del ADN, debido a lo cual se realizaron modificaciones al protocolo original de extracción. Dicho proceso se llevó a cabo a partir de 1 mL y hasta 2 mL de la suspensión de células obtenidas de la mucosa cervical mediante la realización de cepillado.

Primeramente, se realizó una agitación vigorosa con vórtex para homogeneizar las células en el medio SurePath, luego se transfirió 1 mL del homogenizado de células a un vial eppendorf y se centrifugó a 12.000 rpm durante 10 minutos. Se descartó el sobrenadante y el pellet de células se dejó seco y se procedió a realizar la extracción con el estuche comercial QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Alemania) empleando el protocolo para células y tejidos y según las indicaciones del fabricante. El sistema de purificación permitió obtener entre 50 y 100 ng/ μ L de ADN puro por muestra, el cual se diluyó en 100 μ L de tampón de elución. El ADN purificado se conservó a -20° C antes y durante su traslado a la Universidad Estatal de Barcelona (OBS school, Barcelona, España), donde se realizó la detección y genotipado del VPH y la cuantificación de la carga viral.

Detección y genotipado de VPH mediante microarreglos de baja densidad

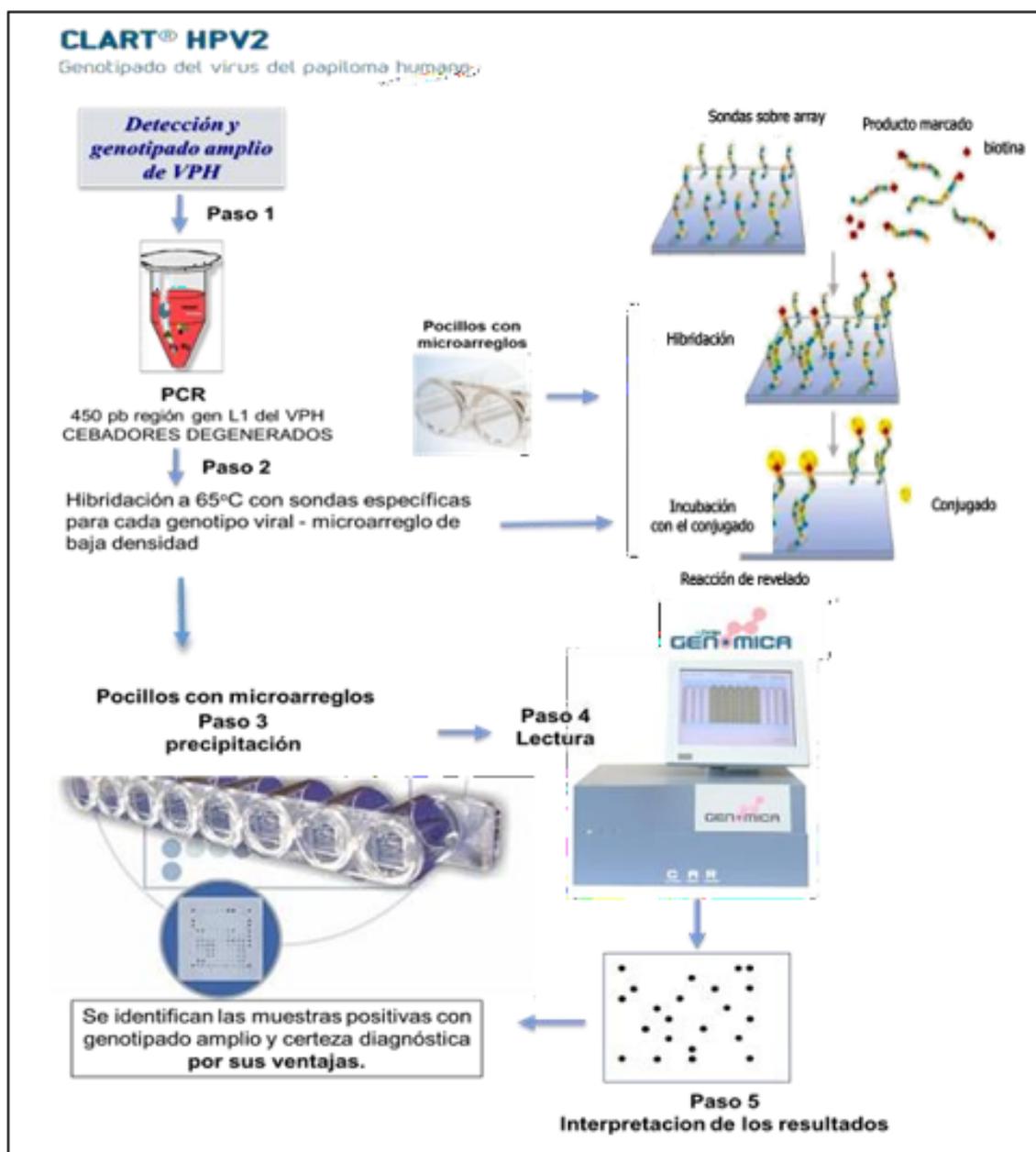
Se detectó y genotipo del VPH en las muestras con el estuche comercial CLART® HPV2 (Genómica, España), siguiendo las instrucciones del fabricante. Este estuche cuenta con la aprobación de la Unión Europea y la FDA para su uso en el diagnóstico clínico *in vitro*.

Mediante una RCP a punto final (AERIS BG096, ESCO Micro Pte., Ltd., Singapur) se amplificó un fragmento de 450 pb dentro del MAL L1 del genoma viral y se realizó la hibridación con sondas específicas para cada genotipo viral. Las sondas utilizadas permitieron identificar los 35 genotipos de VPH con mayor importancia clínica: 15 genotipos de bajo riesgo oncogénico (VPH 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 62, 71, 72, 81, 83, 84, 85 y 89) y 20 genotipos de alto riesgo oncogénico (VPH 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73, 82) según los criterios actualizados de la Agencia Internacional de Investigaciones del Cáncer (IARC) (120).

En las reacciones de amplificación se emplearon 5 μ L de ADN purificado a partir de cada muestra clínica. El sistema incluye en el diseño de cada microarreglo, un control interno de ADN de la muestra clínica, un control externo de amplificación y un control para el marcaje y visualización de los productos amplificados. La

sensibilidad analítica del ensayo fue calibrada por el fabricante a partir de plásmidos comerciales clonados de cada genotipo viral (127, 134, 153). En la Figura 12 se muestra el flujograma y principios moleculares del estuche comercial CLART® HPV2.

Figura 12. Flujograma y principios moleculares del estuche comercial CLART® HPV2 (Genómica, España).



Fuente: Adaptado del Protocolo CLART® HPV2, Versión 10, febrero 2013.

El estuche comercial CLART® HPV2 permite la detección del VPH mediante la amplificación de un fragmento de unos 450 pb dentro de la región del MAL L1 del virus, por tratarse de una secuencia que está altamente conservada entre los distintos tipos de VPH (154). Sin embargo, esta región presenta suficientes variaciones como para poder diferenciar cada tipo de virus con sondas específicas. De esta manera, se asegura la especificidad de la detección.

El sistema de detección se basa en la precipitación de un producto insoluble en aquellas zonas del microarreglo en las que se produce la hibridación de los productos amplificados con las sondas específicas. Durante la RCP, los productos amplificados se marcan con biotina.

Después de la amplificación, estos productos se hibridan con sus respectivas sondas específicas que están inmovilizadas en zonas concretas y conocidas del microarreglo, tras lo que se incuba con un conjugado de estreptavidina-peroxidasa. El conjugado se une a través de la estreptavidina con la biotina presente en los productos amplificados (que a su vez se encuentran unidos a sus sondas específicas) y la actividad peroxidasa provoca la aparición de un producto insoluble en presencia del sustrato o-dianisidina, que precipita sobre las zonas del microarreglo en las que ocurre la hibridación (Figura 12).

Cuantificación de la carga viral de los genotipos de VPH más frecuentes

Luego de determinar los genotipos de VPH-AR más frecuentes en las mujeres estudiadas, se realizó la cuantificación de la carga viral mediante RCP en Tiempo Real (RCP-TR), empleando el estuche comercial HPV Genotypes 14 Real-TM Quant (Sacace Biotechnologies Srl, Italia, REF V67-100 FRT), según las indicaciones del fabricante. Este estuche permitió la cuantificación de 14 genotipos de VPH-AR (VPH 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) de mayor relevancia clínica en la aparición y desarrollo del CaCU. Su uso para el diagnóstico clínico in vitro está aprobado por la Comunidad Europea.

Para cada muestra clínica se realizaron cuatro reacciones múltiples en un solo ensayo de RCP- TR, lo que permitió cuantificar los 14 genotipos de VPH-AR de mayor distribución mundial. También se detectó el gen de la beta globina humana, como control interno incluido en el estuche comercial, permitiendo así confirmar la calidad y concentración del ADN extraído de las muestras clínicas. Cada genotipo se detectó en un canal fluorescente por separado (FAM, JOE, ROX y Cy5), lo que permitió su identificación individual y obtener su carga viral, para ello se emplearon 16 sondas específicas para cada uno de los genotipos virales incluidos en el ensayo.

La cuantificación de las muestras clínicas se estableció según los valores de referencia estándares del ensayo, que tienen un rango desde 104 hasta 107 copias/mL, para todos los genotipos de VPH y para el control interno. La prueba también incluyó un control negativo en cada una de las corridas, que se realizaron a partir de 10 μ L de ADN purificado de las muestras clínicas y 15 μ L de mezcla de reacción, preparada según las indicaciones del fabricante. La sensibilidad del ensayo tiene un rango desde 10 copias/mL hasta 100 millones de copias de VPH por mL de muestra clínica (155).

La técnica permitió definir un valor pronóstico para las muestras clínicas analizadas, pues los valores de carga viral por debajo de 103 copias/mL representan infecciones transitorias. Valores de carga viral entre 103 y 105 copias/mL constituyen un marcador para el desarrollo de lesiones precursoras del CaCU, mientras que valores superiores a 105 copias/mL, representan un fuerte predictor para el desarrollo de neoplasias cervicouterinas (155). Los resultados de la cuantificación de la carga viral de cada muestra se evaluaron contra las referencias cuantitativas que generan la curva estándar y contra la concentración de ADN del gen de la beta globina humana, lo que permitió el cálculo de las cargas virales de cada VPH (155).

La corrida y análisis de los resultados se realizaron en un equipo Rotor-Gene® Q (QIAGEN, Hilden, Alemania), siguiendo el programa de RCP-TR recomendado por el fabricante del estuche comercial HPV *Genotypes* 14 Real-TM Quant, para esta plataforma.

Análisis de la información

Todos los datos personales, clínicos, epidemiológicos y de laboratorio de cada paciente se almacenaron en una base de datos en Excel. Para el análisis de las diferentes variables fue aplicado el paquete estadístico SPSS versión 19.0 (IBM Inc., Berkeley, CA, EE. UU). Se calcularon las frecuencias absolutas y porcentuales de infección por VPH, de los genotipos específicos de VPH detectados e infecciones múltiples, así como de los hallazgos citológicos identificados en las mujeres estudiadas.

La asociación entre las variables sociodemográficas, clínico-epidemiológicas y las infecciones estudiadas se analizó mediante tablas de contingencia y la prueba estadística de *Chi* cuadrado (X^2). Se consideraron significativos los valores de Razón de Productos Cruzados (OR), del *Odd Ratio*, $OR > 1$ y $p < 0,05$; estimándose intervalos de confianza con un nivel de significación del 95%.

Para determinar si existió relación entre el valor de la carga viral de los genotipos de VPH más frecuentes en las muestras clínicas y otras variables estudiadas, se utilizó el paquete estadístico Graph Pad Prism 3.0. Se emplearon las pruebas 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

Las mujeres acudieron a la convocatoria para participar en el estudio a través de la divulgación, reuniones con los dirigentes comunitarios, avisos y comunicaciones colocadas en espacios libres de ambos asentamientos, urbano y rural de Cañar, manteniendo los aspectos éticos y legales.

En todos los casos se obtuvo el consentimiento informado de las mujeres para participar en la investigación. Se comunicó que la investigación se realizaría teniendo en cuenta todos los preceptos éticos de la medicina actual. Para ello, se tuvieron en cuenta los principios de la Declaración de Helsinki (156) sobre la investigación clínica en humanos y las normas de la OMS establecidas por el

Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas, OMS- CIOMS (157).

Se tuvieron en cuenta las características de las mujeres estudiadas, considerando que las residentes en el asentamiento rural mantienen su identidad, lengua quechua y tradición sociocultural indígena y que las residentes en la zona urbana, aún bajo una organización social diferente, estaban bajo la influencia de tabúes morales y sociales. Por ello, todas fueron debidamente informadas de las ventajas de participar en el estudio y la posibilidad de retirarse del mismo en el momento deseado, siempre empleando un lenguaje claro, sencillo y respetando la diversidad de esta población.

Todos los documentos legales y el consentimiento informado fueron firmados debidamente por el médico especialista en ginecología y responsable de la toma de las muestras clínicas, por un psicólogo, por un abogado que representó a las pacientes y por el investigador responsable del estudio. Todos los datos personales, clínicos, epidemiológicos y de laboratorio de cada paciente fueron almacenados y protegidos con una clave que sólo conocieron los investigadores principales, para mantener la confidencialidad



REDLIC | Red Editorial
Latinoamericana de
Investigación Contemporánea

CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

PRINCIPALES HALLAZGOS DEL ESTUDIO

En el presente estudio se analizaron muestras cervicales de 200 mujeres (100 del asentamiento urbano y 100 del asentamiento rural) residentes en la provincia de Cañar en el Ecuador, que acudieron por voluntad propia a un consultorio establecido en cada localidad, en el fin de realizar la detección de VPH, citología cervical y examen ginecológico completo.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA

En la Tabla 5 se muestran las diferencias en las características sociodemográficas y epidemiológicas entre las poblaciones urbana y rural.

La mediana de la edad de la población general analizada fue de 40 años y el mayor porcentaje correspondió al grupo etario de 41 a 50 años. La mayor parte tenía un nivel de escolaridad igual o mayor al nivel primario, con un porcentaje superior de instrucción en la población de mujeres residentes en el área urbana del Cañar. Este aspecto se refleja en la Tabla 5, ya que en la población rural el 37% eran analfabetas, con respecto a sólo un 4% de analfabetismo en las mujeres urbanas.

El vínculo laboral fue superior para la población urbana, al igual que el porcentaje de amas de casa, mientras que las mujeres del asentamiento rural se dedicaban preferentemente a labores agrícolas. La mayoría de las mujeres eran casadas, con un porcentaje más elevado en las mujeres rurales; al igual que aquellas que mantenían hábitos alimenticios sanos. Se evidenció que casi un tercio de las mujeres urbanas tenía adicción por el consumo de cigarrillos mientras que en la población rural no existía tal hábito.

Tabla 5. Datos sociodemográficos y epidemiológicos de mujeres estudiadas, residentes en el Cañar, Ecuador.

Variable	Grupos o rangos	Urbanas N=100 (n=%)	Rurales N=100 (n=%)	Total N=200 n (%)
Etnia indígena Quechua	Si	0	100	100 (50)
	No	100	0	100 (50)
Edad en años Mediana=40 años	<20	1	2	3 (1,5)
	20-30	26	24	50 (25)
	31-40	27	27	54 (27)
	41-50	34	27	61 (30,5)
	51-55	12	20	32 (16)
Nivel educacional	Analfabeta	4	37	41 (20,5)
	Primaria	36	50	86 (43)
	Secundaria	35	10	45 (22,5)
	Universitaria	25	3	28 (14)
Situación ocupacional	Estudiante	11	3	14 (7)
	Ama de Casa	42	32	74 (37)
	Agricultora	9	58	67 (33,5)
	Obrera	26	6	32 (16)
	Profesional	12	1	13 (6,5)
Estado civil	Casada	68	78	146 (73)
	Soltera	9	10	19 (9,5)
	Divorciada	7	2	9 (4,5)
	Unión Consensual	12	7	19 (9,5)
	Viuda	4	3	7 (3,5)
	Consumo habitual de cigarrillos	Si	32	0
Consumo de alcohol	Si	1	2	3 (1,5)

Consumo de drogas	Si	0	0	0 (0)
Alimentación sana	Si	68	82	150 (75)

Fuente: Modelo para la recogida de la información.

En la Tabla 6 se observa que la mayor parte de las mujeres tuvieron la menarquia antes de los 14 años de edad y comenzaron las relaciones sexuales entre los 16 y 20 años. Aproximadamente el 50% tuvo más de un embarazo y un parto durante su vida reproductiva; añadiendo que el 92% se realizó al menos un aborto en este período. Igualmente, el 82% refirió una sola pareja sexual en los 2 últimos años. Solo un 50% de estas mujeres se había realizado una citología cérvico- vaginal, alguna vez durante su vida sexualmente activa y el 32% lo había realizado en los últimos 5 años; agregando que más del 95% tenía síntomas ginecológicos, con predominio de la leucorrea. En casi el 50% de los casos se detectó la presencia de procesos inflamatorios mediante el estudio citológico, un 21% mostró atrofia cervical y el 38% tenía antecedentes de haber padecido alguna ITS. Con respecto al uso de anticonceptivos, el 50% de las mujeres refirió anticoncepción hormonal y el 4% no uso del condón.

Tabla 6. Historia sexual y datos ginecológicos de las mujeres estudiadas.

Variable	Grupos o rangos	Urbanas	Rurales	Total
		N=100 (n=%)	N=100 (n=%)	N=200 N (%)
Edad de la menarquia en años	≤14	83	92	175 (87,5)
	≥15	17	8	25 (12,5)
Edad de inicio de las relaciones sexuales en años	≤ 15	3	2	5 (2,5)
	16-20	84	81	165 (82,5)
	> 20	13	17	30 (15)
Número de embarazos	0-1	20	10	30 (15)
	2-3	52	45	97 (48,5)
	≥4	28	45	73 (36,5)
Número de partos	0-1	25	13	38 (19)
	2-3	54	52	106 (53)

	≥4	21	35	56 (28)
Número de abortos provocados	0-1	93	92	185 (92,5)
	≥2	7	8	15 (7,5)
				AA
Número de parejas sexuales referidas en los últimos 2 años	1	86	78	164 (82)
	2-3	11	22	33 (16,5)
	≥4	3	0	3 (1,5)
Citologías cérvico-vaginales				
alguna vez, durante su vida sexualmente activa	Si	73	27	100 (50)
Citologías cérvico-vaginales en los últimos 5 años				
	Si	44	24	64 (32)
Procesos inflamatorios en la citología cérvico-vaginal				
Grado de inflamación en la mucosa cérvico- vaginal	Leve	19	21	40 (20)
	Moderado	22	18	40 (20)
	Severo	11	6	17 (8,5)
Atrofia cervical	Si	19	25	43 (21,5)
Antecedentes de ITS	Si	35	42	77 (38,5)
Uso habitual del condón	Si	4	4	8 (4)
Uso de anticonceptivos hormonales				
Tiempo de uso de anticonceptivos hormonales en años	1	6	13	19 (9,5)
	2-4	31	23	54 (27)
	≥5	18	9	25 (12,5)
Síntomas ginecológicos*				
	Leucorrea	60	72	132 (66)
	Prurito	12	10	22 (11)
	Metrorragia	20	7	27 (13,5)
	Ninguno	8	22	30 (15)

Fuente: Cuestionario para la recogida de la información. *Pueden aparecer varios síntomas ginecológicos en una misma paciente (El total excede el 100%). Abreviaturas: ITS: Infecciones de Transmisión Sexual.

En la historia sexual y reproductiva también se evidenciaron diferencias entre ambos grupos de mujeres (urbanas y rurales) residentes en Cañar. Estas diferencias se relacionan con el número de embarazos y partos, ya que en las mujeres rurales se observó un mayor porcentaje, con más de 4 embarazos e igual número de partos. Además, una mayor proporción de mujeres residentes en la zona urbana refirió haberse realizado la citología cervical, al menos una vez o durante los últimos cinco años de su vida sexual y reproductiva.

De las mujeres analizadas en el presente estudio, el mayor porcentaje inició sus relaciones sexuales después de los 20 años. Aunque el grupo de mujeres estudiadas tiene dos estratos, rural y urbano, de manera general, la población de la provincia de Cañar, obedece a los cánones y tabúes religiosos que identifican a esta región con profundas raíces indígenas. Sin embargo, se ha reportado previamente, en un estudio realizado en adolescentes de diferentes provincias y de diversos orígenes socioculturales, que la edad de inicio de las relaciones sexuales en Ecuador tuvo una media de 15 años, tanto para hombres como para mujeres (158).

En esta pesquisa, la mayor parte de las mujeres estudiadas refirió una sola pareja sexual durante toda su vida sexualmente activa. Estudios similares realizados en comunidades indígenas de América Latina han reportado que más de un 50% de las mujeres, con una edad promedio de 30 años o más, refieren una pareja sexual (159). Este resultado pudiera estar relacionado con las características socioculturales de la población de la provincia del Cañar, donde se obedecen preceptos rígidos en cuanto a la moral, la sexualidad y la familia, aun en mujeres residentes en asentamientos urbanos, pues las férreas tradiciones morales, religiosas y el machismo han estado muy arraigadas durante siglos (30).

Con respecto a los síntomas ginecológicos más frecuentes identificados en la población estudiada, la leucorrea o flujo vaginal y la metrorragia se detectaron en el mayor porcentaje de los casos. Muchas de estas mujeres son casadas y no acuden

al ginecólogo por las razones socioculturales antes mencionadas (146). Aunque la mayoría de las mujeres investigadas solo refirió una pareja sexual durante toda su vida sexualmente activa, este comportamiento no excluye la posibilidad de padecer infecciones vaginales que causen estos síntomas. Esto pudiera deberse a la diferencia en el comportamiento de los hombres respecto al de las mujeres. Los hombres de esta región tienen conductas promiscuas de manera frecuente, este comportamiento constituye la causa más común del contagio de sus esposas con infecciones de transmisión sexual (21, 146).

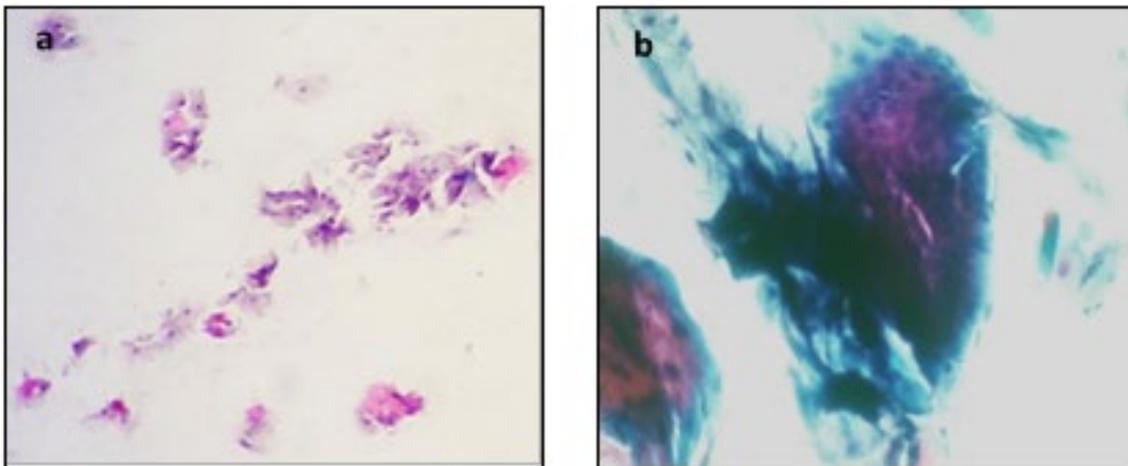
En otros estudios realizados en poblaciones indígenas se ha podido evidenciar que el síntoma ginecológico referido también con más frecuencia es el flujo vaginal (160-162). Además, se ha encontrado relación entre las conductas promiscuas, fundamentalmente en los hombres, y la presencia de leucorrea en sus esposas. El hecho de tener varias parejas sexuales constituye uno de los principales factores de riesgo para la infección con agentes como el VPH, relacionado con una alta incidencia de cáncer cervical (160-163).

RESULTADOS DE LA CITOLOGÍA CÉRVICO-VAGINAL O PRUEBA DE PAPANICOLAOU

La prueba Papanicolaou identifica lesiones que se visualizan a través de alteraciones en la morfología de las células exo y endocervicales. Dichas alteraciones pueden ser provocadas por determinadas patologías infecciosas, ya sean de origen bacteriano, parasitario, micótico o viral, o por causas de origen hormonal. Las modificaciones celulares frente a estos procesos pueden ser diversas, entre las que se encuentra la inflamación y la atrofia, respectivamente (164).

Esta prueba fue realizada a las 200 mujeres incluidas en el estudio y la calidad de las muestras fue satisfactoria en el 100% de los casos. Según los tres observadores que realizaron la lectura de las láminas citológicas, el 89% (178/200) de las muestras fueron negativas para malignidad (Figura 13 a y b) y en el 11% (22/200) se identificaron alteraciones citológicas.

Figura 13. Muestras citológicas de células superficiales y zona de transición



Nota: (a) Muestra satisfactoria para evaluación, negativa para lesión intraepitelial o malignidad (10X). (b) Muestra satisfactoria para evaluación con presencia de la zona de transformación (40X).

En la Figura 13 a, se muestran células superficiales y en la 13 b, aparecen células de la zona de transformación escamo-columnar. Es necesario obtener células representativas de ambas localizaciones anatómicas para precisar la adecuación de la muestra citológica y el diagnóstico definitivo. Además, es esencial que las preparaciones cuenten con el número de células adecuadas (1000 células por campo 4X) y que no contengan células hemáticas, moco cervical, lubricante o artefactos como talco de guantes u otras sustancias químicas (88). En estas preparaciones (Figura 13 a y b) no se observan alteraciones morfológicas de las células cervicales analizadas.

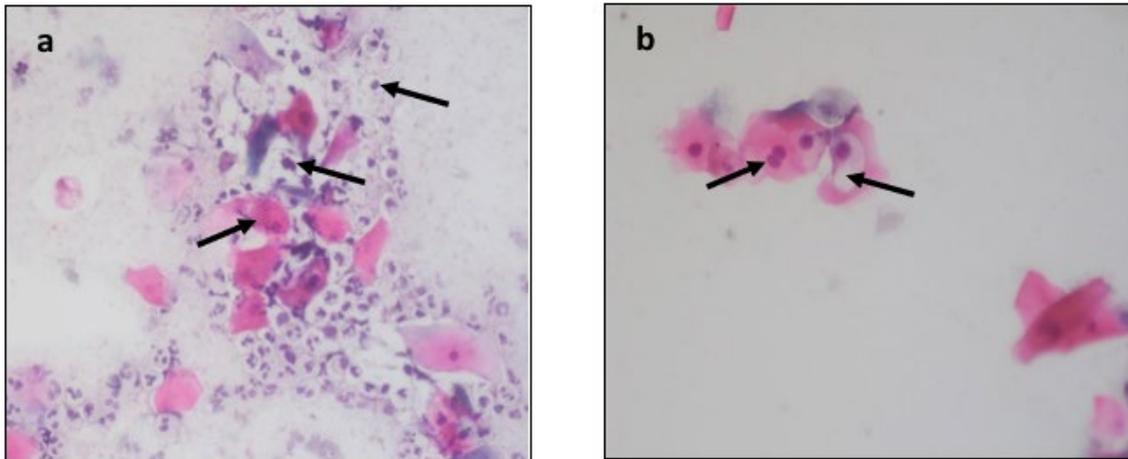
Dentro de los 200 casos analizados, las alteraciones citológicas se distribuyeron de la siguiente forma; 12 (6%) fueron diagnosticados con lesiones de bajo grado o LSIL (Figura 14 a y b), seis (3%) con ASC-US (Figura 15 a y b) y cuatro (2%) con lesiones de alto grado o HSIL (Figura 16 a y b).

En la Figura 14 a y b, se observan signos de LSIL. El primer caso (Figura 14 a) muestra células intermedias y superficiales con núcleos agrandados e hiper cromáticos, con coloración azul oscura intensa y citoplasma claro. También se observa la hiperqueratosis relacionada con tinción rosácea intensa del citoplasma

asociado a procesos inflamatorios y displásicos ligeros que pudieran deberse al efecto citopático inicial de la infección por VPH (88).

El segundo caso (Figura 14b) muestra un efecto citopático patognomónico de la infección por VPH, el coilocito; célula grande con citoplasma refringente y núcleo hiper cromático aumentado de tamaño.

Figura 14. Extendido citológico con lesiones escamosas intraepiteliales de bajo grado



Nota: (a) Extendido citológico con LSIL, presencia de macronucleosis, hiperqueratosis y signos inflamatorios (40X). (b) Muestra con LSIL con infección por VPH, presencia de coilocitosis y binucleación (40X).

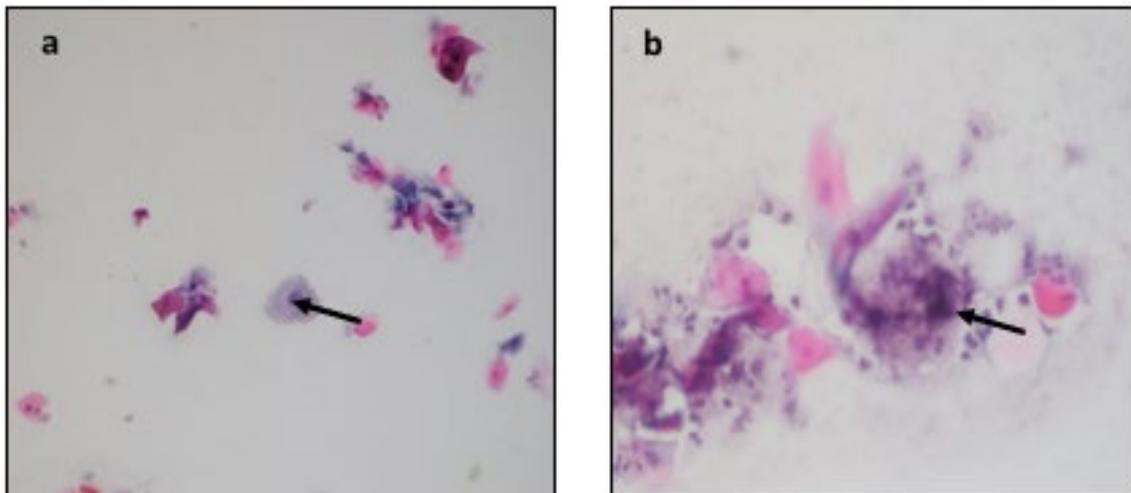
Además, aparece la binucleación como signo de las alteraciones producidas por el VPH en el material genético de la célula infectada (88). Estas modificaciones identificadas en las muestras con LSIL, que además fueron la mayoría de los casos con lesiones citológicas (54% de las citologías positivas, 12/22), están directamente relacionadas con el efecto citopático de la infección cervical por VPH en las mujeres estudiadas, lo cual indica la necesidad de un seguimiento de las pacientes en consultas especializadas de patología de cuello.

En la Figura 15 (a y b), se identificaron las principales atipias que caracterizan las citologías ASC-US. En estas imágenes se observan células con núcleos atípicos, aumentados de tamaño e hiper cromáticos. También se observa que el contorno nuclear está muy bien definido y aunque aparece un aclaramiento alrededor del núcleo, el citoplasma no cumple las características para clasificar la célula como un coilocito. Estas alteraciones no son concluyentes para llegar a clasificarlas como

LSIL (88). Las muestras positivas a ASC-US se identificaron en el 27% de las mujeres con lesiones citológicas (6/22), aspecto que define un seguimiento riguroso de dichos casos.

Estudios como el ATHENA (del idioma inglés, *Addressing The Need for Advanced HPV Diagnostics*) (165, 166) y el APTIMA (del idioma inglés, *Amplification Probe Test for in vitro messenger RNA detection assay*) (167), son investigaciones que se realizaron para definir la utilidad de la Clasificación de Bethesda y su correlación frente a diferentes métodos moleculares para la detección de VPH. Dichos estudios demostraron, que a pesar de que la citología es una técnica subjetiva y que su sensibilidad no supera el 70%, cuando se realiza un seguimiento, las lesiones atípicas de significado indeterminado tienen una alta probabilidad de progresar hacia lesiones de alto grado en un período entre tres y cinco años. Esto, según los estudios moleculares realizados a la par, es debido a que son lesiones en las que se detectan infecciones por VPH oncogénicos con marcada persistencia (168).

Figura 15. Muestras citológicas con células escamosas atípicas de significado



indeterminado

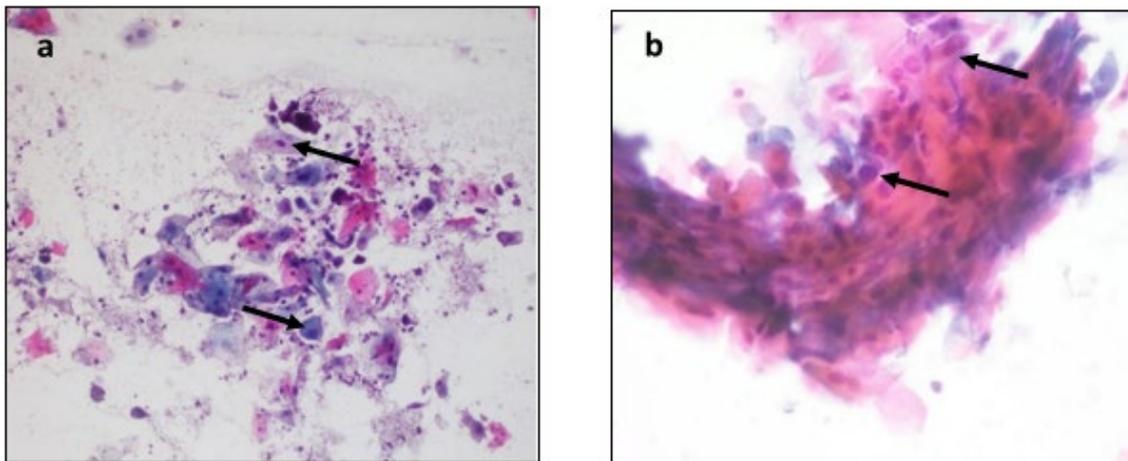
Nota: (a) Muestra satisfactoria para evaluación con ASC-US, células con contorno nuclear regular y definido, Preparación 40X; (b) Células atípicas con agrandamiento nuclear e hiperchromasia, Preparación 40X

Por todo lo expuesto, el uso de la clasificación de Bethesda es muy útil en el diagnóstico citológico, a partir de las múltiples evidencias de su valor predictivo y

de la amplia información que provee a los especialistas para el adecuado seguimiento y tratamiento de las patologías de cuello uterino (88).

Es de destacar que, en la presente investigación, las lesiones intraepiteliales de alto grado, (Figura 16 a y b) se presentaron en un menor número de casos, mientras que no se detectaron citologías atípicas de significado indeterminado que no excluye una lesión de alto grado (ASC-H).

Figura 16. Extendidos citológicos con lesiones escamosas intraepiteliales de alto grado



Nota: (a) Extendido citológico con HSIL, células con pérdida de la relación núcleo/citoplasma, trastornos de hiperqueratinización e hiper cromasia nuclear, Preparación 10X; (b) HSIL con macronucleosis marcada e hiperqueratinización, Preparación 40X.

Los hallazgos citológicos más frecuentes en las HSIL son cambios drásticos en la arquitectura celular, pues se va perdiendo la organización de los epitelios y se observan alteraciones en la relación núcleo/citoplasma, la cual aumenta en las HSIL, con respecto a las LSIL. El núcleo aumenta su tamaño y se incrementa la intensidad de la tinción nuclear debido a la acumulación de mutaciones, lo cual genera marcados cambios en la estructura de la cromatina. Las preparaciones con HSIL a menudo, muestran células en cúmulos (Figura 16 b) que tienen un núcleo distintivo y no se observa el nucléolo, el citoplasma puede ser inmaduro y fino, o por el contrario denso y queratinizado. Estos acúmulos de células también pudieran formar sincitios con múltiples núcleos picnóticos (88).

Aunque las lesiones de alto grado se detectaron en una menor proporción en las mujeres estudiadas, estas lesiones pudieran ser el indicador de un serio problema de salud en la población analizada, al ser mujeres que no se realizan la prueba citológica de manera regular, incluso algunas no se han realizado este examen en toda su vida.

En la Tabla 7 se muestran los resultados del estudio citológico según el grupo de mujeres, rurales y urbanas, en las cuales se observaron ligeras diferencias.

Tabla 7. Distribución de las lesiones citológicas en los dos grupos de mujeres analizadas, rurales y urbanas.

Lesiones	Urbanas n=100	Rurales n=100	Total, N=200
ASC-US	4	2	6
LSIL	7	5	12
HSIL	3	1	4
Total	14	8	22

Nota: **ASC-US:** células escamosas atípicas de significado; **LSIL:** lesión escamosa intraepitelial de bajo grado; **HSIL:** lesión escamosa intraepitelial de alto grado.

En el caso de las mujeres residentes en la zona rural, el 92% de las muestras fueron negativas para malignidad y en el 8% se identificaron alteraciones citológicas (Tabla 7). Entre las citologías negativas para malignidad en este grupo de mujeres, el 48,9% (45/92) tuvo algún patrón inflamatorio, predominando las inflamaciones leves (21/45), sobre las moderadas (18/45) o severas (6/45). Un 27,2% (25/92) de estas mujeres presentó atrofia cervical, y los casos con atrofia fueron detectados principalmente en las mujeres cercanas a los 40 años o mayores, debido a los cambios en el estado hormonal del útero. El 23,9% (22/92) de los casos con citología negativa no mostró ningún tipo de alteración de naturaleza benigna.

En las mujeres residentes en la zona urbana, el 86% de las muestras fueron negativas para malignidad y en el 14% se identificaron alteraciones citológicas (Tabla 7). En el 21% (18/86) de las citologías negativas para malignidad de las

mujeres de la zona urbana no se detectó ningún tipo de alteración citológica de origen benigno. Sin embargo, el 60,5% (52/86) de estas mujeres tuvo algún patrón inflamatorio, predominando las inflamaciones moderadas (22/52). Los procesos inflamatorios leves (19/52) y severos (11/52), fueron menos frecuentes. Un 22,1% (19/86) presentó atrofia cervical, hallazgo que fue detectado solamente en las mujeres mayores de 40 años. Es decir, que las muestras que se reportaron con atrofia se correspondían a las mujeres de mayor edad, que pudieran estar en la etapa perimenopáusica, o utilizando terapias hormonales. Estos factores pueden provocar una transformación del epitelio cervical, lo cual pudiera aumentar la susceptibilidad de la unión escamo-columnar para la infección por VPH oncogénicos y procesos de transformación dependientes de hormonas. Dichos hallazgos han sido también reportados por otros autores, los cuales han demostrado incluso, que el efecto del tratamiento con estrógenos en mujeres postmenopáusicas pudiera conllevar a cambios citológicos importantes en el epitelio cervical, coincidentes con lesiones escamosas y atipias celulares de significado indeterminado (169, 170).

Tanto en Ecuador como en otros países de Latinoamérica existen reportes en población aparentemente sana, donde el porcentaje de ASC-US varía entre 0,6 y 10,4%; para LSIL se reporta entre 1,8 y 14,5%; mientras que las lesiones de alto grado se identifican en cerca del 2% de los casos (146, 163). En esta investigación, aunque los porcentajes de las lesiones citológicas se encuentran dentro de los rangos reportados, se observaron ligeras diferencias entre los dos grupos de mujeres, urbanas y rurales. A pesar de que las mujeres residentes en el área urbana de Cañar refirieron haberse realizado la prueba citológica con mayor frecuencia y periodicidad, la mayor proporción de las lesiones se identificó en dichas mujeres, incluso se detectaron tres casos con lesiones de alto grado.

Por otra parte, los procesos inflamatorios se han relacionado directamente con la adquisición y la persistencia de las infecciones tanto bacterianas como virales. Cuando estos procesos llegan a ser crónicos, se afecta la respuesta inmune local de la mucosa cervical, lo que interfiere con la eliminación de las infecciones por VPH oncogénicos, contribuyendo a la persistencia viral y a la transformación celular. La

inflamación crónica del epitelio cervical, se asocia con variables como el elevado número de parejas sexuales (171) y otras conductas sexuales de riesgo como la práctica del coito sin protección (172).

Se debe enfatizar que, en el presente estudio, el mayor porcentaje de las mujeres indígenas, que residían en la zona rural, no se habían realizado un estudio citológico anteriormente. La falta de instrucción, el poco acceso a los medios de comunicación y el habla en lengua quechua, limitan en gran medida su comunicación con profesionales no kichwa hablantes, sus conocimientos y la percepción de riesgo para su salud sexual, la cual comúnmente está sujeta a la decisión del jefe de hogar (146, 163). Además, muchas mujeres de esta región, y del Ecuador, desconocen aspectos generales de su salud sexual, al mismo tiempo no se realizan la prueba de Papanicolaou, porque es “incómodo” que un médico hombre revise sus genitales. La falta de mensajes sobre educación sexual en los medios de comunicación del Ecuador y de Latinoamérica, limita en gran medida los conocimientos para atender adecuadamente su salud sexual y reproductiva, la cual se ajusta a preceptos machistas y patriarcales (146, 160, 162, 163).

En el Ecuador, la citología convencional es la principal herramienta diagnóstica utilizada por el Sistema Nacional de Salud Pública para la detección del CaCU. Dicho método se ha establecido mediante un sistema de elección de tamizaje y ha sido implementado en la red de servicios de salud pública para detectar precozmente esta neoplasia. Sin embargo, este es un procedimiento que tiene muy baja cobertura a nivel nacional, apenas de un 28%, y carece de organización y alcance a todos los estratos de la sociedad (173, 174).

Conociendo que la citología es una prueba subjetiva y con sensibilidad no mayor del 70% en el mejor de los escenarios (175), en el Ecuador las instituciones o facultativos que ejercen la medicina privada no tienen un alto nivel de entrenamiento, ni las condiciones para llevar a cabo las técnicas para el diagnóstico citológico e histológico. Sin embargo, existen instituciones privadas con altos estándares de calidad como el caso de SOLCA (32), aunque para muchos sectores

con bajos ingresos económicos no es posible acceder a los servicios de instituciones como esta.

Al no existir la cobertura adecuada por parte de las instituciones de salud pública del Ecuador y ante la capacitación ineficiente de muchos especialistas en el sector privado, la citología cervicouterina no cumple con la función para la cual está diseñada, como primer eslabón en la detección precoz del CaCU. Estos y otros aspectos intrínsecos de su Sistema de Salud Pública, hacen del Ecuador uno de los países con más casos de cáncer cervicouterino (13, 176).

Sin embargo, existen países donde la tríada citología-colposcopia-histología ha resultado una herramienta eficaz en la detección precoz del CaCU, aun cuando por motivos económicos aún no se han podido incluir las pruebas moleculares para la detección precoz de esta enfermedad. Tal es el caso de Cuba, donde desde 1968 existe un programa para el diagnóstico precoz del CaCU (177), que se inserta en el sistema de atención primaria de salud con su extensa red de consultorios del médico y la enfermera de la familia. Dentro del programa se pesquisan mujeres sexualmente activas con edades entre 25 y 59 años, a las que cada tres años se les realiza la prueba de Papanicolaou. Este programa redujo la mortalidad por CaCU desde tasas superiores a 20 por 100.000 mujeres en 1965, hasta 9,7 por 100.000 en 2018. La alta cobertura de la citología en Cuba, cerca del 98%, y el trabajo de las consultas especializadas de patología de cuello con especialistas de alto nivel permiten que ese país exhiba tasas de mortalidad que están entre las más bajas de América Latina (178).

Desde hace algunos años, el algoritmo diagnóstico para la detección precoz del CaCU se ha venido modificando con la inclusión de las pruebas moleculares para detección de VPH-AR. Actualmente, varios países han modificado su estrategia y en dichos algoritmos la prueba que se realiza en primer lugar es la detección viral y la tríada citología-colposcopia-histología constituye un segundo eslabón (179).

Las pruebas moleculares para la detección de VPH-AR permiten el aumento de la sensibilidad del diagnóstico integral del CaCU junto a la tríada citología-

colposcopia-histología. Países como México (180) y Argentina (181) han logrado introducir estos métodos en sus algoritmos diagnósticos, pero primeramente han logrado definir la prevalencia de los genotipos específicos de VPH que circulan en su población, así como su asociación con las lesiones cervicales precursoras de CaCU. Esto les ha permitido considerar cuáles genotipos de VPH deben incluirse en los ensayos diagnósticos para los estudios de pesquisa y seguimiento del CaCU, así como estimar el impacto de la vacunación contra el VPH (180, 181).

INFECCIÓN CON EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN MUJERES RESIDENTES EN EL CAÑAR

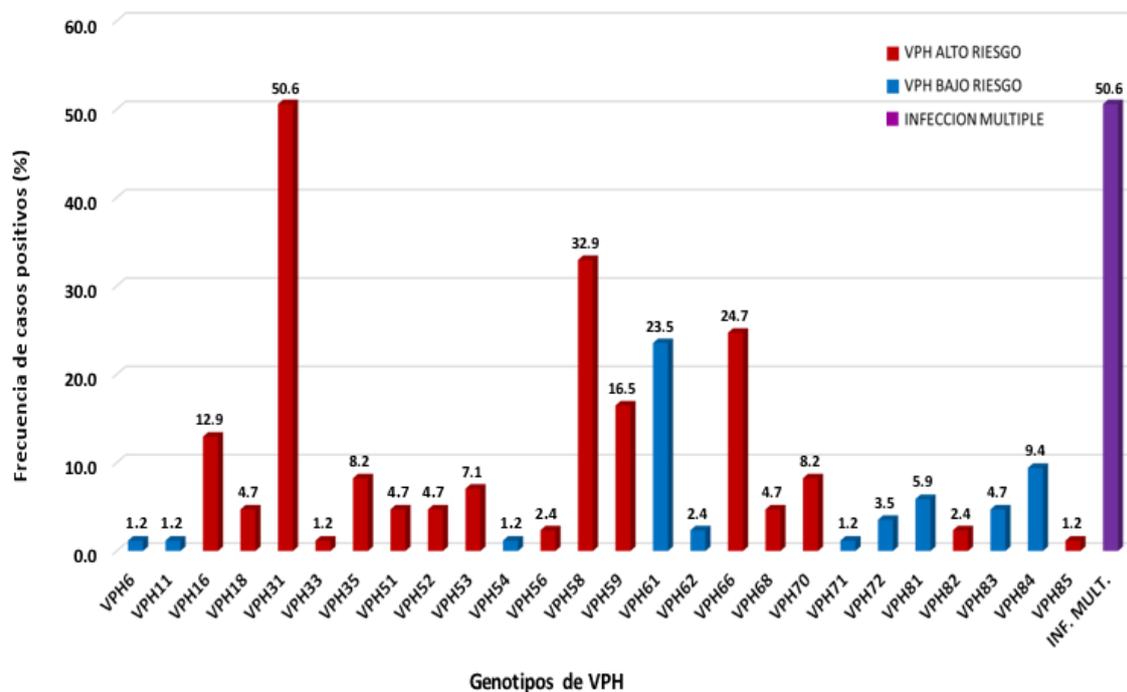
Hasta el presente, son pocos los estudios realizados sobre la epidemiología del VPH en Ecuador (182, 183), ello incrementa la necesidad de indagar sobre la prevalencia de este agente viral y el grado de vulnerabilidad de las poblaciones ecuatorianas de diferentes regiones del país, sobre todo las que están alejadas de las grandes urbes. El presente estudio se realizó en una de estas poblaciones, mujeres cañaris, de las cuales un grupo pertenecía a un asentamiento rural con integración a la etnia indígena quechua y otro residía en la zona más urbanizada del Cantón Cañar.

Al investigar la presencia de VPH en el total de las mujeres estudiadas se obtuvo una frecuencia de infección de un 42,5% (85/200). En general, fueron identificados 26 genotipos diferentes, con un predominio de los tipos oncogénicos en el 94% de los casos (80/85).

En la Figura 17 se representan las frecuencias de infección por los diferentes genotipos de VPH identificados en las muestras analizadas y se puede observar que el VPH 31 fue el más frecuente, presente en el 50,6% (43/85) de los casos positivos, seguido por el VPH 58 en el 32,9% (28/85). Los tipos de VPH-AR 66 y 59 se detectaron en el 24,7% (21/85) y 16,5% (14/85), de los casos positivos, respectivamente. Los genotipos VPH-BR se identificaron en el 54,1% de los casos positivos (46/85), predominando el genotipo 61 (23,5%; 20/85).

La Figura 17 muestra, que las infecciones con más de un genotipo de VPH fueron identificadas en el 50,6% de los casos (43/85), estas fueron mayoritariamente coinfecciones con más de tres tipos virales.

Figura 17. Frecuencia de infección por el Virus del Papiloma Humano en mujeres residentes en el Cañar, Ecuador.

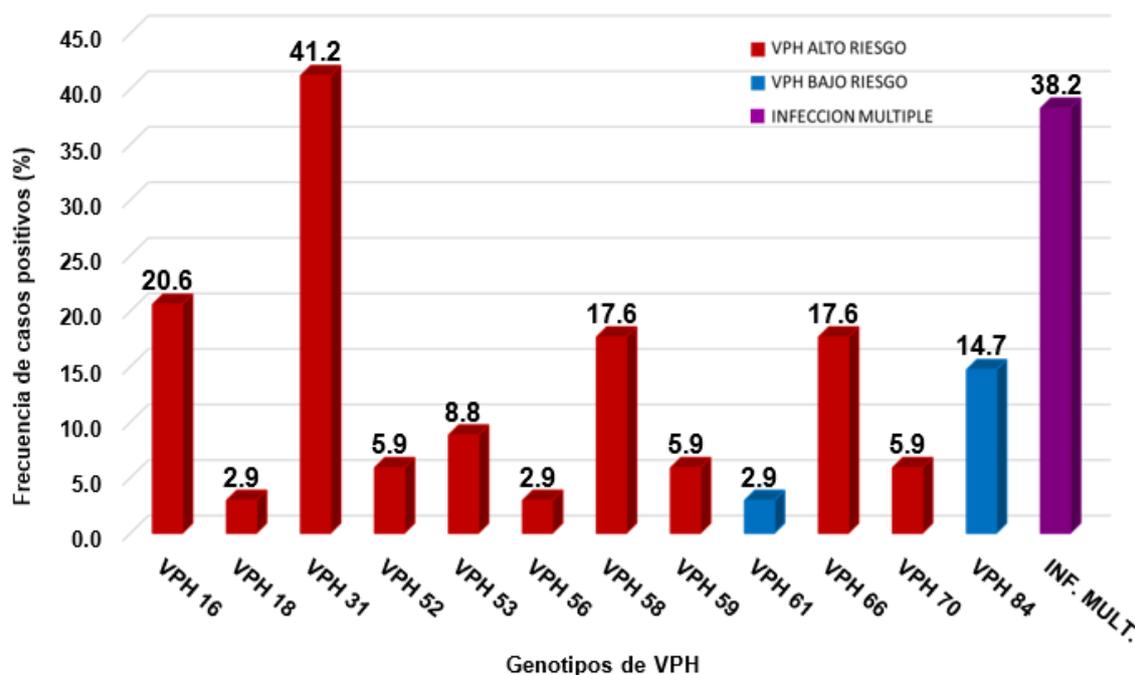


Se investigó también, de manera particular, la frecuencia de infección por VPH en cada uno de los grupos de mujeres estudiadas, las residentes en el asentamiento rural, clasificadas como indígenas y las residentes en la zona urbana.

Infección con el Virus del Papiloma Humano en mujeres indígenas, residentes en la zona rural de la provincia del Cañar

De las 100 mujeres examinadas, el 34% (34/100) resultó positiva a uno o más genotipos de VPH. En general fueron identificados 12 genotipos diferentes, con un predominio casi absoluto de los genotipos oncogénicos, pues en el 91% (31/34) de los casos positivos se detectó, al menos, un genotipo de alto riesgo. La Figura 18 muestra el VPH 31 como el genotipo más frecuente, identificado en el 41,2% (14/34) de los casos positivos, seguido por el VPH 16 en el 20,6% (7/34).

Figura 18. Frecuencia de infección por el Virus del Papiloma Humano en mujeres indígenas, residentes en la zona rural de la provincia del Cañar, Ecuador.



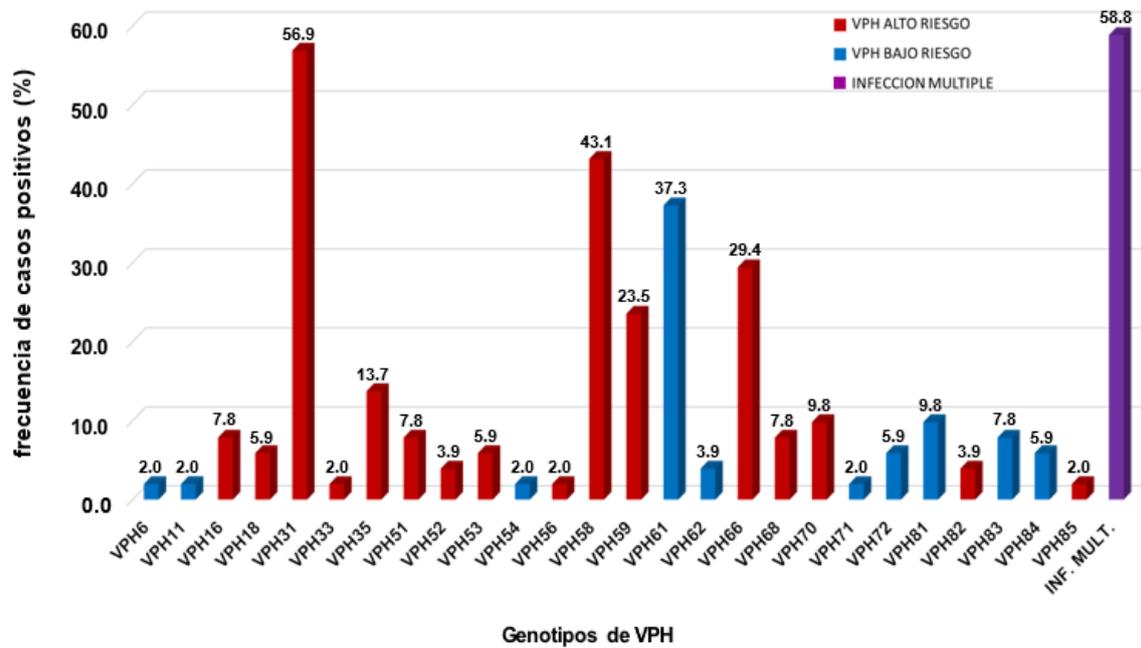
En la Figura 18 también se observa que los tipos de VPH-AR 58 y 66 se detectaron en el 17,6% (6/34) de las mujeres positivas a la infección viral. Los genotipos VPH-BR se detectaron minoritariamente, en el 17,6% (6/34) de los casos positivos, predominando el VPH 84, en el 14,7% (5/34) y coinfectando con genotipos oncogénicos en todas las muestras. Las infecciones con más de un genotipo de VPH se identificaron en el 38,2% de los casos (13/34) y fueron mayoritariamente (92,3%; 11/13) coinfecciones con dos tipos virales, ya que solo una paciente estuvo infectada con tres genotipos.

Infección con el Virus del Papiloma Humano en mujeres mestizas, residentes en la zona urbana de la provincia del Cañar

De las 100 mujeres examinadas, el 51% (51/100) resultó positiva a uno o más genotipos de VPH. En general, fueron identificados 26 genotipos diferentes, con un predominio casi absoluto de los genotipos oncogénicos, pues en el 96% (49/51) de los casos positivos se detectó, como mínimo, un genotipo de alto riesgo. La Figura

19 expone al VPH 31 como al genotipo más frecuente, identificado en el 56,9% (29/51) de los casos positivos, seguido por el VPH 58 en el 43,1% (22/51).

Figura 19. Frecuencia de infección por el Virus del Papiloma Humano en mujeres residentes en la zona urbana de la Provincia del Cañar, Ecuador.



La Figura 19 también muestra que los tipos de VPH-AR 66 y 59 se detectaron en el 29,4% (15/51) y 23,5% (12/51), de los casos positivos, respectivamente. Aunque los genotipos VPH-BR se identificaron en menor proporción, en el 41,2% (21/51) de los casos positivos, el VPH 61 tuvo una elevada frecuencia (37,3%; 19/51), siempre coinfectando con genotipos de alto riesgo oncogénico. Las infecciones con más de un genotipo de VPH se identificaron en el 58,8% de los casos (30/51) y fueron mayoritariamente (73,3%; 22/30) coinfecciones con cuatro o más tipos virales.

Como se evidencia en los resultados, la frecuencia de infección por VPH es notablemente alta en ambos grupos de mujeres, pero con un comportamiento diferente. En el caso de las mujeres indígenas de la zona rural, hay una menor frecuencia de infección y una menor diversidad de genotipos. Igualmente, la distribución porcentual de los genotipos no es la misma y resalta el hallazgo de que el VPH 16, aunque de manera general, no es el más frecuente, presenta un mayor porcentaje en estas mujeres.

En esta investigación, la frecuencia de infección para la población femenina en general, fue superior a un 30%, con un 34% en las mujeres indígenas de la zona rural y un 51% en las mujeres residentes en la zona urbana del Cañar. Estos resultados evidencian una distribución desigual de la infección por VPH en comunidades con marcadas diferencias desde el punto de vista social y cultural.

De acuerdo con un meta-análisis realizado en el 2010, que incluyó un millón de mujeres con citología normal, procedentes de 59 países y 5 continentes, la prevalencia de la infección cervical se mantiene en el rango de 1,6 a un 25%, con una prevalencia global estimada de 11,7%, aunque fue diferente según las regiones geográficas. De hecho, la prevalencia del VPH se estimó en un 24% en África Sub-Sahariana, en el Este de Europa un 21,4% y en Latinoamérica un 16,1%. Los menores valores de prevalencia se encontraron en América del Norte (4,7%) y el Oeste Asiático (1,7%) (184).

Otro meta-análisis realizado por autores mexicanos incluyó el estudio de 1425 muestras de mujeres con citología normal provenientes de diferentes países, como México, Estados Unidos, Canadá, Brasil, Suecia, Tanzania, Sudáfrica, Tailandia, Arabia Saudita y Australia (185). Dichos autores detectaron una prevalencia de infección por VPH de 12,4 % (185). El presente trabajo muestra resultados diferentes a los obtenidos en Latinoamérica para mujeres con citología normal, pues la frecuencia de infección por VPH obtenida es considerablemente elevada, en particular para las mujeres residentes en la zona urbana del Cañar. Sin embargo, varios análisis realizados en mujeres indígenas ecuatorianas, oriundas de las provincias de Guayas y Azuay, reportan porcentajes de infección por VPH hasta del 30%, frecuencia similar a la encontrada en el presente estudio (182, 183). Además, en otros estudios realizados en mujeres indígenas de Argentina se observan cifras elevadas de infección por VPH, cercanas al 40%, pues la prevalencia varía drásticamente dentro de las regiones de un mismo país y se han descrito diferencias significativas entre provincias o asentamientos (181). Dichas cifras se ven modificadas por aspectos sociales, demográficos, culturales y epidemiológicos.

De la misma forma, la distribución de genotipos puede variar entre países o entre regiones de un mismo país, incluso entre comunidades de una misma región. En esta investigación se pudo comprobar el predominio casi absoluto de los genotipos oncogénicos. Sin embargo, los resultados muestran que el genotipo más frecuente fue el VPH 31 y no el 16, que se detectó en un porcentaje menor en las mujeres de la zona urbana del Cañar (casi 3 veces menor), con respecto a las mujeres indígenas de la zona rural. En estudios realizados en diferentes países latinoamericanos y a escala global, se ha demostrado que el genotipo más frecuente es el VPH 16, en todos los grupos etarios, tanto en mujeres con citología negativa (122) como en las que presentan lesiones cervicales de diferente grado o CaCU (186).

Los genotipos que se han detectado más frecuentemente después del VPH 16, han sido diferentes en cada área geográfica y en cada grupo etario. En esta investigación, de forma general, y en particular en las mujeres de la zona urbana, los genotipos oncogénicos más frecuentes fueron 31, 58, 66 y 59, mientras que el genotipo 61 fue el VPH-BR más común. En el caso de las mujeres indígenas de la zona rural, los VPH-AR más frecuentes después del VPH 31, fueron el 16, 58 y el 66, mientras que el 84 fue el más frecuente de los VPH-BR.

Los patrones de circulación viral pueden variar, por ejemplo, en estudios realizados en Brasil, los genotipos 56 y 39, siguen en frecuencia al 16 (186). En Asia, particularmente en China, los genotipos 52, 33 y 81 se presentan más comúnmente después del 16 (187, 188). En México, según los estudios más recientes, los genotipos más frecuentes son VPH 58, 31, 18, 70 y 35 (189). En Cuba, según un artículo publicado por Guilarte et al. en el 2020, los genotipos pueden variar su circulación entre las regiones occidental, central y oriental del país, aunque el más frecuente es el VPH 16 en toda la isla (190). Estos resultados y otros en todo el mundo, demuestran la particularidad en la circulación del VPH, por países o regiones geográficas (186- 189).

En un estudio piloto con 71 casos de mujeres ecuatorianas con lesiones cervicales, se evidenció que el 43,7% de la población resultó positiva para el VPH. Se reportaron, además, frecuencias de prevalencia de VPH de 37,5%, 44,8% y 60%

en pacientes con cervicitis crónica, NIC 1, NIC 2 y NIC 3, respectivamente. Los tipos de VPH más frecuentes fueron el 16 (64,5%) y el 81 (29%) seguidos por el 31, 53, 56 y 58 (191).

En el 2009, una investigación en la provincia de Santa Elena demostró una alta circulación del VPH en mujeres (24,2%), detectándose un mayor porcentaje de los genotipos de VPH-AR (16, 52, 58, 59) y VPH-BR (62, 71, 72 y 83) (182). En ese mismo año, González y Sánchez analizaron 127 mujeres mestizas de la ciudad de Quito, encontrando una prevalencia de VPH del 67%. Los genotipos de alto riesgo más frecuentes fueron el 16 y el 31 (176).

Una investigación realizada en el 2016 por Mejía et al. en mujeres de Quito identificó como genotipos más prevalentes en las lesiones cervicales al VPH 16 (42%) seguido del VPH 58 (31%). Corresponde señalar, que el VPH 18 fue encontrado solamente en el 2,4% de los casos (22). Sin embargo, observaciones realizadas por diferentes investigadores en la región sur del Ecuador entre el 2014 y 2017, si bien presentan un perfil de genotipos similar al trabajo anterior, el VPH 18 aparece con una frecuencia relativamente más alta, en especial en las muestras con lesiones cervicales precancerosas y cancerosas (55, 192).

El hecho de que, en las mujeres cañaris estudiadas, predominarán los genotipos oncogénicos y en frecuencias tan elevadas, por encima de la mayoría de los datos publicados en la región, constituye una alarma para las autoridades de salud del Ecuador. Dichos hallazgos conducen a prestar particular atención a este grupo de mujeres, las que, además, no asisten habitualmente a la realización de la prueba citológica y no cuentan con programas adecuados para la prevención y control del CaCU y de las ITS.

En esta investigación resulta entonces relevante definir los genotipos de VPH detectados en las mujeres con alteraciones citológicas. Este hallazgo es un punto de partida para el análisis particular de estos casos y su seguimiento.

INFECCIÓN CON VPH EN LAS MUJERES ESTUDIADAS QUE PRESENTAN ALTERACIONES EN LA PRUEBA DE PAPANICOLAOU

Las 22 mujeres en las que se identificó algún tipo de lesión citológica tenían infección por VPH. En la Tabla 8 se muestra la distribución de los genotipos más frecuentes identificados en el presente estudio, según el diagnóstico citológico de las mujeres cañaris analizadas.

Tabla 8. Distribución de los genotipos más frecuentes identificados en el presente estudio, según el diagnóstico citológico del total de mujeres cañaris examinadas.

Genotipos Detectados en el total de mujeres examinadas	Diagnóstico citológico en el total de mujeres examinadas	Casos positivos por lesión n (%)	Casos positivos por genotipo para cada lesión n (%)
VPH 16 (n=11)	ASC-US (N=6)	4 (66,7)	36,4
VPH 18 (n=4)		2 (33,4)	50
VPH 31 (n=43)		5 (83,4)	11,2
VPH 58 (n=28)		3 (50)	10,7
VPH 59 (n=14)		1 (16,7)	7,1
VPH 66 (n=21)		1 (16,7)	4,8
INF. MULT (n=43)		5 (83,4)	11,5
VPH 16 (n=11)	LSIL (N=12)	5 (41,7)	45,5
VPH 18 (n=4)		1 (8,3)	25
VPH 31 (n=43)		7 (58,3)	16,8
VPH 58 (n=28)		5 (41,7)	17,9
VPH 59 (n=14)		3 (25)	21,4
VPH 66 (n=21)		2 (16,7)	9,5
INF. MULT (n=43)		9 (75)	20,9

VPH 16 (n=11)		3 (75)	27,3
VPH 18 (n=4)		1 (25)	25
VPH 31 (n=43)		1 (25)	2,3
VPH 58 (n=28)	HSIL (N=4)	0 (0)	0
VPH 59 (n=14)		0 (0)	0
VPH 66 (n=21) INF.		0 (0)	0
MULT (n=43)		4 (100)	9,3

Nota: VPH: Virus del Papiloma Humano, VPH-AR: Virus del Papiloma Humano de alto riesgo oncogénico, INF. MULT: Infecciones múltiples, ASC-US: células escamosas atípicas de significado indeterminado; LSIL: lesión escamosa intraepitelial de bajo grado; HSIL: lesión escamosa intraepitelial de alto grado. Fuente: Resultados de la citología y de la investigación de laboratorio.

Como se muestra en la Tabla 8, se analizaron solamente los genotipos de VPH más frecuentes en las mujeres objeto de estudio, incluyendo los VPH 16 y 18 por su demostrada asociación con el CaCU (55). La suma de los porcentajes por columnas no es 100% porque una paciente con lesión intraepitelial cervical puede estar infectada con más de un genotipo, independientemente del grado de la lesión. Los genotipos detectados en mayor proporción se relacionaron con cada una de las lesiones diagnosticadas, para sugerir su posible implicación en la población objeto de estudio.

Este análisis evidencia que en las lesiones de bajo grado (LSIL), predominaron los genotipos 31, 16 y 58, sin embargo, en los casos con HSIL se observó un predominio del VPH 16. En estas lesiones de alto grado el VPH 16 parece estar asociado de forma más directa, representado por el 75% de los casos. En las lesiones atípicas de significado indeterminado (ASC-US), los genotipos 16 y 31 tuvieron un comportamiento similar a las LSIL, pero el VPH 18 parece estar más relacionado, con este tipo de lesión al comparar con su incidencia en otras lesiones, a pesar del pequeño número de muestras positivas a este genotipo.

En 2017, Dalgo Aguilar et al. realizaron un análisis similar en un grupo de 431 mujeres del sur de Ecuador, quienes fueron seleccionadas por los resultados

positivos de la citología. Dichas mujeres pertenecían a las provincias de Loja, Zamora y El Oro. En ellas se identificaron mayoritariamente genotipos oncogénicos de VPH. Predominaron los tipos 16 en las diagnosticadas con HSIL y 18 en las ASC-US, en las cuales se identificó el VPH 16 en el 62,5% y VPH 18 en el 32,9% de los casos, respectivamente (55).

Teniendo en cuenta que el número de mujeres estudiadas en esta investigación es pequeño es consecuente que la cantidad de casos identificados con alguna alteración citológica, sea también pequeño. Sin embargo, cuando se analizaron los genotipos identificados en cada uno de los diagnósticos citológicos, se puede asociar la presencia de los VPH 16 y 18, en la aparición de las lesiones, fundamentalmente en las HSIL y ASC-US; aun sin ser los genotipos virales más frecuentes en el estudio. También, se corrobora como las infecciones múltiples, a pesar de identificarse en un elevado porcentaje del total de mujeres estudiadas, son menos frecuentes a medida que aumenta el grado de las lesiones.

Como ya se ha planteado en numerosos estudios, las infecciones múltiples suelen ser muy comunes, especialmente en las mujeres más jóvenes, en el pico de su actividad sexual (193-195). Aspecto que se ha evidenciado en investigaciones con métodos de genotipado amplio, lo cual dificulta conocer la contribución de los genotipos individuales a los diferentes estadios de las lesiones precursoras del cáncer cervical. Esta dificultad se ha abordado por algunos investigadores, atribuyendo la contribución de cada genotipo o combinaciones de genotipos específicos, al desarrollo de las lesiones de forma jerárquica, basándose en la prevalencia definida para cada genotipo en el CaCU. Wentzensen et al., detectaron una amplia gama de genotipos presentes en cada tipo de lesión citológica y su potencial contribución a cada una de las etapas del CaCU. De esta manera establecieron una nomenclatura para determinadas combinaciones de genotipos que se presentan coinfectando y que pueden contribuir de manera jerárquica, aunque no sinérgica, al desarrollo del CaCU (196). Por ejemplo, definieron que en coinfecciones donde están presentes los VPH 16 y 18, existe un riesgo superior para desarrollar CaCU, esta combinación ocuparía el primer nivel jerárquico. De la misma

forma, coinfecciones con VPH 31, 33, 35 y 39, ocuparían el segundo nivel jerárquico con respecto al riesgo para desarrollar CaCU (196).

Por su parte, deBrot et al. en el 2017 plantearon, según un meta-análisis realizado a partir de una investigación mundial en 15 áreas geográficas diferentes, que la prevalencia de infecciones múltiples por VPH pudo alcanzar hasta un 46%. También describen la asociación entre dichas infecciones múltiples y las alteraciones citológicas, hasta la presencia de lesiones intraepiteliales cervicales de alto grado. Dichas coinfecciones se pudieron relacionar con una probabilidad cinco veces mayor para desarrollar fallo a las radioterapias, en mujeres con CaCU.

El riesgo incrementado para desarrollar CaCU y lesiones precursoras en mujeres con infecciones múltiples por VPH, según estos autores, pudiera compararse con la suma de los riesgos individuales adjudicados a cada genotipo de alto riesgo, sin embargo, no existen evidencias de interacciones sinérgicas entre los mismos. También analizaron los factores de riesgo que predisponen para la adquisición de infecciones múltiples. No obstante, se requiere profundizar en estas investigaciones pues los estudios realizados en mujeres de diferentes regiones del mundo, sugieren que los factores de riesgo para las infecciones múltiples pueden ser diferentes de los que se observan para infecciones con genotipos individuales particulares, pero las diferencias no han sido significativas. Por ejemplo, el elevado número de parejas sexuales y el no uso del condón se observan con mayor frecuencia en mujeres con infecciones múltiples con genotipos de alto riesgo, con respecto a infecciones simples con genotipos de bajo riesgo (197).

El mecanismo, desde el punto de vista biológico, que desempeñan las infecciones múltiples en el desarrollo del CaCU, aún no ha sido dilucidado. Según Salazar et al., algunas investigaciones concluyen que las infecciones múltiples actúan sinérgicamente en la evolución de la carcinogénesis cervical. Controversialmente, otras investigaciones han mostrado que las coinfecciones no tienen ningún efecto sinérgico o aditivo en el desarrollo del cáncer cervical o en el incremento del riesgo de padecer lesiones cervicales de alto grado, cuando se comparan con infecciones simples (198). Los hallazgos descritos por Sobota et al. publicados en 2018, son hasta

el momento, los más concluyentes al demostrar, mediante diferentes estudios de cohorte, que pueden existir interacciones competitivas o cooperativas entre diferentes genotipos de VPH en las coinfecciones. Particularmente se plantea que las coinfecciones con genotipos de VPH de la misma especie taxonómica pueden reducir la progresión de las lesiones cervicales de alto grado, mientras que la coinfección con genotipos de diferentes especies, no confiere protección a la progresión tumoral, en lesiones de alto grado. Según estos autores, el curso de estos eventos está dado por una respuesta inmune, diferente en cada caso (199).

Hasta el momento, las consecuencias e implicaciones biológicas de las infecciones múltiples todavía son debatidas y no concluyentes. Cada una de las teorías propuestas para esclarecer el efecto biológico de las coinfecciones por VPH en las células cervicales, se sustenta en evidencias de estudios poblacionales. Sin embargo, no existen investigaciones básicas que demuestren, desde el punto vista molecular y celular, las hipótesis propuestas por un sinnúmero de investigadores (196, 197, 200, 201). Obviamente, esto se debe a las limitaciones para realizar estudios *in vitro*, por la incapacidad del VPH para replicarse en cultivos celulares, aunque se están desarrollando investigaciones para lograr este objetivo (202). Aunque el papel de las infecciones múltiples es muy debatido en mujeres con lesiones premalignas, se ha encontrado que el número de genotipos detectados disminuye con la severidad de las lesiones (200, 201). Aspecto, que, a pesar del pequeño número de casos con lesiones citológicas, también se pudo evidenciar en el presente estudio.

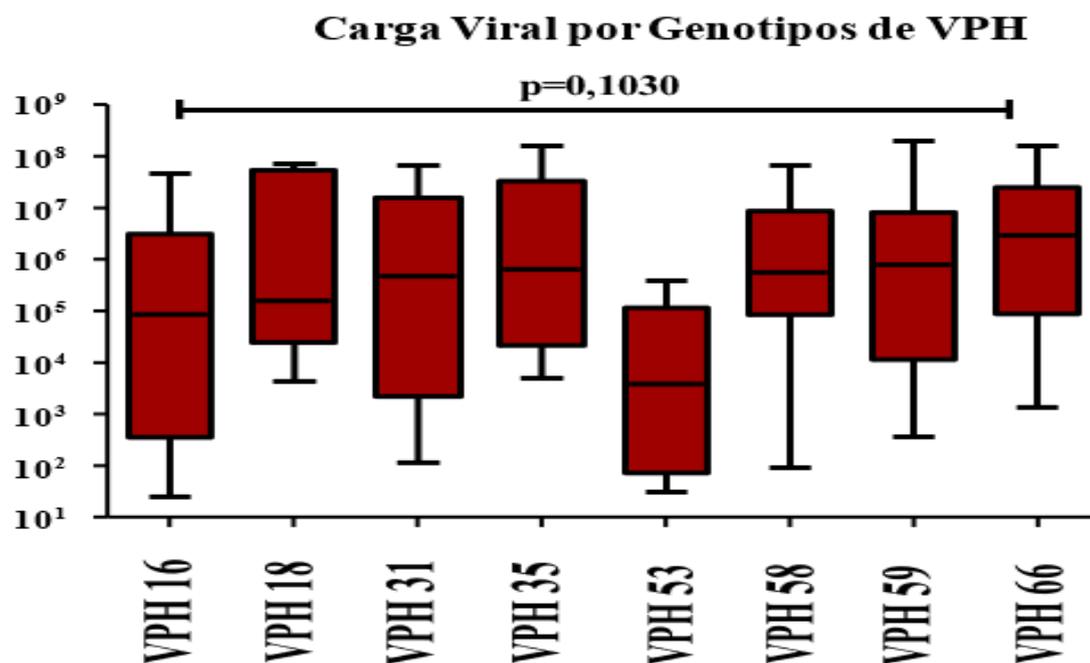
Otro elemento de interés que algunos estudios proporcionan es que las mujeres con infecciones múltiples por VPH tienen un riesgo mayor de desarrollar lesiones precursoras del CaCU, particularmente en los casos donde se detectaron genotipos que a la vez tienen cargas virales elevadas, superiores a 10³ copias/mL, en lesiones de bajo grado y entre 10⁵ y 10⁷ copias/mL, en lesiones de alto grado y carcinoma *in situ* (203).

De acuerdo a estos planteamientos, esta investigación se enfocó en el análisis del posible significado de la carga viral de los genotipos oncogénicos más frecuentes, tanto en el total de mujeres analizadas, como en los casos con citologías positivas.

Carga viral de los genotipos de VPH más frecuentes en mujeres del Cañar

Los genotipos más frecuentes en la población estudiada en la presente investigación fueron los VPH-AR y el valor de sus cargas virales en las mujeres cañaris puede observarse en la Figura 20.

Figura 20. Carga viral de los genotipos del Virus del Papiloma Humano de alto riesgo oncogénico en mujeres del Cañar.



Nota: Se compararon las medianas de las cargas virales de los genotipos de alto riesgo más frecuentes.

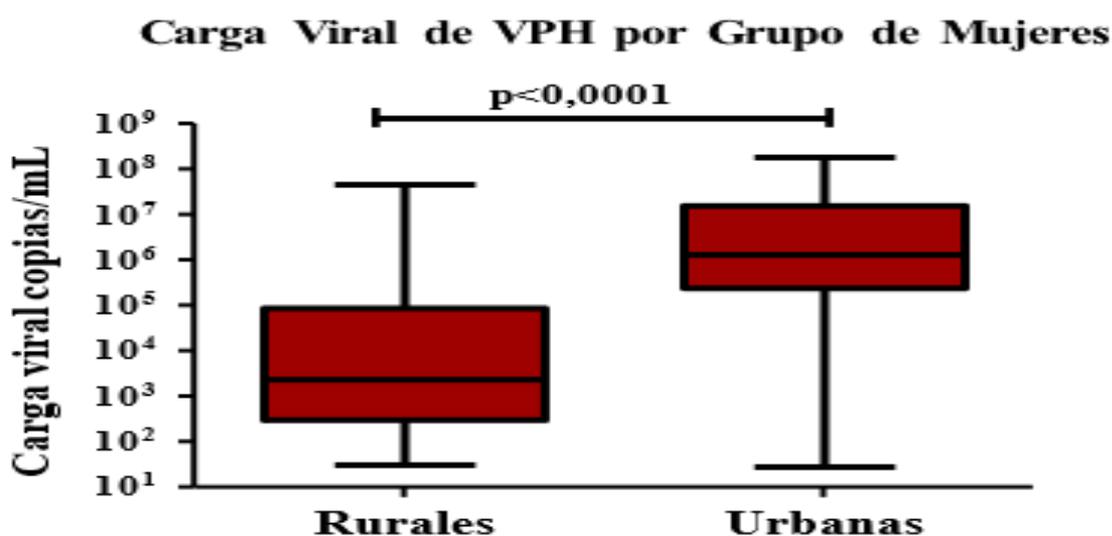
Investigaciones realizadas en diferentes áreas geográficas, evidencian la relación entre los valores de la carga viral de los VPH-AR y la evolución de la infección en correspondencia con el genotipo infectante y el grado de las lesiones (155, 204).

Como se observa en la Figura 20, en el total de mujeres infectadas, las medianas de las cargas virales fueron elevadas, por encima de 103 copias/mL, para todos los genotipos que se presentaron más frecuentemente en los casos positivos. Aunque no se observaron diferencias significativas desde el punto de vista estadístico, se evidenció que el VPH 53 fue el de menores valores de carga viral, mientras que entre el resto de los genotipos se obtuvieron diferencias iguales o menores de un logaritmo de base 10.

La carga viral pudiera considerarse como un parámetro para definir la evolución de la infección y como un marcador de progresión y severidad en el desarrollo de las mismas, lo cual aporta un criterio con valor pronóstico para el CaCU (205). Los resultados obtenidos en la presente investigación indican que las mujeres infectadas con los genotipos oncogénicos analizados pudieran tener una alta probabilidad de desarrollar infecciones persistentes y lesiones precursoras del CaCU.

Cuando se investigaron las diferencias entre las cargas virales de VPH en las mujeres residentes en la zona rural y la zona urbana, se evidenció que existieron diferencias entre ambos grupos, como se aprecia en la Figura 21.

Figura 21. Carga viral de los genotipos del Virus del Papiloma Humano de alto riesgo oncogénico más frecuentes en mujeres residentes en la zona rural y urbana del Cañar.



Nota: Se compararon las medianas de las cargas virales totales entre ambos grupos de mujeres.

Como se puede observar en la Figura 21, la mediana de la carga viral total de VPH para los genotipos analizados, fue superior en las mujeres residentes en la zona urbana, con respecto a las residentes en la zona rural.

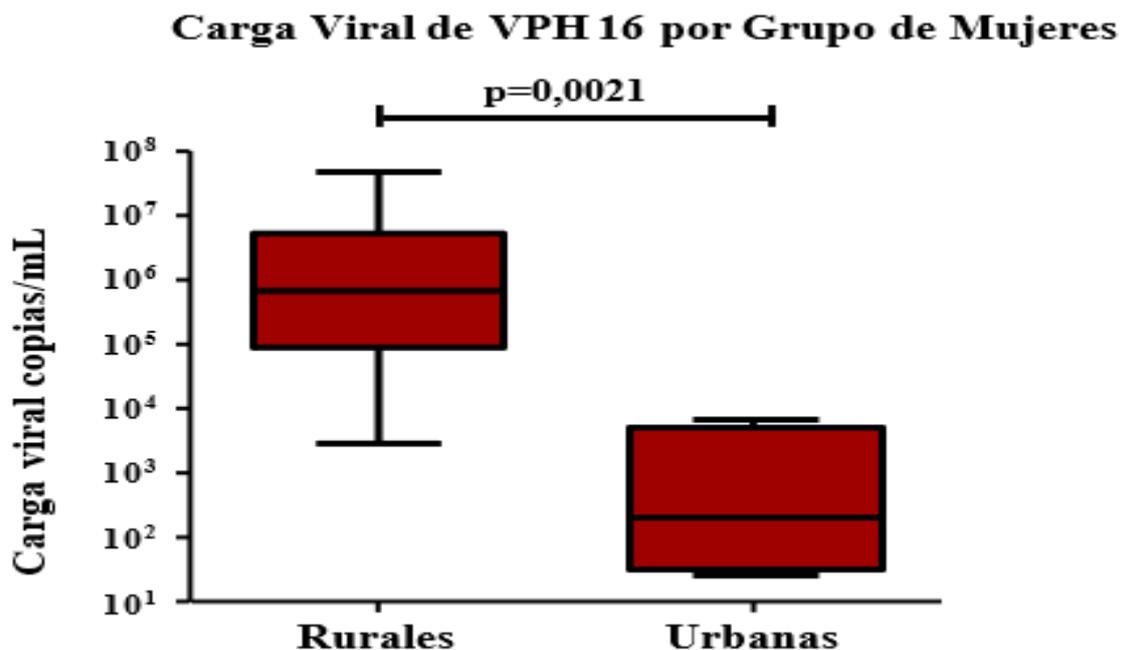
Las diferencias entre las medianas de las cargas virales, en los dos grupos de mujeres fueron altamente significativas, y aunque en las mujeres de la zona rural el valor sobrepasó las 103 copias/mL, en las de la zona urbana alcanzaron valores muy

superiores, hasta 107 copias/mL, de ahí las diferencias estadísticas ($p < 0,0001$). Este aspecto debe tenerse en cuenta para el seguimiento de las mujeres, por al menos seis meses a un año, sobre todo las que mostraron cargas virales más elevadas, debido a la probable relación entre el incremento de la carga viral de VPH-AR y el desarrollo de lesiones precursoras de CaCU de rápida evolución (155).

Particularmente, hubo genotipos de VPH-AR, donde se evidenciaron las mayores diferencias entre las cargas virales. Este análisis es esencial, principalmente por el hecho de que la frecuencia de las alteraciones citológicas también mostró diferencias entre ambos grupos de mujeres.

En la Figura 22 se observan las diferencias en las medianas de la carga de VPH 16 entre las mujeres residentes en la zona rural y urbana de la provincia del Cañar.

Figura 22. Carga viral del Virus del Papiloma Humano tipo 16 en mujeres residentes en la zona rural y urbana del Cañar.



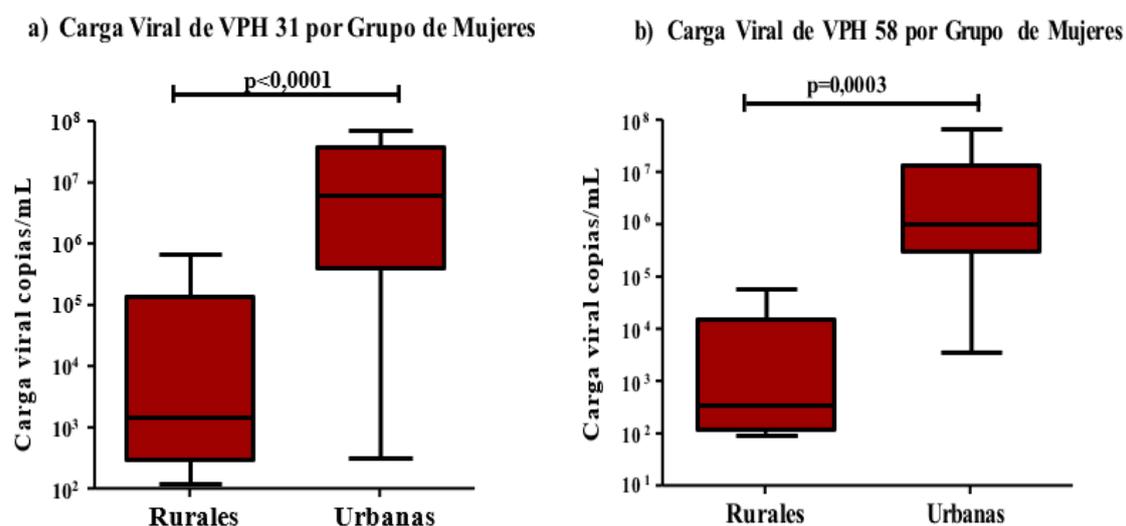
Nota: Se compararon las medianas de las cargas virales del genotipo 16 entre ambos grupos de mujeres.

En la Figura 22 se demuestra que la carga viral de VPH 16 en las mujeres de la zona rural fue significativamente superior con respecto a las mujeres de la zona urbana. Incluso, en las de la zona urbana, el valor solo superó ligeramente las 103

copias/mL, valor que se considera como umbral para definir daño celular con relevancia clínica (155). Sin embargo, en las mujeres de la zona rural, en las que las cargas virales tuvieron valores máximos superiores a 10^7 copias/mL, se pudiera esperar una evolución de la infección hacia lesiones de alto grado o CaCU, en un período de tres años (155, 204).

Otros genotipos mostraron un comportamiento diferente al del VPH 16 en ambos grupos de mujeres, como se observa en la Figura 23 (a y b). Para los VPH 31 y 58, el valor de la mediana de las cargas virales fue significativamente superior en las mujeres de la zona urbana.

Figura 23. Carga viral del Virus del Papiloma Humano tipos 32 y 58



Nota: (a) tipo 31 y (b) tipo 58 en mujeres residentes en la zona rural y urbana del Cañar. Se compararon las medianas de las cargas virales de los dos genotipos entre ambos grupos de mujeres.

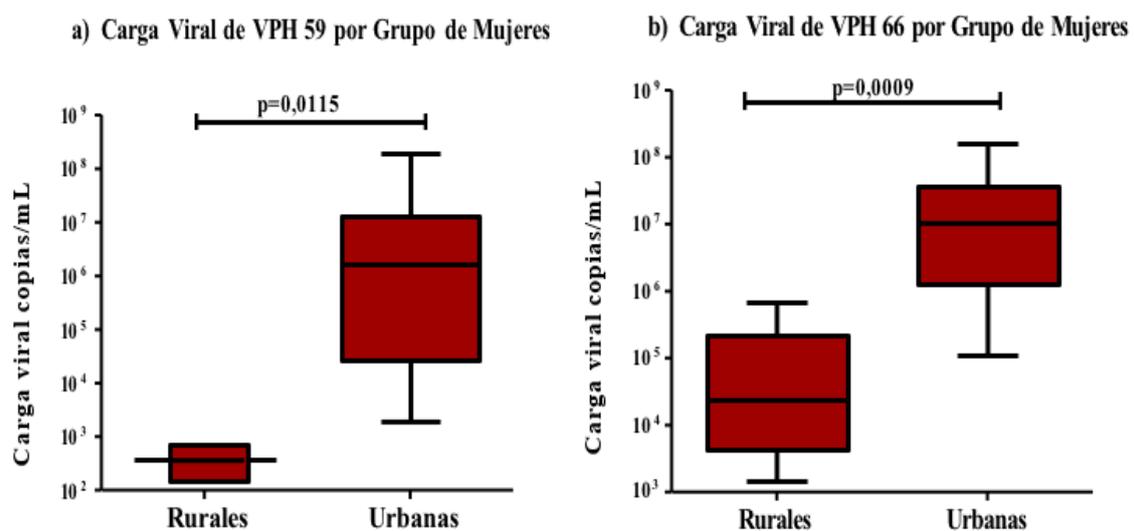
Los VPH 31 y 58 fueron los más frecuentes en el estudio, para las mujeres residentes en ambas zonas. También fueron los más representativos en los casos con citología positiva que, particularmente, fueron superiores en las mujeres de la zona urbana.

Este análisis demuestra que las cargas virales para ambos genotipos fueron notablemente elevadas en las mujeres de la zona urbana, entre 10^6 y 10^7

copias/mL, aspecto que pudiera significar un riesgo incrementado para que esta población desarrolle CaCU en un período entre tres y cinco años (155, 204).

En el caso de los VPH 59 y 66, que fueron los segundos más frecuentes, también las cargas virales en las mujeres de la zona urbana fueron significativamente superiores, como se observa en la Figura 24 (a y b), respectivamente. Este análisis también demuestra que las cargas virales para ambos genotipos fueron significativamente elevadas en las mujeres urbanas, entre 10⁶ y 10⁷ copias/mL, destacando a los genotipos 59 y 66 como un posible factor de riesgo para el desarrollo del CaCU en las mujeres estudiadas, sobre todo, en las que residen en la zona urbana.

Figura 24. Carga viral del Virus del Papiloma Humano tipos 59 y 66



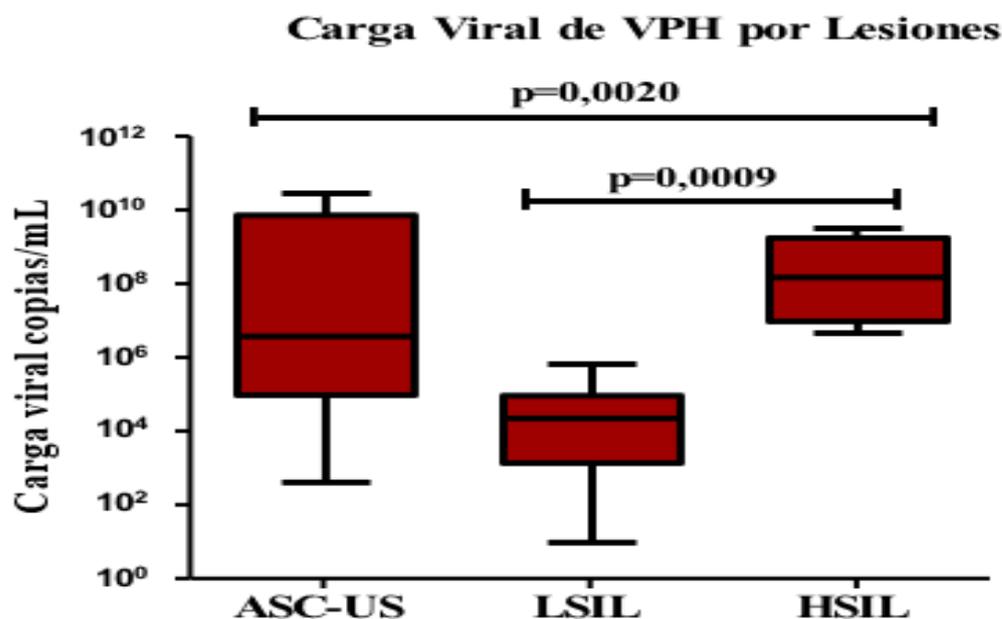
Nota: (a) tipo 59 y (b) tipo 66 en mujeres residentes en la zona rural y urbana del Cañar. Se compararon las medianas de las cargas virales de los dos genotipos entre ambos grupos de mujeres.

Para el VPH 35 no fue posible realizar la comparación de las cargas virales entre los dos grupos de mujeres porque solo circuló en las residentes en la zona urbana, mientras que los genotipos 18 y 53 no mostraron diferencias en los valores de carga viral entre ambos grupos. Sin embargo, como se observó previamente, ambos tipos virales mostraron valores generales de carga viral muy elevados, con máximos entre 10⁷ y 10⁸ copias/mL.

Numerosos estudios demuestran que la carga viral tiene un significado biológico en el desarrollo de las lesiones precursoras y del CaCU, lo que determina que este marcador pudiera tener un valor diagnóstico y predictivo de la enfermedad (204-206).

Al analizar las diferencias entre las medianas de las cargas virales de VPH en las mujeres con lesiones citológicas residentes en la provincia de Cañar, se observaron diferencias, con respecto a los diagnósticos citológicos, como se muestra en la Figura 25. En esta investigación, todos los casos con lesiones tuvieron cargas virales significativamente superiores, cuando se compararon con las mujeres con citologías negativas ($p < 0,05$).

Figura 25. Carga viral del Virus del Papiloma Humano por lesiones en mujeres residentes de la provincia Cañar.



Nota: Se compararon las medianas de las cargas virales con respecto al diagnóstico citológico.

La Figura 25 demuestra que, entre todos los casos con lesiones, la carga viral fue significativamente diferente ($p=0,0020$). Particularmente estas diferencias, altamente significativas, fueron a expensas de dos tipos de lesiones, las LSIL con respecto a las HSIL ($p=0,0009$).

En una investigación publicada recientemente en el año 2020, sobre un estudio realizado en mujeres mexicanas, los autores llevaron a cabo un seguimiento a los 6 y 12 meses, posterior al diagnóstico por citología y al genotipado viral, para definir el valor de la carga viral en pacientes con diferentes diagnósticos citológicos. El 38% de los casos desarrollaron infecciones persistentes con VPH 16, 18 y 39, fundamentalmente como infecciones múltiples, donde los valores de carga viral de estos genotipos fueron superiores a 105 copias/mL. Particularmente la carga viral del VPH 16 fue superior a 105 copias/mL y se asoció con lesiones cervicales LSIL y HSIL. Las mujeres con citología normal tuvieron cargas virales para VPH 16 inferiores a las que tenían LSIL (204).

Este fenómeno se ha descrito en otras investigaciones y pudiera ser un indicador de replicación viral activa durante los eventos que se producen en las lesiones de bajo grado, que, al propiciar la persistencia viral, favorecen también los eventos de integración. De ahí, la observación de que las cargas virales decrecen un poco en las HSIL y vuelven a ser elevadas en las etapas de carcinogénesis. Estos elementos sustentan el concepto de que en el proceso de la carcinogénesis cervical inicialmente las cargas virales elevadas incrementan la probabilidad de integración y posteriormente ocurre un fenómeno de selección clonal de células con genoma de HPV-AR integrado en múltiples copias, que progresan al cáncer (206).

En un estudio publicado en abril del año 2020 por Kim et al., se plantean evidencias sobre la utilidad de la carga viral genotipo-específica y el estado de integración de los VPH 16, 18 y 58 como biomarcadores diagnósticos de las lesiones intraepiteliales cervicales de alto grado y el CaCU. Estos autores analizaron las cargas virales de los genes E6 y E2 en 240 muestras cervicales de mujeres positivas a VPH 16, 83 positivas a VPH 18 y 79 infectadas con VPH 58. Las cargas virales totales e integradas al genoma de las células cervicales se compararon en casos con diagnóstico citológico de HSIL o carcinoma in situ contra los controles con citología negativa.

El estudio demostró que el valor de la carga viral total o integrada, de los tres genotipos se incrementaba con la severidad de la lesión, evidenciando su alta asociación con las HSIL/Carcinoma in situ. Los investigadores pudieron concluir que la carga viral de los genotipos de alto riesgo oncogénico estudiados constituye un potente biomarcador para confirmar el diagnóstico citológico (207). Esta conclusión se basó en el hecho de que los autores utilizaron el número de copias de ADN de VPH por célula, como una expresión de la carga viral. Además, emplearon el criterio del estado de integración del genoma viral a la célula cervical. Dichos autores sugieren que la normalización de la carga viral con respecto al ADN de un control interno, como la beta globina humana, puede producir resultados fiables y reproducibles para aplicaciones clínicas (207).

Los resultados de la presente investigación no tuvieron en cuenta el criterio de la cuantificación del ADN integrado, sin embargo, se consideraron los valores de carga viral para cada genotipo, de acuerdo al valor clínico que establece el estuche comercial HPV Genotypes 14 Real-TM Quant (Sacace Biotechnologies Srl, Italia, REF V67-100FRT). Estos valores definieron, según el sistema de detección utilizado en el presente estudio, que los valores iguales o superiores a 103 copias/mL indican que pudiera existir un riesgo, en dependencia de la carga viral, para desarrollar lesiones precursoras o CaCU.

Clínicamente, es muy importante predecir el riesgo de progresión de la lesión citológica, considerando que una gran proporción de casos de neoplasia intraepitelial cervical retroceden espontáneamente. Se necesitan estudios longitudinales que investiguen tanto la carga viral como el estado físico del VPH para evaluar su utilidad en la predicción del riesgo de CaCU (207). En el presente estudio se evaluaron las cargas virales de los genotipos individuales, aun cuando gran parte de las mujeres tuvieron frecuencias elevadas de infecciones múltiples. Es muy difícil definir el efecto de la carga viral en los casos con infecciones múltiples, pues como se discutió anteriormente no se ha podido dilucidar si el efecto de varios genotipos de VPH es aditivo, sinérgico o individual en los casos con coinfecciones (196, 197, 200, 201).

No obstante, se reporta que las infecciones múltiples con VPH-AR se comportan de forma similar a las infecciones simples. Este hallazgo se evidenció en una investigación realizada por Wu et al. en 2017, cuando analizaron la relación entre la carga viral de VPH 16, 18 y un grupo de otros 12 tipos de HPV-AR y las lesiones con diferentes grados histológicos, en el desarrollo del CaCU. Para ello realizaron un estudio de corte transversal en cinco centros médicos de China. Utilizaron la prueba de PCR en tiempo real totalmente automatizada Cobas® 4800 HPV Test (Roche Molecular Systems, Pleasanton, CA, EE. UU) para la medición de la carga viral de VPH 16, 18, de un grupo de otros 12 tipos de alto riesgo y del gen de la beta globina humana. Incluyeron un total de 2 513 mujeres (1 341 con citologías normales, 209 con LSIL, 392 con HSIL, 520 con carcinomas de células escamosas y 51 con adenocarcinomas).

Los autores encontraron un aumento lineal en la carga viral total de los 14 tipos de VPH investigados, con respecto al grado histológico de las lesiones. La carga viral del grupo de 12 VPH-AR fue inferior en las citologías normales, alcanzó su punto máximo en las LSIL y HSIL, pero disminuyó en los carcinomas. En la coinfección VPH 16 y VPH 18, la carga viral de VPH 16 fue significativamente mayor que la de VPH 18 en LSIL y HSIL. En la coinfección de VPH 16 y el grupo de 12 VPH-AR, se observó una mayor carga viral de VPH 16 en los carcinomas. La carga viral de VPH 16 aumentó con el grado de lesión cervical y fue significativamente superior en los casos con CaCU (208).

Los resultados expuestos en la literatura y en el presente trabajo indican que la carga viral total específica y genotipo pudieran ser un biomarcador de diagnóstico útil para las lesiones precursoras del CaCU, al menos en mujeres infectadas con los VPH-AR más frecuentes. Estos hallazgos pueden ayudar a aumentar la precisión diagnóstica de las pruebas moleculares de VPH, lo que conllevaría a un cambio de estrategia en el manejo clínico de las anomalías citológicas y en la detección precoz del CaCU (208).

El análisis de factores virales como los genotipos circulantes, las coinfecciones y la carga viral, entre otros, permite contar con información esencial para caracterizar

el curso de las infecciones por VPH-AR y la probable evolución hacia lesiones cervicales alto grado o cáncer. Sin embargo, la infección viral y la carcinogénesis inducida por estos virus son fenómenos multifactoriales, que no solo dependen de factores virales, sino también de un conjunto de variables que son particulares para cada población y área geográfica. Dentro de estos factores comúnmente se estudian variables sociales, culturales, demográficas, clínicas y epidemiológicas que pueden estar asociadas a la infección y a la presencia y evolución de lesiones intraepiteliales cervicales (209).

VARIABLES SOCIODEMOGRÁFICAS, CLÍNICAS Y EPIDEMIOLÓGICAS ASOCIADAS A LA INFECCIÓN CON EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

La infección por VPH y el desarrollo de lesiones precursoras y CaCU no son eventos aislados, sino que son el resultado de un conjunto de factores sociodemográficos, epidemiológicos, genéticos y medioambientales. Es por ello que la mayoría de las investigaciones de corte epidemiológico centran sus objetivos en estimar el impacto de las variables o factores de riesgo que pueden influir sobre la adquisición de la infección y el fenómeno de la persistencia viral, como condición necesaria para el desarrollo del CaCU.

En la Tabla 9 se presentan las variables que resultaron asociadas a la infección por VPH en el total de mujeres cañaris estudiadas. Se observaron diferencias significativas en la frecuencia de infección entre las mujeres indígenas residentes en la zona rural y las mestizas que residían en la zona urbana, y el riesgo de infección fue mayor en estas últimas. La frecuencia de infección fue mayor en las mujeres entre los 20 y 30 años, mientras que se observó una disminución de la misma en las de 51 a 55 años, (Tabla 9).

El riesgo de infección se incrementó en las mujeres solteras, en las que tuvieron la menarquia antes de los 14 años y en las que refirieron antecedentes de ITS. Las mujeres que refirieron tener el hábito de fumar tuvieron una probabilidad cinco veces mayor de estar infectadas con VPH. Los procesos inflamatorios moderados y severos en la mucosa cérvico-vaginal constituyeron variables asociadas a la infección viral, al igual que síntomas ginecológicos patológicos como la leucorrea.

Las mujeres que refirieron el uso de anticonceptivos hormonales mostraron un riesgo incrementado de estar infectadas con VPH (Tabla 9).

El comportamiento de estas variables en el total de las mujeres estudiadas pudiera variar según las particularidades de cada grupo. Por lo que en las mujeres rurales y urbanas pudieran existir diferencias entre el comportamiento de dichas variables y la infección por VPH, aspecto que fue observado previamente en la frecuencia y circulación de los genotipos virales.

Tabla 9. Variables sociodemográficas, clínicas y epidemiológicas asociadas a la infección con el Virus del Papiloma Humano en mujeres residentes en la provincia de Cañar, Ecuador.

Variable	Grupos o rangos	Totales N=200 (n=%)	Positivo a VPH N=85		Valor de p	OR (IC _{95%})
			n	%		
Procedencia	Rural	100	34	40	0,011	2,02
	Urbana	100	51	60		(1,14-3,57)
Etnia indígena Quechua	Si	100	31	36,5	0,010	0,49 (0,28-0,87)
						0,42 (0,35-0,49)
Edad en años	<20	3	3	3,5	0,075	2,08 (1,09-3,97)
	20-30	50	28	32,9	0,020	1,37
	31-40	54	26	30,6	0,205	(0,73-0,27)
	41-50	61	23	27,1	0,226	0,75
	51-55	32	5	5,9	0,000	(0,41-1,39)
Situación ocupacional	Estudiante	14	9	10,6	0,070	2,60 (0,84-8,08)
	Ama de Casa	74	27	31,8	0,121	0,67
	Agricultora	67	24	28,2	0,114	(0,37-1,21)
	Obrera	32	16	18,8	0,229	
	Profesional	13	9	10,6	0,043	

						0,66
						(0,36-
						1,21)
						1,44
						(0,67-
						3,08)
						3,29
						(1,01-
						11,06)
						0,64
						(0,31-
						1,32)
						0,74
	Analfabeta	41	14	16	0,150	(0,42-
Nivel	Primaria	86	33	38,8	0,189	1,31)
educacional	Secundaria	45	20	23,5	0,447	1,11
	Universitaria	28	18	21,2	0,011	(0,57-
						2,16)
						2,82
						(1,23-
						6,48)
						0,44
						(0,24-
						0,82)
	Casada	138	50	58,8	0,006	5,96
	Soltera	27	21	24,7	0,000	(2,29-
Estado civil	Divorciada	9	4	4,7	0,582	15,54)
	Unión	19	9	10,6	0,414	1,09
	Consensual	7	1	1,2	0,124	(0,28-
	Viuda					4,17)
						1,24
						(0,48-
						3,21)

						0,22 (0,02- 1,83)
						6,47 (1,87- 22,40)
Edad de la menarquia en años	≤14	185	82	96,5	0,001	0,16 (0,05- 0,54)
	≥15	25	3	3,5	0,001	0,167 (0,77- 3,65)
Número de embarazos	0-1	30	16	18,8	0,136	1,61 (0,91- 2,83)
	2-3	97	47	55,3	0,065	0,44 (0,24- 0,81)
	≥4	73	22	25,9	0,005	1,66 (0,82- 3,37)
Número de partos	0-1	38	20	23,5	0,111	1,51 (0,86- 2,65)
	2-3	106	50	58,8	0,101	0,39 (0,19- 0,76)
	≥4	56	15	17,6	0,004	2,44 (1,36- 4,37)
Antecedentes de ITS referidos por la paciente	Si	77	43	50,6	0,002	5,26 (2,23-
Hábito de fumar	Si	32	24	28,2	0,000	

						12,43)
Procesos inflamatorios en la citología cérvico-vaginal	Si	97	51	60	0,004	2,25 (1,27-3,99)
						1,29 (0,64-2,58)
Grado de inflamación en mucosa cérvico-vaginal	Leve	40	19	22,0	0,295	2,00
	Moderado	41	23	27,1	0,037	(1,01-4,00)
	Severo	25	15	17,6	0,048	2,25 (1,00-5,29)
Síntomas ginecológicos	Leucorrea	132	65	76,5	0,005	2,33 (1,25-4,34)
Uso de anticonceptivos hormonales	Si	100	51	60	0,011	2,02 (1,14-3,56)
						3,28 (1,19-9,53)
Uso de anticonceptivos hormonales en años	1	19	13	15,3	0,016	1,68
	2-4	54	28	32,9	0,072	(0,90-3,15)
	≥5	27	10	11,8	0,344	0,77 (0,33-1,78)

Fuente: Cuestionario para la recogida de la información

VARIABLES SOCIODEMOGRÁFICAS, CLÍNICAS Y EPIDEMIOLÓGICAS ASOCIADAS A LA INFECCIÓN CON EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN MUJERES INDÍGENAS, RESIDENTES EN LA ZONA RURAL DEL CAÑAR

Al analizar la asociación entre las variables sociodemográficas, clínicas y epidemiológicas y la infección con VPH se observó que las mujeres indígenas entre 20 y 30 años de edad, tenían una probabilidad cinco veces mayor de estar infectadas (44,1%; 15/34) con respecto al resto de las mujeres estudiadas, (Tabla 10).

La frecuencia de infección fue significativamente mayor en mujeres solteras (38,2%; 13/34), en aquellas que refirieron haber tenido de dos a tres embarazos (67,6%; 23/34) e igual número de partos (70,6%; 24/34). La historia de infecciones de transmisión sexual en etapas previas a la investigación (55,9%, 19/34), constituyó una variable asociada a la infección con VPH, (Tabla 10).

Tabla 10. Variables sociodemográficas, clínicas y epidemiológicas asociadas a la infección con el Virus del Papiloma Humano en mujeres indígenas residentes en la zona rural del Cañar.

Variable	Grupos o rangos	Totales N=100 (n=%)	Positivo a VPH N=34 n%	Valor p	OR (IC95%)	
Edad en años	<20	2	2	5,9	0,113	0,33 (0,25-0,43)
	20-30	24	15	44,1	0,001	5,00 (1,88-13,27)
	31-40	27	9	26,5	0,565	0,96 (0,38-2,45)
	41-50	27	5	14,7	0,037	0,35 (0,12-1,01)
	51-55	20	3	8,8	0,036	0,28 (0,08-1,03)
Estado civil	Casada	78	17	50	0,002	0,25 (0,10-0,61)

	Soltera	10	13	38,2	0,000	7,55 (2,41-23,72)
	Divorciada	2	1	3	0,567	0,97 (1,12-32,50)
	Unión Consensual	7	3	8,8	0,445	1,50 (0,32-7,12)
	Viuda	3	0	0	0,283	0,65 (0,56-0,75)
Edad de inicio de las relaciones Sexuales en años	≤ 15	2	1	2,9	0,567	1,97 (0,12-32,50)
	16-20	81	31	91,2	0,051	3,31 (0,89-12,28)
	> 20	17	2	5,9	0,027	0,21 (0,05-0,10)
Número de embarazos	0-1	10	2	5,9	0,271	0,45 (0,09-2,26)
	2-3	45	23	67,6	0,001	4,18 (1,73-10,10)
	≥4	45	9	26,5	0,006	0,30 (0,12-0,74)
Número de partos	0-1	13	3	8,8	0,289	0,54 (0,14-2,12)
	2-3	52	24	70,6	0,010	3,06 (1,27-7,41)
	≥4	35	7	20,6	0,024	0,35 (0,13-0,92)
Antecedentes de ITS referidos por la paciente	Si	42	19	55,9	0,036	2,37 (1,01-5,52)

Fuente: cuestionario para la recogida de la información.

También se observó el efecto protector para adquirir la infección viral con respecto a algunas variables. Particularmente la infección con VPH fue significativamente menor en las mujeres mayores de 40 años, casadas y que comenzaron las relaciones sexuales después de los 20 años de edad. En aquellas mujeres que tuvieron más de cuatro embarazos e igual número de partos se observó una frecuencia de infección viral significativamente menor. Estas fueron aproximadamente nueve mujeres que se encontraban en el grupo etario de más de 40 años, (Tabla 10).

En esta investigación la presencia de infecciones múltiples con varios genotipos de VPH fue significativamente más frecuente en mujeres entre 20 y 30 años, detectándose en el 53,8% (7/13) de los casos; $p=0,013$, $OR=4,80$ $IC95\%$ (1,43-16,15), en las mujeres solteras en el 46,2% (6/13); $p=0,012$, $OR=5,38$ $IC95\%$ (1,54-18,68) y en las que tenían antecedentes de ITS en un 69,2% (9/13); $p=0,034$, $OR=3,68$ $IC95\%$ (1,10-12,91).

Particularmente, la infección con VPH 16 estuvo asociada al uso de anticonceptivos hormonales por más de un año, detectando el virus en el 57,1% (4/7) de los casos; $p=0,005$, $OR=12,44$ $IC95\%$ (2,40-64,62). Este genotipo fue significativamente más frecuente en las mujeres diagnosticadas con procesos inflamatorios en la citología cérvico-vaginal; 57,1% (4/7); $p=0,034$, $OR=5,96$ $IC95\%$ (1,22-29,13).

El genotipo 31, el más frecuente en las mujeres estudiadas, tuvo una prevalencia significativamente superior en las solteras; 50% (7/14), $p=0,003$, $OR=6,82$ $IC95\%$ (2,01-23,19) y en las mujeres entre los 20 y 30 años de edad; 50% (7/14), $p=0,021$, $OR=4,10$ $IC95\%$ (1,25- 13,14).

Variables sociodemográficas, clínicas y epidemiológicas asociadas a la infección con el Virus del Papiloma Humano en mujeres mestizas, residentes en la zona urbana del Cañar

Al analizar la asociación entre las variables sociodemográficas, clínicas y epidemiológicas y la infección con VPH se observó que las mujeres residentes en la

zona urbana, entre 51 y 55 años de edad, tenían una menor probabilidad de estar infectadas (3,9%; 2/51) con respecto al resto de las mujeres estudiadas. No se observaron diferencias entre el resto de los grupos etarios (Tabla 11).

Asimismo, las amas de casa mostraron una probabilidad menor de padecer infección con VPH (31,4%; 16/51), al ser comparadas con el resto de las mujeres residentes en la zona urbana, que formaron parte del estudio y que se dedicaban a diferentes labores fuera del hogar. La frecuencia de infección fue significativamente mayor en las mujeres solteras (15,7%; 8/51), en aquellas que tuvieron la menarquia a los 14 años o antes (98%; 50/51) y en las que refirieron el consumo habitual de cigarrillos (47,1%, 24/51). Los antecedentes de infecciones de transmisión sexual (47,1%, 24/51), estuvieron asociados a la infección con VPH.

Tabla 11. Variables sociodemográficas, clínicas y epidemiológicas asociadas a la infección con el Virus del Papiloma Humano en mujeres residentes en el área urbana de la provincia del Cañar.

Variable	Grupos o rangos	Totales	Positivo a		Valor p	OR (IC95%)
		N=100 (n=%)	VPH N=51 n	%		
Edad en años	<20	1	1	2	0,510	0,55 (0,42-0,61)
	20-30	26	13	25,5	0,543	0,95 (0,39-2,32)
	31-40	27	17	33,3	0,109	1,95 (0,79-4,83)
	41-50	34	18	35,3	0,473	1,13 (0,49-2,58)
	51-55	12	2	3,9	0,011	0,16 (0,03-0,77)
Situación ocupacional	Estudiante	11	7	13,7	0,286	1,79 (0,49-6,55)
	Ama de Casa	42	16	31,4	0,023	0,40 (0,18-0,91)
	Agricultora	9	5	9,8	0,526	1,22 (0,31-4,85)
	Obrera	26	14	27,5	0,457	1,17 (0,48-2,86)
	Profesional	12	9	17,6	0,070	3,29 (0,83-12,96)
Estado civil	Casada	68	33	64,7	0,307	0,73 (0,32-1,71)
	Soltera	9	8	15,7	0,018	8,93 (1,07-
	Divorciada	7	3	5,9	0,477	74,34)

	Unión	12	6	11,8	0,591	0,70 (0,15-3,32)
	Consensual	4	1	2,0	0,294	0,96 (0,27-3,19)
	Viuda					0,31 (0,03-3,05)
Edad de la menarquia en años	≤14	83	50	98	0,000	24,24 (3,07-19,65)
	≥15	17	1	2	0,000	0,04 (0,01-0,33)
Antecedentes de ITS referidos por la paciente	Si	55	24	47,1	0,009	3,07 (1,29-7,31)
Hábito de fumar	Si	32	24	47,1	0,001	4,56 (1,79-11,62)
Procesos inflamatorios en la citología cérvico-vaginal	Si	40	35	68,6	0,001	4,12 (1,79-9,48)
Grado de inflamación en la mucosa cérvico-vaginal	Leve	17	11	21,6	0,341	1,41 (0,51-3,87)
	Moderado	18	15	29,4	0,056	2,5 (0,92-6,81)
	Severo	9	9	17,6	0,030	5,03 (1,03-24,64)
Síntomas ginecológicos	Leucorrea	60	41	80,4	0,000	6,47 (2,64-15,91)
Uso de anticonceptivos hormonales	Si	55	33	64,7	0,037	2,25 (1,01-5,03)

Fuente: cuestionario para la recogida de la información.

Las variables relacionadas con la historia sexual y los datos ginecológicos de las mujeres de la zona urbana también se asociaron con la presencia de infección por VPH. En este sentido se observó que las mujeres a las que se les diagnosticó la presencia de procesos inflamatorios en la mucosa cérvico-vaginal tuvieron una mayor probabilidad de estar infectadas con VPH (68,6%; 35/51). Específicamente,

las que mostraron un patrón inflamatorio severo, tenían una probabilidad cinco veces mayor de presentar la infección viral (17,6%; 9/51). El síntoma ginecológico más frecuente en estas mujeres fue la leucorrea, que además estuvo asociado de manera altamente significativa a la infección viral (80,4%; 41/51), (Tabla 11).

En esta investigación se encontró asociación entre las variables sociodemográficas, clínicas y epidemiológicas y la infección con los genotipos que, de manera particular, fueron los más frecuentes en la población estudiada y también con respecto a la infección por múltiples genotipos.

La presencia de infecciones múltiples con varios genotipos de VPH fue significativamente más frecuente en mujeres que tuvieron la menarquia a los 14 años o antes; 100% (30/30), $p=0,001$, $OR=1,57$ IC95% (1,33-1,84), en las mujeres que refirieron el uso de anticonceptivos hormonales; 70% (21/30), $p=0,039$, $OR=2,47$ IC95% (1,00-6,14), en las que tenían antecedentes de ITS; 50% (15/30); $p=0,035$, $OR=2,5$ IC95% (1,03-6,05) y en aquellas en las que se identificaron procesos inflamatorios severos en la mucosa cérvico-vaginal; 23,3% (7/30); $p=0,016$, $OR=5,02$ IC95% (1,35-18,74).

El genotipo 31, que fue el más frecuente, tuvo una prevalencia significativamente superior en las mujeres que tenían antecedentes de otras ITS; 58,6% (17/29), $p=0,002$, $OR=4,17$ IC95% (1,68- 10,39) y en las que presentaron procesos inflamatorios severos en la mucosa cérvico-vaginal; 24,1% (7/29), $p=0,013$, $OR=5,33$ IC95% (1,42-19,94).

Las mujeres entre los 31 y 40 años tuvieron una probabilidad casi tres veces superior de estar infectadas con VPH 58; 45,5% (10/22), $p=0,029$, $OR=2,99$ IC95% (1,10-8,10). La infección con este genotipo, el segundo más frecuente, fue significativamente superior en las mujeres que se dedicaban a actividades profesionales; 27,3% (6/22), $p=0,022$, $OR=4,5$ IC95% (1,28-15,78). Asimismo, el VPH 58 se asoció de manera significativa a los procesos inflamatorios moderados en la mucosa cervicouterina; 40,9% (9/22), $p=0,020$, $OR=3,46$ IC95% (1,23-9,77) y

a la presencia de leucorrea como síntoma ginecológico; 86,4% (19/22), $p=0,003$, $OR=5,72$ $IC95\%$ (1,56-20,89).

La infección con VPH 66, el VPH-AR que se identificó como el tercero más frecuente, estuvo asociada al uso de anticonceptivos hormonales por más de dos años, detectándose el virus en el 53,3% (8/15) de los casos; $p=0,045$, $OR=3,08$ $IC95\%$ (1,00-9,46).

Como se puede apreciar, existieron diferencias en el comportamiento de las variables sociodemográficas y clínico-epidemiológicas asociadas a la infección por VPH, entre los dos grupos de mujeres analizadas.

En el presente estudio, los resultados mostraron que la mediana de la edad de las mujeres analizadas fue de 40 años, por lo que la mayoría estaba entre los 35 y 50 años. Es conocido que en edades mayores a los 35 años comienzan a detectarse una serie de alteraciones cervicouterinas asociadas a la presencia de infecciones persistentes con el VPH (210-212). Sin embargo, la mayor parte de estas infecciones cursan de manera asintomática, lo cual influye en que muchas mujeres no tengan percepción del riesgo y no acudan a los centros de salud para la realización de la prueba citológica (213).

Con respecto a las variables sociodemográficas asociadas a la infección por VPH, en la presente investigación se observó que las mujeres más jóvenes de la zona rural, entre 20 y 30 años de edad, tenían una probabilidad cinco veces mayor de estar infectadas con VPH, mientras que en las mujeres de la zona urbana se observó que las mujeres entre 51 y 55 años de edad, tenían una menor probabilidad de estar infectadas con VPH, con respecto al resto de las mujeres estudiadas. Estos hallazgos confirman los datos publicados en la literatura internacional, pues la prevalencia de VPH más alta se reporta en mujeres menores de 25 años y va declinando con la edad (214, 215). La adquisición de la infección por VPH es muy común en adolescentes y mujeres jóvenes, con el inicio de las relaciones sexuales (216). En estas mujeres, la infección por VPH-AR y las lesiones cervicales de bajo grado

tienden a ser fenómenos transitorios, que se elimina aproximadamente en un periodo de dos años y la infección es autolimitada (217).

Como se ha descrito, la frecuencia de infección debe ir declinando con la edad (214, 215), sin embargo, este comportamiento no se observó en las mujeres de la zona urbana, incluidas en el presente trabajo, pues no se encontraron diferencias en la frecuencia de infección por VPH, entre los diferentes grupos etarios. Ya se ha descrito este fenómeno en otros estudios realizados en mujeres ecuatorianas, en las que la infección incluso aumenta discretamente en entre los 40 y 50 años (182). Este comportamiento se explica probablemente por la reinfección con nuevos genotipos o por posibles infecciones persistentes. Estas últimas solo se pudieran demostrar si se tuviera evidencias de pruebas anteriores positivas a los mismos genotipos de VPH identificados en el momento de la presente investigación.

La frecuencia de infección por VPH en las mujeres indígenas residentes en la zona rural, fue significativamente mayor en las solteras y en aquellas que refirieron haber tenido de dos a tres embarazos e igual número de partos. En las mujeres de la zona urbana la frecuencia de infección por VPH también fue significativamente mayor en las mujeres solteras y en aquellas que tuvieron la menarquia a los 14 años o antes.

El antecedente de infecciones de transmisión sexual, también constituyó un factor de riesgo para la infección con VPH en los dos grupos de mujeres. La presencia de ITS se ha visto como algo frecuente en adolescentes y jóvenes (218). Sin embargo, es común también en mujeres mayores de 25 años y en edades más avanzadas, sobre todo, en el caso de mujeres solteras, y en aquellas que practican cambio frecuente de pareja, acompañado de otras conductas de riesgo como la práctica de relaciones sexuales desprotegidas. Es por ello que el uso de la vacunación no es la única forma de prevención, también es necesario incrementar la difusión de mensajes educativos para promover la práctica de sexo seguro desde el inicio de las relaciones sexuales y durante toda la vida sexual activa. Esto, avalado por el hecho de que las vacunas contra VPH disponibles en el mercado, solo protegen contra la infección con siete genotipos de alto riesgo oncogénico, aunque se ha descrito la posible protección cruzada contra algunos genotipos

genéticamente relacionados con los que están incluidos en las formulaciones vacunales actuales (219).

Un hallazgo relevante en la presente investigación fue la asociación de la infección por VPH con el consumo de cigarrillos y con el uso de anticonceptivos hormonales, particularmente en las mujeres residentes en la zona urbana del Cañar. Aunque las mujeres estudiadas no residían en la capital del país, ni en otra de las ciudades más prósperas desde el punto de vista cultural o económico, donde son frecuentes estos hábitos, se comprobó el consumo habitual de cigarrillos y el uso de métodos anticonceptivos hormonales. Esto demuestra cierta conducta ciudadana de las mujeres cañaris asentadas en la parte más urbanizada del cantón Cañar.

Las variaciones entre regiones de un mismo país, en el comportamiento de las variables sociodemográficas o clínico-epidemiológicas asociadas a la infección por VPH, dependen en gran medida de aspectos socioculturales y conductuales de las mujeres residentes en cada región, asentamiento o ciudad. Estos aspectos influyen en los diferentes niveles de la percepción del riesgo, lo cual conduce a estilos de vida que pueden influir en una mayor propensión a la infección y persistencia viral por VPH. Tal es el caso de hábitos tóxicos como el tabaquismo y la exposición a tratamientos con hormonas anticonceptivas (220).

Comúnmente, las mujeres residentes en zonas más urbanizadas y que están vinculadas a actividades laborales fuera del hogar, sobre todo las profesionales, tienen un mayor nivel de independencia social y familiar, menos prejuicios y tabúes religiosos, por lo que habitualmente hay más mujeres fumadoras y que utilizan métodos anticonceptivos hormonales (221).

El consumo de cigarrillos se ha relacionado con valores elevados de la carga viral del VPH-AR, y se considera que los carcinógenos del humo del tabaco actúan en sinergia con la infección viral y aumentan el riesgo de progresión al CaCU (108). El humo del tabaco contiene carcinógenos potentes como el Benzopireno, que se detecta en el moco cervical y que también puede interactuar con el VPH. Se considera que el Benzopireno puede modular el ciclo replicativo del VPH y potenciar

la persistencia viral, la carcinogénesis y la permisividad para la progresión del cáncer (107).

Por otra parte, se han publicado meta-análisis que demuestran un riesgo mayor para adquirir la infección viral y desarrollar infecciones persistentes por genotipos oncogénicos del VPH, en las mujeres que consumen anticonceptivos orales por períodos prolongados (222). Dichos resultados apoyan varias teorías relacionadas con los efectos carcinogénicos directos de los estrógenos y la progesterona, por favorecer la morfogénesis del virión, ejercer una regulación positiva sobre la expresión de los oncogenes virales E6 y E7 y la capacidad de los estrógenos para promover el crecimiento del tumor y la persistencia viral (223). Particularmente el estradiol, la principal hormona femenina producida en los ovarios, se emplea en las formulaciones de anticonceptivos orales. El 17β -estradiol es una hormona que se ha relacionado ampliamente con el desarrollo de CaCU.

Se ha demostrado en modelos murinos que expresan E6/E7 de VPH 16, que la transformación maligna solo se alcanza cuando los animales se exponen crónicamente a esta hormona. Las acciones de los estrógenos se ejercen a través de los receptores de estrógenos α y β (RE α y RE β), y también mediante el receptor de estrógeno acoplado a proteína G (REPG). Se ha descrito que el RE α está involucrado en el desarrollo del CaCU, debido a que cuando está ausente no se produce el cáncer. Por otro lado, los ensayos de Inmunohistoquímica en tejidos humanos demuestran que los RE α y RE β aumentan su expresión con el avance de la enfermedad, lo que confirma la importancia de esta hormona en la evolución de la patología. Además, el REPG se expresa a altos niveles en tejidos y líneas celulares de CaCU como SiHa y HeLa, y su activación está asociada con la proliferación celular descontrolada. También, se ha demostrado que la expresión citoplasmática de REPG se correlaciona con un pronóstico favorable en CaCU, no así cuando su expresión ocurre en el núcleo de las células cervicales (224).

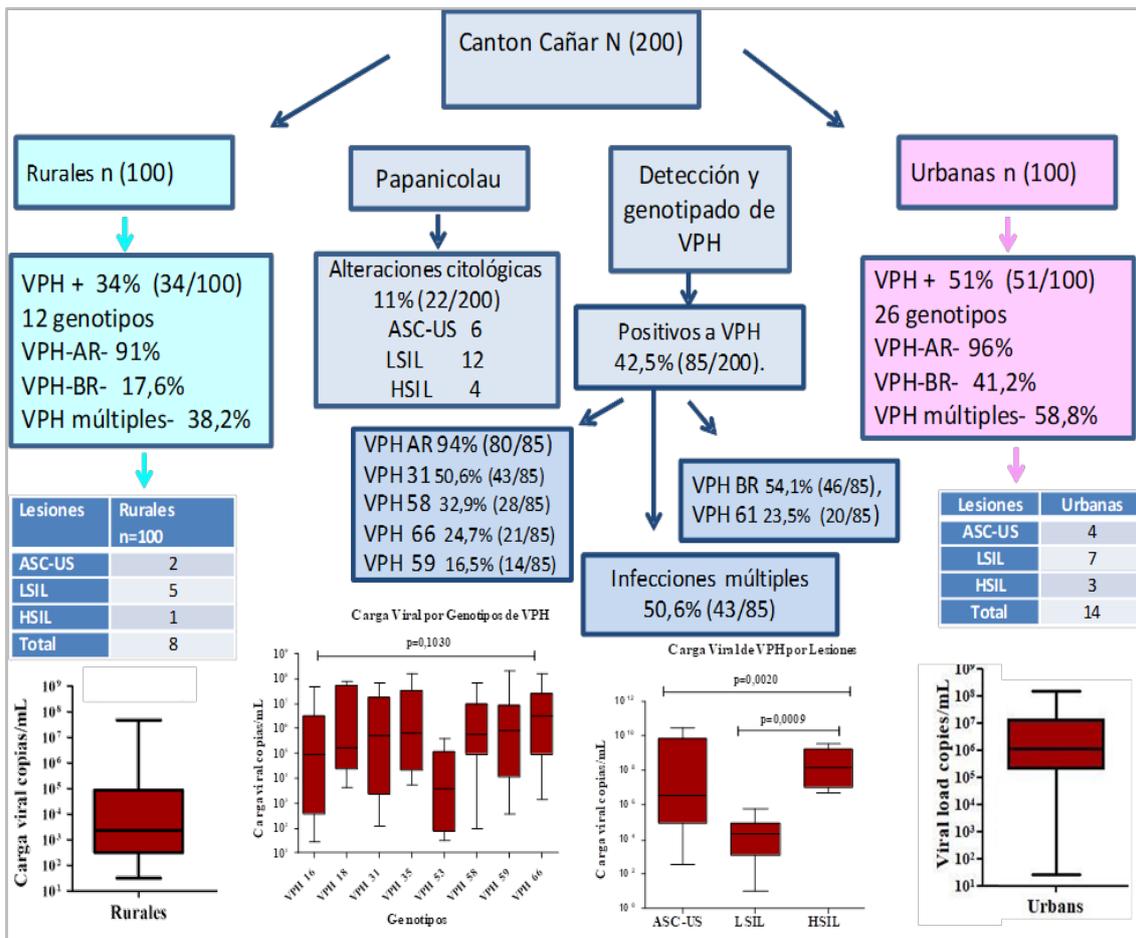
CONSIDERACIONES GENERALES

El presente estudio, es el primer acercamiento a la circulación del VPH en mujeres de comunidades rurales, censadas como indígenas y mujeres de

comunidades urbanas, censadas como mestizas en la provincia del Cañar. El mismo, permitió el estudio citológico, la identificación de genotipos oncogénicos y la evaluación del valor de la carga viral de dichos genotipos en estas poblaciones.

En la figura 26 se presenta un flujograma y resumen de la investigación desarrollada en el presente estudio. En dicha figura se pueden observar aspectos relacionados con el tamaño de la muestra y los principales resultados.

Figura 26. Flujoograma de la investigación con los principales resultados.



Es de destacar que el número de mujeres estudiadas es pequeño, pues las 200 mujeres investigadas en el asentamiento urbano y rural de la parroquia General Morales representan el 23,1% (200/865) de las mujeres entre 15 y 55 años residentes en esa región. Esta proporción, dentro de los grupos etarios analizados, constituye aproximadamente un cuarto de la población femenina del cantón Cañar. Dichos hallazgos, aunque no se pueden extrapolar al 100% de la población femenina del Cañar, revelan una problemática en la salud sexual y reproductiva de estas mujeres. El hecho de detectar frecuencias de infección por VPH-AR tan elevadas en la población estudiada, con valores superiores en las mujeres residentes en la zona urbana, sugieren la necesidad de estudios con un mayor número de casos, pero también de un seguimiento para la detección precoz de lesiones precursoras y CaCU.

El diseño del estudio es de corte transversal, por lo que las comparaciones entre variables virales, sociodemográficas y clínico-epidemiológicas de las mujeres de la zona urbana y rural, no son una medida exacta del riesgo que representan dichas variables para cada uno de los grupos de mujeres estudiadas. Sin embargo, el estudio da la posibilidad de caracterizar dos grupos de mujeres que difieren en muchos aspectos, definir variables asociadas a la infección y la presencia de lesiones cervicales, que pueden ser distintivas entre ellas. Sin embargo, la selección de las mujeres es bastante similar, cuando se analiza la distribución y cantidad por grupos etarios.

Otro aspecto a tener en cuenta sobre las inferencias del estudio es que la población femenina urbana, censada como mestiza es muy inferior a la población indígena que habita en el Cañar, ya que solo un 22,6% del total de habitantes reside en la zona urbana. No obstante, la comparación entre mujeres mestizas de la zona urbana e indígenas de la zona rural revela elementos que pudieran indicar un comportamiento diferente ante la infección por VPH y en la aparición de lesiones precursoras de CaCU.

Todos estos elementos indican la necesidad de futuras investigaciones que se centren en poblaciones indígenas del Ecuador, así como en mujeres que migran a las zonas urbanas y no reciben la educación sexual y reproductiva para afrontar los nuevos estilos de vida.

Las estructuras de los pueblos originarios de América Latina y el Caribe, son desiguales. En relación a la atención primaria de salud, no existe equidad en el reconocimiento, participación y respeto de la diversidad cultural. En la región, las personas indígenas representan hasta el 40% de la población rural, donde existe a menudo poco o casi ningún acceso a los servicios convencionales de salud. Como resultado, al menos, el 80% del pueblo indígena depende principalmente de la terapia tradicional para la asistencia médica (225).

La cultura e idiosincrasia de las poblaciones puede influir en diferentes aspectos de salud sexual y reproductiva, pues sus costumbres y hábitos dentro de las

comunidades cerradas pueden modificar los niveles de transmisión de diversas infecciones y así el comportamiento de ciertas enfermedades de transmisión sexual que se presentan en otras poblaciones, con características diferentes.

Ecuador es un país multicultural y multiétnico, integrado por diversos grupos culturales, para los que la sexualidad es un tema que constituye un verdadero tabú. Esos elementos, acompañados del analfabetismo, la pobreza, la falta de hábitos higiénicos, así como las pocas facilidades de acceso a los servicios de salud y a los programas de atención primaria, como es el caso del examen citológico periódico, son factores que están relacionados con una mayor incidencia y mortalidad por CaCU. Este aspecto constituye un indicador de subdesarrollo económico y social (146, 160-163). La elevada prevalencia de infección por VPH, particularmente de alto riesgo oncogénico indica la necesidad de incorporar la población de Cañar en los programas de detección precoz del cáncer cervicouterino y promover campañas para prevenir las ITS y para la educación sexual y reproductiva.



REDLIC | Red Editorial
Latinoamericana de
Investigación Contemporánea

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

La elevada frecuencia de infección por VPH y el predominio de los genotipos oncogénicos circulantes, indican que la población femenina estudiada tiene un alto riesgo de desarrollar lesiones precursoras y CaCU, y demuestran la necesidad de un seguimiento para la detección precoz de este tipo de cáncer.

La presencia de lesiones intraepiteliales cervicales en las mujeres estudiadas y la alta prevalencia de virus oncogénicos, con un patrón diferente al de varias regiones de Latinoamérica, alertan sobre la necesidad de métodos moleculares de pesquisa y la aplicación de la vacunación contra el VPH en esta comunidad.

Los signos patológicos y procesos inflamatorios cérvico-vaginales, en mujeres rurales y urbanas residentes en la provincia del Cañar, evidencian una salud sexual y reproductiva deficiente.

Los altos valores de carga viral de los VPH-AR en la población estudiada, fundamentalmente en las que presentaron lesiones cervicales de alto grado, éstas se deben evaluar como predictores para el desarrollo de lesiones precursoras y del CaCU.

Las diferencias en la frecuencia de infección y los genotipos circulantes en ambos grupos de mujeres, revelan la influencia de variables sociodemográficas y clínico-epidemiológicas características de cada uno de ellos.

Conociendo el comportamiento del virus y las diferentes cepas presentes en nuestro medio y las limitaciones investigativas, es importante realizar estudios de epidemiología molecular para estimar la prevalencia de VPH en las mujeres del resto de las parroquias de la provincia de Cañar.

Desarrollar investigaciones prospectivas, en las mujeres estudiadas que resultaron infectadas con VPH oncogénicos, para determinar la futura aparición de lesiones intraepiteliales cervicales o cáncer cervicouterino.

Alertar a las autoridades de salud pública del Ecuador sobre la necesidad de incorporar a las mujeres cañaris al programa de detección precoz del cáncer cervicouterino, así como implementar la vacunación contra el VPH en esta población.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers - a brief historical account. *Virology*. 2009;384(2):260-5.
2. Leto MG, Santos Junior GF, Porro AM, Tomimori J. Human papillomavirus infection: etiopathogenesis, molecular biology and clinical manifestations. *An Bras Dermatol*. 2011;86(2):306-17.
3. Doorbar J, Egawa N, Griffin H, Kranjec C, Murakami I. Human papillomavirus molecular biology and disease association. *Rev Med Virol* 2015;25(6):2-23.
4. Arbyn M, Simoons C, Van Damme P, Scharpantgen A, Meijer CJ, Beutels P. Introduction of human papillomavirus vaccination in Belgium, Luxembourg and the Netherlands. *Gynecol Obstet Invest*. 2010;70(4):224-32.
5. de Martel C, Ferlay J, Franceschi S, Forman D, Lacey CJ, Soerjomataram I, et al. Global burden of human papillomavirus and related diseases. *Vaccine*. 2012;30 (5):F12-23.
6. 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*. 2012;30 (5):F12-23.
7. de Villiers EM. Cross-roads in the classification of papillomaviruses. *Virology*. 2013;445(1-2):2-10.
8. Mukakalisa I, Bindler R, Allen C, Dotson J. Cervical cancer in developing countries: effective screening and preventive strategies with an application in Rwanda. *Health Care Women Int*. 2014;35(7-9):1065-80.
9. Islami F, Fedewa SA, Jemal A. Trends in cervical cancer incidence rates by age, race/ethnicity, histological subtype, and stage at diagnosis in the United States. *Prev Med*. 2019;123:316-23.

10. Osazuwa-Peters N, Adjei Boakye E, Rohde RL, Ganesh RN, Moiyadi AS, Hussaini AS, et al. Understanding of risk factors for the human papillomavirus (HPV) infection based on gender and race. *Sci Rep*. 2019;9(1):297.
11. Bruni L, Alberto G, Serrano B, Mena M, Gómez D, Muñoz J, et al. Human Papillomavirus and Related Diseases in the World. ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre) Summary Report 17. 2019.
12. SOLCA RN. Epidemiología del Cáncer en Quito 2003-2005 In: INEC-MSP, editor. Quito. Ecuador: SOLCA; 2009.
13. Cecchini G, Paganini G, D'Amico M, Cannone M, Bertuletti C, Barberis MC. Cervical cancer screening programs in low-income communities. Experiences from Ecuador. Low cost detection of HPV infection in a developing country. *Pathologica*. 2009;101(2):76-9.
14. Vaccarella S, Lortet-Tieulent J, Plummer M, Franceschi S, Bray F. Worldwide trends in cervical cancer incidence: impact of screening against changes in disease risk factors. *Eur J Cancer*. 2013;49(15):3262-73.
15. Serrano B, Brotons M, Bosch FX, Bruni L. Epidemiology and burden of HPV-related disease. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2018;47:14-26.
16. de Sanjosé S, Serrano B, Tous S, Alejo M, Lloveras B, Quiros B, et al. Burden of Human Papillomavirus (HPV)-Related Cancers Attributable to HPVs 6/11/16/18/31/33/45/52 and 58. *JNCI cancer spectrum*. 2018;2(4):pky045.
17. Nogueira-Rodrigues A, Bukowski EP, St. Louis J, Barrichello A, Sternberg C, Gifoni MAC, et al. An Alert to Latin America: Current Human Papillomavirus Vaccination Trends Highlight Key Barriers to Successful Implementation *Cancer*. 2017.

18. Basto DL, Vidal JP, Pontes VB, Felix SP, Pinto LC, Soares BM, et al. Genetic diversity of human papillomavirus types 35, 45 and 58 in cervical cancer in Brazil. *Arch Virol.* 2017;162(9):2855-60.
19. Marin HM, Torres C, Deluca GD, Mbayed VA. Human papillomavirus detection in Corrientes, Argentina: High prevalence of type 58 and its phylodynamics. *Rev Argent Microbiol.* 2015;47(4):302-11.
20. Sanchez GI, Bravo LE, Hernandez-Suarez G, Tous S, Alemany L, de San José S, et al. Secular trends of HPV genotypes in invasive cervical cancer in Cali, Colombia 1950-1999. *Cáncer Epidemiol.* 2016;40:173-8.
21. Bedoya-Pilozo CH, Medina Magues LG, Espinosa-Garcia M, Sanchez M, Parrales Valdiviezo JV, Molina D, et al. Molecular epidemiology and phylogenetic analysis of human papillomavirus infection in women with cervical lesions and cancer from the coastal region of Ecuador. *Rev Argent Microbiol.* 2018;50(2):136-46.
22. Mejia L, Munoz D, Trueba G, Tinoco L, Zapata S. Prevalence of human papillomavirus types in cervical cancerous and precancerous lesions of Ecuadorian women. *J Med Virol.* 2016;88(1):144-52.
23. Garcia Muentes GD, Garcia Rodriguez LK, Burgos Galarraga RI, Almeida Carpio F, Ruiz Cabezas JC. Genotypes distribution of human papillomavirus in cervical samples of Ecuadorian women. *Revista brasileira de epidemiologia = Brazilian journal of epidemiology.* 2016;19(1):160-6.
24. Tobar P, Vega M, Ordonez C, Rivera L, Landivar J, Zambrano H. Detection of Zika Virus and Human Papilloma Virus in Cervical Cytology Samples using Two Real Time PCR Based Techniques in Ecuadorian Women diagnosed with ASCUS. *P R Health Sci J.* 2018;37(Special Issue):96-8.
25. Petry KU, Schmidt D, Scherbring S, Luyten A, Reinecke-Luthge A, Bergeron C, et al. Triaging Pap cytology negative, HPV positive cervical cancer screening results with p16/Ki-67 Dual-stained cytology. *Gynecol Oncol.* 2011;121(3):505-9.

26. Mancilla JC. Public expenditure in health in Ecuador. *Rev Med FCM-UCSG* 2012;18(1):53-60.
27. SOLCA BE. Incidencia de cáncer en el Hospital de SOLCA de Guayaquil, 2013-2017. In: INEC-MSP, editor. Guayaquil, Ecuador: SOLCA; 2017. p. 1-12.
28. Suescún-Tarazona D. Interpretación del informe de la citología cervical de acuerdo al Sistema Bethesda 2001 *Medicina & Laboratorio*. 2005;11:479-90.
29. De Sanjose S. Historia de cribado en mujeres con cáncer infiltrante de cuello uterino. *Gaceta Sanitaria*. 2006;20:166-70.
30. Muñoz G, Mota L, Bowie WR, Quizhpe A, E. O, Spiegel JM, et al. Ecosystem approach to promoting appropriate antibiotic use for children in indigenous communities in Ecuador. *Rev Panam Salud Publica*. 2011;30(6):566-73.
31. Burgos-Guevara H. La identidad del pueblo cañari: De-construcción de una nación étnica EEUU: Abya-Yala; 2003.
32. Ecuador SdLceCd. Estrategia Nacional para la atención integral del cáncer en el Ecuador. In: INEC-MSP, editor. Ecuador: Quito, Ecuador; 2017.
33. Fernandes JV, Galvão de Araújo JM, Araújo de Medeiros Fernandes TA. Biology and natural history of human papillomavirus infection. *J Clin Trials*. 2013;5 1-12.
34. Sellors J, Sankaranarayanan R. An introduction to the anatomy of the uterine cervix. *Colposcopy and treatment of Cervical Intraepithelial Neoplasia: A beginners manual* 2003.
35. Grover A, Pandey D. *Colposcopy of Female Genital Tract*. S. Mehta PS, editor. Singapore Springer Science & Business Media Singapore 2017.
36. Nicolau UR, de Jesus VHF, Lima ENP, Alves MS, de Oliveira TB, Andrade LB, et al. Early metabolic 18F-FDG PET/CT response of locally advanced squamous-cell carcinoma of head and neck to induction chemotherapy: A prospective pilot study. *PLoS One*. 2018;13(8):e0200823.

37. Lancaster WD, Olson C. Animal papillomaviruses. *Microbiol Rev.* 1982;46(2):191-207.
38. Sundberg JP. Papillomaviruses and Human Diseases. In: Syrjanen K, Gissmann LL, Koss LG, editors. Papillomavirus infections in animals. Berlin: Springer-Verlag; 1987. p. 40-103.
39. Danos O, Engel LW, Chen EY, Yaniv M, Howley PM. Comparative analysis of the human type 1a and bovine type 1 papillomavirus genomes. *J Virol.* 1983;46(2):557-66.
40. Dollard SC, Wilson JL, Demeter LM, Bonnez W, Reichman RC, Broker TR, et al. Production of human papillomavirus and modulation of the infectious program in epithelial raft cultures. *Dev. Genes Evol.* 1992;6(7):1131-42.
41. Zur Hausen H, Gissmann L, Steiner W, Dippold W, Dreger I. Los virusos y el cáncer. *Bibl Haematol.* 1975(43):569-71.
42. Durst M, Gissmann L, Ikenberg H, Zur Hausen H. A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1983;80(12):3812-5.
43. Munoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med.* 2003;348(6):518-27.
44. Kumaraswamy KL, Vidhya M. Human papilloma virus and oral infections: an update. *J Cancer Res Ther.* 2011;7(2):120-7.
45. Kuhs KA, Porras C, Schiller JT, Rodriguez AC, Schiffman M, Gonzalez P, et al. Effect of different human papillomavirus serological and DNA criteria on vaccine efficacy estimates. *Am J Epidemiol.* 2014;180(6):599-607.
46. Bernard HU. Taxonomy and phylogeny of papillomaviruses: an overview and recent developments. *Infect Genet Evol.* 2013;18:357-61.

47. Van Doorslaer K, Chen Z, Bernard HU, Chan PKS, DeSalle R, Dillner J, et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: Papillomaviridae. *J Gen Virol*. 2018;99(8):989-90.
48. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology*. 2004;324(1):17-27.
49. Bernard HU, Burk RD, Chen Z, van Doorslaer K, Hausen H, de Villiers EM. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology*. 2010;401(1):70-9.
50. Chen Z, Terai M, Fu L, Herrero R, DeSalle R, Burk RD. Diversifying selection in human papillomavirus type 16 lineages based on complete genome analyses. *J Virol*. 2005;79(11):7014-23.
51. Burk RD, Harari A, Chen Z. Human papillomavirus genome variants. *Virology*. 2013;445(1-2):232-43.
52. Vilata-Corell JJ. Infección por el virus del papiloma humano (VPH). *Prog Obs Ginecol*. 2016;21(44):289-323.
53. Howley PM, Lowy DR. Papillomaviruses. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*. II. 5th ed. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. p. 2300-54.
54. Schiffman M, Herrero R, Desalle R, Hildesheim A, Wacholder S, Rodriguez AC, et al. The carcinogenicity of human papillomavirus types reflects viral evolution. *Virology*. 2005;337(1):76-84.
55. Dalgo Aguilar P, Lojan Gonzalez C, Cordova Rodriguez A, Acurio Paez K, Arevalo AP, Bobokova J. Prevalence of High-Risk Genotypes of Human Papillomavirus: Women Diagnosed with Premalignant and Malignant Pap Smear Tests in Southern Ecuador. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2017;2017:8572065.
56. Zheng ZM, Baker CC. Papillomavirus genome structure, expression, and post-transcriptional regulation. *Front Biosci*. 2006;11:2286-302.
57. Cripe TP, Haugen TH, Turk JP, Tabatabai F, Schmid PG, 3rd, Durst M, et al. Transcriptional regulation of the human papillomavirus-16 E6-E7 promoter by a keratinocyte-dependent enhancer, and by viral E2 trans-

- activator and repressor gene products: implications for cervical carcinogenesis. *EMBO J.* 1987;6(12):3745-53.
58. Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, et al. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine.* 2012;30 Suppl 5:F55-70.
 59. Jagu S, Kwak K, Garcea RL, Roden RB. Vaccination with multimeric L2 fusion protein and L1 VLP or capsomeres to broaden protection against HPV infection. *Vaccine.* 2010;28(28):4478-86.
 60. Vande Pol SB, Klingelutz AJ. Papillomavirus E6 oncoproteins. *Virology.* 2013;445(1- 2):115-37.
 61. Moody CA, Laimins LA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nat Rev Cancer.* 2010;10(8):550-60.
 62. Rautava J, Syrjanen S. Biology of human papillomavirus infections in head and neck carcinogenesis. *Head Neck Pathol.* 2012;6 Suppl 1:S3-15.
 63. Letian T, Tianyu Z. Cellular receptor binding and entry of human papillomavirus. *Virol J.* 2010;7:2.
 64. Baseman JG, Koutsky LA. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol.* 2005;32 Suppl 1:S16-24.
 65. Burchell AN, Winer RL, de Sanjose S, Franco EL. Chapter 6: Epidemiology and transmission dynamics of genital HPV infection. *Vaccine.* 2006;24 Suppl 3:S3/52-61.
 66. Van Doorslaer K, Chen D, Chapman S, Khan J, McBride AA. Persistence of an Oncogenic Papillomavirus Genome Requires cis Elements from the Viral Transcriptional Enhancer. *mBio.* 2017;8(6).
 67. Moscicki AB, Schiffman M, Kjaer S, Villa LL. Chapter 5: Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. *Vaccine.* 2006;24 Suppl 3:S3/42-51.
 68. Stanley MA, Sterling JC. Host responses to infection with human papillomavirus. *Curr Probl Dermatol.* 2014;45:58-74.
 69. Doorbar J. Latent papillomavirus infections and their regulation. *Curr Opin Virol.* 2013;3(4):416-21.

70. Frazer IH. Prevention of cervical cancer through papillomavirus vaccination. *Nat Rev Immunol.* 2004;4(1):46-54.
71. Hamid NA, Brown C, Gaston K. The regulation of cell proliferation by the papillomavirus early proteins. *Cell Mol Life Sci.* 2009;66(10):1700-17.
72. Trottier H, Franco EL. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine.* 2006;24 Suppl 1:S1-15.
73. Bodily J, Laimins LA. Persistence of human papillomavirus infection: keys to malignant progression. *Trends Microbiol.* 2011;19(1):33-9.
74. Diaz D, Santander MA, Chavez JA. HPV-16 E6 and E7 oncogene expression is downregulated as a result of Mdm2 knockdown. *Int J Oncol.* 2012;41(1):141-6.
75. Perez-Plasencia C, Duenas-Gonzalez A, Alatorre-Tavera B. Second hit in cervical carcinogenesis process: involvement of wnt/beta catenin pathway. *Int Arch Med.* 2008;1(1):10.
76. Van Doorslaer K, Burk RD. Evolution of human papillomavirus carcinogenicity. *Adv Virus Res.* 2010;77:41-62.
77. Howley PM, Lowy DR. Papillomaviruses. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*, 5th Edition: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. p. 2300-54.
78. Anic GM, Lee JH, Villa LL, Lazcano-Ponce E, Gage C, Jose CSR, et al. Risk factors for incident condyloma in a multinational cohort of men: the HIM study. *J Infect Dis.* 2012;205(5):789-93.
79. Chang GJ, Welton ML. Human papillomavirus, condylomata acuminata, and anal neoplasia. *Clin Colon Rectal Surg.* 2004;17(4):221-30.
80. Hernandez-Suarez G, Pineros M, Vargas JC, Orjuela L, Hernandez F, Peroza C, et al. Human papillomavirus genotypes in genital warts in Latin America: a cross-sectional study in Bogotá, Colombia. *Int J STD AIDS.* 2013;24(7):567-72.
81. Azevedo J, Pista A, Lisboa C, Santo I, Azevedo L, Cunha MJ. Epidemiology of human papillomavirus on anogenital warts in Portugal -

- The HERCULES study. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2017;31(8):1342-8.
82. Kargi E, Gungor E, Tuncel A, Alli N, Erdogan B. Bowenoid papulosis. *Ann Plast Surg*. 2003;50(1):109-10.
 83. Campione E, Centonze C, Diluvio L, Orlandi A, Cipriani C, Di Stefani A, et al. Bowenoid papulosis and invasive Bowen 's disease: a multidisciplinary approach. *Acta Derm Venereol*. 2013;93(2):228-9.
 84. Zhang J, Zhang Y, Zhang Z. Prevalence of human papillomavirus and its prognostic value in vulvar cancer: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2018;13(9):e0204162.
 85. Garland SM, Joura EA, Ault KA, Bosch FX, Brown DR, Castellsague X, et al. Human Papillomavirus Genotypes From Vaginal and Vulvar Intraepithelial Neoplasia in Females 15-26 Years of Age. *Obstet Gynecol*. 2018;132(2):261-70.
1. Lopez N, Gil-de-Miguel A, Pascual-Garcia R, Gil-Prieto R. Hospitalizations associated with malignant neoplasia and in situ carcinoma in the anus and penis in men and women during a 5-year period (2009-2013) in Spain: An epidemiological study. *Hum Vaccin Immunother*. 2017;13(10):2292-9.
86. Arrabal-Polo MA, Girón-Prieto MS, Orgaz-Molina J, Merino-Salas S, Lopez-Carmona F, Arrabal-Martin M, et al. Clinical Manifestations of the Human Papillomavirus. In: Broeck DV, editor. *Human Papillomavirus and Related Diseases From Bench to Bedside A Diagnostic and Preventive Perspective*: InTech; 2013.
 87. Ritu N, Wilbur DC. *The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology*. Third ed. Chicago , IL. USA: Springer; 2014. 342 p.
 88. 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.
 89. Richart RM. Screening. The next century. *Cancer*. 1995;76(10 Suppl):1919-27.

90. Gilani SM, Tashjian R, Fathallah L. Cervical cytology with a diagnosis of atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion (ASC-H): a follow-up study with corresponding histology and significance of predicting dysplasia by human papillomavirus (HPV) DNA testing. *Arch Gynecol Obstet.* 2014;289(3):645-8.
91. Woodman CB, Collins SI, Young LS. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. *Nat Rev Cancer.* 2007;7(1):11-22.
92. Yalcin I, Sari ME, Sahin H, Gultekin M, Gungor T, Meydanli MM. Colposcopic biopsy findings among women with either HPV-16 only or HPV-18 only who have normal cervical cytology. *Int J Gynaecol Obstet.* 2018;143(3):300-5.
93. Andía D, Castro M, de la Fuente J, Hernández JJ, López JA, Martínez JC, et al. AEPCC- Guía: COLPOSCOPIA. ESTÁNDARES DE CALIDAD. In: AEPCC P, editor. España: Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia; 2018. p. 1-80.
94. Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, Kulasingam SL, Cain JM, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *J Low Genit Tract Dis.* 2012;16(3):175-204.
95. Evans MF, Adamson CS, Papillo JL, St John TL, Leiman G, Cooper K. Distribution of human papillomavirus types in ThinPrep Papanicolaou tests classified according to the Bethesda 2001 terminology and correlations with patient age and biopsy outcomes. *Cancer.* 2006;106(5):1054-64.
96. Franceschi S, Clifford GM. Re: A study of the impact of adding HPV types to cervical cancer screening and triage tests. *J Natl Cancer Inst.* 2005;97(12):938-9; author reply 9-41.

97. Franceschi S, Herrero R, Clifford GM, Snijders PJ, Arslan A, Anh PT, et al. Variations in the age-specific curves of human papillomavirus prevalence in women worldwide. *Int J Cancer*. 2006;119(11):2677-84.
98. Jaura 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;23(10):1997-2008.
99. Soto-De Leon S, Camargo M, Sanchez R, Munoz M, Perez-Prados A, Purroy A, et al. Distribution patterns of infection with multiple types of human papillomaviruses and their association with risk factors. *PLoS One*. 2011;6(2):e14705.
100. Capote LG. Epidemiology of cervical cancer in Latin America. *Ecancel*. 2015;9:577.
101. Watson-Jones D, Baisley K, Brown J, Kavishe B, Andreasen A, Changalucha J, et al. High prevalence and incidence of human papillomavirus in a cohort of healthy young African female subjects. *Sex Transm Infect*. 2013;89(5):358-65.
102. Lupato V, Holzinger D, Hofler D, Menegaldo A, Giorgi Rossi P, Del Mistro A, et al. Prevalence and Determinants of Oral Human Papillomavirus Infection in 500 Young Adults from Italy. *PLoS One*. 2017;12(1):e0170091.
103. Collins SI, Mazloomzadeh S, Winter H, Rollason TP, Blomfield P, Young LS, et al. Proximity of first intercourse to menarche and the risk of human papillomavirus infection: a longitudinal study. *Int J Cancer*. 2005;114(3):498-500.
104. Dmoch-Gajzlerska E, Kozakiewicz B, Chadzyska M. Women's knowledge regarding the effects of cigarette smoking and human papillomavirus infection on the development of cervical cancer. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2014;26(6):358.
105. Louie KS, Castellsague X, de Sanjose S, Herrero R, Meijer CJ, Shah K, et al. Smoking and passive smoking in cervical cancer risk: pooled analysis

- of couples from the IARC multicentric case-control studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2011;20(7):1379-90.
106. Alam S, Conway MJ, Chen HS, Meyers C. The cigarette smoke carcinogen benzo[a]pyrene enhances human papillomavirus synthesis. *J Virol.* 2008;82(2):1053-8.
 107. Wei L, Griego AM, Chu M, Ozbun MA. Tobacco exposure results in increased E6 and E7 oncogene expression, DNA damage and mutation rates in cells maintaining episomal human papillomavirus 16 genomes. *Carcinogenesis.* 2014;35(10):2373-81.
 108. Tarney CM, Beltran TA, Klaric J, Han JJ. Tobacco Use and Prevalence of Human Papillomavirus in Self-Collected Cervicovaginal Swabs Between 2009 and 2014. *Obstet Gynecol.* 2018;132(1):45-51.
 109. Belinson S, Smith JS, Myers E, Olshan A, Belinson J, Pretorius R, et al. Descriptive evidence that risk profiles for cervical intraepithelial neoplasia 1, 2, and 3 are unique. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17(9):2350-5.
 110. Jensen KE, Schmiedel S, Norrild B, Frederiksen K, Iftner T, Kjaer SK. Parity as a cofactor for high-grade cervical disease among women with persistent human papillomavirus infection: a 13-year follow-up. *Br J Cancer.* 2013;108(1):234-9.
 111. Hellberg D. Sex steroids and cervical cancer. *Anticancer Res.* 2012;32(8):3045-54.
 112. Castellsague X, Ghaffari A, Daniel RW, Bosch FX, Munoz N, Shah KV. Prevalence of penile human papillomavirus DNA in husbands of women with and without cervical neoplasia: a study in Spain and Colombia. *J Infect Dis.* 1997;176(2):353-61.
 113. Morris BJ, Hankins CA, Banerjee J, Lumbers ER, Mindel A, Klausner JD, et al. Does Male Circumcision Reduce Women's Risk of Sexually Transmitted Infections, Cervical Cancer, and Associated Conditions? *Frontiers in public health.* 2019;7:4.

114. La Vecchia C, Boccia S. Oral contraceptives, human papillomavirus and cervical cancer. *Eur J Cancer Prev.* 2014;23(2):110-2.
115. Green J, Berrington de Gonzalez A, Smith JS, Franceschi S, Appleby P, Plummer M, et al. Human papillomavirus infection and use of oral contraceptives. *Br J Cancer.* 2003;88(11):1713-20.
116. Chagas BS, Gurgel A, Paiva Junior SSL, Lima RCP, Cordeiro MN, Moura RR, et al. Synergic effect of oral contraceptives, GSTP1 polymorphisms, and high-risk HPV infection in development of cervical lesions. *Genet Mol Res.* 2017;16(3).
117. Koshiyama M. The Effects of the Dietary and Nutrient Intake on Gynecologic Cancers. *Healthcare (Basel, Switzerland).* 2019;7(3).
118. Human Papillomavirus and Related Diseases Report. Cuba: ICO Information Centre on HPV and Cancer, 2014.
119. Bouvard V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F, et al. A review of human carcinogens--Part B: biological agents. *Lancet Oncol.* 2009;10(4):321-2.
120. Bernard E, Pons-Salort M, Favre M, Heard I, Delarocque-Astagneau E, Guillemot D, et al. Comparing human papillomavirus prevalences in women with normal cytology or invasive cervical cancer to rank genotypes according to their oncogenic potential: a meta-analysis of observational studies. *BMC Infect Dis.* 2013;13(1):373.
121. Carozzi F, De Marco L, Gillio-Tos A, Del Mistro A, Girlando S, Baboci L, et al. Age and geographic variability of human papillomavirus high-risk genotype distribution in a large unvaccinated population and of vaccination impact on HPV prevalence. *J Clin Virol.* 2014;60(3):257-63.
122. Memon A, Bannister P. Epidemiology of Cervical Cancer. In: Farghaly SA, editor. *Uterine Cervical Cancer.* 1. 1 ed: Springer International Publishing; 2019. p. 1-16.
123. Negrin LGC. Epidemiology of cervical cancer in Latin America. *Ecancer.* 2015;9:1-14.

124. Arbyn M, Castellsague X, de Sanjose S, Bruni L, Saraiya M, Bray F, et al. Worldwide burden of cervical cancer in 2008. *Ann Oncol*. 2011;22(12):2675-86.
125. Castro FA, Dominguez A, Puschel K, Van De Wyngard V, Snijders PJ, Franceschi S, et al. Serological prevalence and persistence of high-risk human papillomavirus infection among women in Santiago, Chile. *BMC Infect Dis*. 2014;14:361.
126. Abreu AL, Souza RP, Gimenes F, Consolaro ME. A review of methods for detecting human Papillomavirus infection. *Virology*. 2012;9:262.
127. Villa LL, Denny L. Methods for detection of HPV infection and its clinical utility. *Int J Gyn Obst* 2006, 94:71– 80. *Int J Gyn Obst*. 2006;94:71-80.
128. Bartlett B, Stirling CT. A Short History of the Polymerase Chain Reaction. *Methods Mol Biol*. 2003;226:3-6.
129. de Roda Husman AM, Walboomers JM, van den Brule AJ, 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.
130. Jacobs MV, de Roda Husman AM, van den Brule AJ, Snijders PJ, Meijer CJ, Walboomers JM. Group-specific differentiation between high- and low-risk human papillomavirus genotypes by general primer-mediated PCR and two cocktails of oligonucleotide probes. *J Clin Microbiol*. 1995;33(4):901-5.
131. Camargo M, Soto-De Leon S, Sánchez R, Munoz M, Vega E, Beltran M, et al. Detection by PCR of human papillomavirus in Colombia: Comparison of GP5+/6+ and MY09/11 primer sets. *J Virol Methods*. 2011;178(1-2):68-74.
132. Prasongdee P, Tippayawat P, Limpaboon T, Leelayuwat C, Wongwattanakul M, Jearanaikoon P. The development of simultaneous measurement of viral load and physical status for human papillomavirus 16 and 18 co-infection using multiplex quantitative polymerase chain reaction. *Oncol Lett*. 2018;16(6):6977-87.

133. Chan PK, Picconi MA, Cheung TH, Giovannelli L, Park JS. Laboratory and clinical aspects of human papillomavirus testing. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2012;49(4):117-36.
134. Castle PE, Wheeler CM, Solomon D, Schiffman M, Peyton CL. Interlaboratory reliability of Hybrid Capture 2. *Am J Clin Pathol.* 2004;122(2):238-45.
135. Aggarwal P. Cervical cancer: Can it be prevented? *World journal of clinical oncology.* 2014;5(4):775-80.
136. Yadav R, Zhai L, Tumban E. Virus-like Particle-Based L2 Vaccines against HPVs: Where Are We Today? *Viruses.* 2020;12(1).
137. Bharadwaj M, Hussain S, Nasare V, Das BC. HPV & HPV vaccination: issues in developing countries. *Indian J Med Res.* 2009;130(3):327-33.
138. Serrano B, Alemany L, Tous S, Bruni L, Clifford GM, Weiss T, et al. Potential impact of a nine-valent vaccine in human papillomavirus related cervical disease. *Infect Agent Cancer.* 2012;7(1):38.
139. Virus del papiloma humano. 2020. In: Manual de vacunas en línea de la AEP [Internet]. Madrid: AEP. Available from: <http://vacunasaep.org/documentos/manual/cap-42>.
140. Haghshenas MR, Mousavi T, Kheradmand M, Afshari M, Moosazadeh M. Efficacy of Human Papillomavirus L1 Protein Vaccines (Cervarix and Gardasil) in Reducing the Risk of Cervical Intraepithelial Neoplasia: A Meta-analysis. *International journal of preventive medicine.* 2017;8:44.
141. Gilca V, Sauvageau C, Panicker G, De Serres G, Ouakki M, Unger ER. Antibody persistence after a single dose of quadrivalent HPV vaccine and the effect of a dose of nonavalent vaccine given 3-8 years later - an exploratory study. *Hum Vaccin Immunother.* 2019;15(2):503-7.
142. Joura EA, Giuliano AR, Iversen OE, Bouchard C, Mao C, Mehlsen J, et al. A 9-Valent HPV Vaccine against Infection and Intraepithelial Neoplasia in Women. *N Engl J Med.* 2015;372(8):711-23.

143. Shah PD, Calo WA, Gilkey MB, Boynton MH, Alton Dailey S, Todd KG, et al. Questions and Concerns About HPV Vaccine: A Communication Experiment. *Pediatrics*. 2019;143(2).
144. Orellana-Amoroso TM. Importancia del turismo comunitario para el desarrollo de las comunidades cañaris [Tesis para la obtención del título de ingeniera en turismo]. Ecuador: Universidad de Cuenca; 2011.
145. Nugus P, Desalliers J, Morales J, Graves L, Evans A, Macaulay AC. Localizing Global Medicine: Challenges and Opportunities in Cervical Screening in an Indigenous Community in Ecuador. *Qual Health Res*. 2018;28(5):800-12.
146. Asotic A, Taric S, Asotic J. Correlation of cervical smear and pathohistological findings. *Med Arch*. 2014;68(2):106-9.
147. Cerqueira EM, Santoro CL, Donozo NF, Freitas BA, Pereira CA, Bevilacqua RG, et al. Genetic damage in exfoliated cells of the uterine cervix. Association and interaction between cigarette smoking and progression to malignant transformation? *Acta Cytol*. 1998;42(3):639-49.
148. Noller KL. Intraepithelial neoplasia of the lower genital tract (cervix, vulva): etiology, screening, diagnostic techniques, management In: Katz VL, Lentz GM, Lobo RA, Gershenson DM, editors. *Comprehensive Gynecology*. 5th ed. Philadelphia, Pe: Mosby Elsevier; 2007.
149. Denny L. Cytological screening for cervical cancer prevention. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2012;26(2):189'96.
150. Roe CJ, Hanley KZ. Updates in Cervical Cytology: The 90-Year-Long Journey from Battle Creek to Today. *Surgical pathology clinics*. 2018;11(3):589-99.
151. Papanicolaou GN. A NEW PROCEDURE FOR STAINING VAGINAL SMEARS. *Science*. 1942;95(2469):438-9.
152. Bonde J, Rebolj M, Ejegod DM, Preisler S, Lynge E, Rygaard C. HPV prevalence and genotype distribution in a population-based split-sample study of well-screened women using CLART HPV2 human papillomavirus genotype microarray system. *BMC Infect Dis*. 2014;14:413.

153. Del Pino M, Alonso I, Rodriguez-Trujillo A, Bernal S, Geraets D, Guimera N, et al. Comparison of the analytical and clinical performance of five tests for the detection of human papillomavirus genital infection. *J Virol Methods*. 2017;248:238-43.
154. Wang W, Zhang XH, Li M, Hao CH, Zhao ZM, Liang HP. Association between viral loads of different oncogenic human papillomavirus types and the degree of cervical lesions in the progression of cervical Cancer. *Clin Chim Acta*. 2018;483:249-55.
155. Helsinki. Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA*. 2018;310(20):2191-94.
156. Van Delden J, Van der Graaf R. Revised CIOMS International Ethical Guidelines for Health-Related Research Involving Humans. *JAMA*. 2016;317(2):135-6.
157. Jaruseviciene L, Orozco M, Ibarra M, Ossio FC, Vega B, Auquilla N, et al. Primary healthcare providers' views on improving sexual and reproductive healthcare for adolescents in Bolivia, Ecuador, and Nicaragua. *Glob Health Action*. 2013;6:20444.
158. Mendoza L, Mongelos P, Paez M, Castro A, Rodriguez-Riveros I, Gimenez G, et al. Human papillomavirus and other genital infections in indigenous women from Paraguay: a cross-sectional analytical study. *BMC Infect Dis*. 2013;13:531.
159. Urrutia MT, Concha X, Riquelme G, Padilla O. [Knowledge and preventive behaviors related to cervical cancer and human papilloma virus in a group of Chilean adolescents]. *Rev Chilena Infectol*. 2012;29(6):600-6.
160. Demers AA, Shearer B, Severini A, Lotocki R, Kliewer EV, Stopera S, et al. Distribution of human papillomavirus types, cervical cancer screening history, and risk factors for infection in Manitoba. *Chronic Dis Inj Can*. 2012;32(4):177-85.
161. Lee CH, Peng CY, Li RN, Chen YC, Tsai HT, Hung YH, et al. Risk evaluation for the development of cervical intraepithelial neoplasia:

- Development and validation of risk-scoring schemes. *Int J Cancer*. 2015;136(2):340-9.
- 162.** Moore SP, Forman D, Píneros M, Fernández SM, de Oliveira Santos M, Bray F. Cancer in indigenous people in Latin America and the Caribbean: a review. *Cancer Med*. 2014;3(1):70- 80.
- 163.** WHO pushes first cervical cancer vaccine. *Public Health Rep*. 1999;114(3):211.
- 164.** Stoler MH, Wright TC, Jr., Sharma A, Zhang G, Apple R, Wright TL, et al. The interplay of age stratification and HPV testing on the predictive value of ASC-US cytology. Results from the ATHENA HPV study. *Am J Clin Pathol*. 2012;137(2):295-303.
- 165.** Wright TC, Jr., Behrens CM, Ranger-Moore J, Rehm S, Sharma A, Stoler MH, et al. Triaging HPV-positive women with p16/Ki-67 dual-stained cytology: Results from a sub-study nested into the ATHENA trial. *Gynecol Oncol*. 2017;144(1):51-6.
- 166.** Ge Y, Christensen P, Luna E, Armylagos D, Xu J, Schwartz MR, et al. Aptima Human Papillomavirus E6/E7 mRNA Test Results Strongly Associated With Risk for High-Grade Cervical Lesions in Follow-Up Biopsies. *J Low Genit Tract Dis*. 2018;22(3):195-200.
- 167.** Wright TC, Jr., Stoler MH, Behrens CM, Sharma A, Sharma K, Apple R. Interlaboratory variation in the performance of liquid-based cytology: Insights from the ATHENA trial. *Int J Cancer*. 2014;134(8):1835-43.
- 168.** Bulten J, de Wilde PC, Boonstra H, Gemmink JH, Hanselaar AG. Proliferation in "atypical" atrophic pap smears. *Gynecol Oncol*. 2000;79(2):225-9.
- 169.** Bulten J, de Wilde PC, Schijf C, van der Laak JA, Wienk S, Poddighe PJ, et al. Decreased expression of Ki-67 in atrophic cervical epithelium of post-menopausal women. *J Pathol*. 2000;190(5):545-53.
- 170.** Cendales R, Wiesner C, Murillo RH, Piñeros M, Tovar S, Mejía JC. [Quality of vaginal smear for cervical cancer screening: a concordance study]. *Biomédica*. 2010;30(1):107-15.

171. Killeen JL, Dye T, Grace C, Hiraoka M. Improved Abnormal Pap Smear Triage Using Cervical Cancer Biomarkers. *J Low Genit Tract Dis*. 2013.
172. Programa Nacional de Salud Reproductiva: Componente cérvico-uterino. Manual para tamizaje del cáncer cérvico-uterino. In: Social MdSPyA, editor. Ecuador: Ministerio de Salud Pública; 2006.
173. Guía Clínica Cáncer cérvico-uterino. In: MINSAL. C, editor. Santiago de Chile: Guías Clínicas NINSAL; 2010.
174. Kitchener HC, Castle PE, Cox JT. Chapter 7: Achievements and limitations of cervical cytology screening. *Vaccine*. 2006;24 Suppl 3:S3/63-70.
175. González-Andrade F, Sánchez D. HPV genotyping in anogenital abnormal samples of Ecuadorian women. *Cáncer Biomark*. 2009;5(4):225-32.
176. Cabezas E, Camacho T, Santana A, Borrajero I, Aguilar F, Romero T, et al. Programa Diagnóstico Precoz del Cáncer de Cuello del Útero en Cuba. Cabezas Cruz E, editor. La Habana, Cuba: Ministerio de Salud Pública de Cuba; 1999.
177. Anuario Estadístico de Salud 2018. Especial ed. La Habana: Oficina Nacional de Estadísticas e Información de la Dirección Nacional de Registros Médicos del Ministerio de Salud Pública de Cuba; 2019. p. 1-206.
178. Tracht J, Wrenn A, Eltoum IE. Primary HPV testing verification: A retrospective ad-hoc analysis of screening algorithms on women doubly tested for cytology and HPV. *Diagn Cytopathol*. 2017;45(7):580-6.
179. Flores YN, Bishai DM, Lorincz A, Shah KV, Lazcano-Ponce E, Hernandez M, et al. HPV testing for cervical cancer screening appears more cost-effective than Papanicolaou cytology in Mexico. *Cancer Causes Control*. 2011;22(2):261-72.
180. Badano I, Pedrozo RW, Ruiz Diaz LS, Galuppo JA, Picconi MA, Campos RH, et al. Detección del virus papiloma humano (HPV) y citología de Papanicolaou en mujeres de bajos recursos de la ciudad de Posadas, Misiones, Argentina. *Rev Argent Microbiol*. 2011;43(4):263-7.

181. Brown CR, Leon ML, Munoz K, Fagioni A, Amador LG, Frain B, et al. Human papillomavirus infection and its association with cervical dysplasia in Ecuadorian women attending a private cancer screening clinic. *Braz J Med Biol Res.* 2009;42(7):629-36.
182. Cabrera JA, Cárdena OJ, Campoverde MA, Ortiz JI. Prevalencia de genotipos del papiloma virus humano en mujeres de la provincia del Azuay, Ecuador. *MASKANA.* 2015;6(1):79-93.
183. Bruni L, Diaz M, Castellsague X, Ferrer E, Bosch FX, de Sanjose S. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J Infect Dis.* 2010;202(12):1789-99.
184. Aguilar-Lemarroy A, Vallejo-Ruiz V, Cortes-Gutierrez EI, Salgado-Bernabe ME, Ramos- Gonzalez NP, Ortega-Cervantes L, et al. Human papillomavirus infections in Mexican women with normal cytology, precancerous lesions, and cervical cancer: type-specific prevalence and HPV coinfections. *J Med Virol.* 2015;87(5):871-84.
185. Bruno A, Serravalle K, Travassos AG, Lima BG. [Genotype distribution of human papillomavirus in women from the state of Bahia, Brazil]. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2014;36(9):416-22.
186. Wang XC, Sun LQ, Ma L, Li HX, Wang XL, Wang X, et al. Prevalence and genotype distribution of human papillomavirus among women from Henan, China. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(17):7333-6.
187. Sun B, He J, Chen X, He M, He Z, Wang Y, et al. Prevalence and genotype distribution of human papillomavirus infection in Harbin, Northeast China. *Arch Virol.* 2014;159(5):1027-32.
188. Ortega-Cervantes L, Aguilar-Lemarroy A, Rojas-Garcia AE, Barron-Vivanco BS, Vallejo-Ruiz V, Leon DC, et al. Human papilloma virus genotypes in women from Nayarit, Mexico, with squamous intraepithelial lesions and cervical cancer. *International journal of health sciences.* 2016;10(3):327-38.

189. Guilarte-García E, Soto-Brito Y, Kourí-Cardellá V, Limia-León CM, Sánchez-Alvarez ML, Rodríguez-Díaz AE, et al. Circulation of Human Papillomavirus and Chlamydia trachomatis in Cuban Women. *MEDICC Review*. 2020;22(1):17-27.
190. Tornesello ML, Buonaguro L, Izzo S, López G, Vega X, Maldonado Reyes CF, et al. A pilot study on the distribution of human papillomavirus genotypes and HPV-16 variants in cervical neoplastic lesions from Ecuadorian women. *J Med Virol*. 2008;80(11):1959-65.
191. Alemany L, Saunier M, Tinoco L, Quiros B, Alvarado-Cabrero I, Alejo M, et al. Large contribution of human papillomavirus in vaginal neoplastic lesions: A worldwide study in 597 samples. *Eur J Cancer*. 2014;50(16):2846-54.
192. Vaccarella S, Soderlund-Strand A, Franceschi S, Plummer M, Dillner J. Patterns of human papillomavirus types in multiple infections: an analysis in women and men of the high throughput human papillomavirus monitoring study. *PLoS One*. 2013;8(8):716-17.
193. Romero-Morelos P, Uribe-Jimenez A, Bandala C, Poot-Velez A, Ornelas-Corral N, Rodriguez-Esquivel M. Genotyping of human papilloma virus in a group of Mexican women treated in a highly specialist hospital: Multiple infections and their potential transcendence in the current vaccination programme. *Med Clin (Barc)*. 2017;149((7)):287-92.
194. Wentzensen N, Schiffman M, Dunn T, Zuna RE, Gold MA, Allen RA, et al. Multiple human papillomavirus genotype infections in cervical cancer progression in the study to understand cervical cancer early endpoints and determinants. *Int J Cancer*. 2009;125(9):2151-8.
195. Wentzensen N, Nason M, Schiffman M, Dodd L, Hunt WC, Wheeler CM. No evidence for synergy between human papillomavirus genotypes for the risk of high-grade squamous intraepithelial lesions in a large population-based study. *J Infect Dis*. 2014;209(6):855-64.
196. De Brot L, Pellegrini B, Moretti ST, Carraro DM, Soares FA, Rocha RM, et al. Infections with multiple high-risk HPV types are associated with

- high-grade and persistent low-grade intraepithelial lesions of the cervix. *Cancer Cytopathol.* 2017;125(2):138-43.
- 197.** Salazar KL, Zhou HS, Xu j, Peterson LE, Schwartz MR, Mody DR, et al. Multiple Human Papilloma Virus Infections and Their Impact on the Development of High-Risk Cervical Lesions. *Acta Cytol.* 2015;59:391–8.
- 198.** Sobota RS, Ramogola-Masire D, Williams SM. Co-infection with HPV types from the same species provides natural cross-protection from progression to cervical cancer. *Infect Agent Cancer.* 2018 9(2):26-30.
- 199.** Giambi C, Donati S, Carozzi F, Salmaso S, Declich S, Atti ML, et al. A cross-sectional study to estimate high-risk human papillomavirus prevalence and type distribution in Italian women aged 18-26 years. *BMC Infect Dis.* 2013;13:74.
- 200.** de Oliveira GR, Vieira VC, Avila EC, Finger-Jardim F, Caldeira TD, Gatti FA, et al. Human papillomavirus type distribution and HPV16 intratype diversity in southern Brazil in women with and without cervical lesions. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2017;112(7):492-8.
- 201.** Bienkowska-Haba M, Luszczek W, Myers JE, Keiffer TR, DiGiuseppe S, Polk P, et al. A new cell culture model to genetically dissect the complete human papillomavirus life cycle. *PLoS Pathog.* 2018;14(3):e1006846.
- 202.** Schmitt M, Depuydt C, Benoy I, Bogers J, Antoine J, Arbyn M, et al. Multiple human papillomavirus infections with high viral loads are associated with cervical lesions but do not differentiate grades of cervical abnormalities. *J Clin Microbiol.* 2013;51(5):1458-64.
- 203.** Oyervides-Muñoz MA, Pérez-Maya AA, Sánchez-Domínguez CN, Berlanga-Garza A, Antonio-Macedo M, Valdéz-Chapa LD, et al. Multiple HPV Infections and Viral Load Association in Persistent Cervical Lesions in Mexican Women. *Viruses.* 2020;12(380):1-12.
- 204.** Wang W, Zhang X, Li M, Hao C, Liang H. Association between Vaginal Infections and the Types and Viral Loads of Human Papillomavirus: A Clinical Study Based on 4,449 Cases of Gynecologic Outpatients. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2020;2020.

205. Scarpini CG, Groves IJ, Pett MR, Ward D, Coleman N. Virus transcript levels and cell growth rates after naturally occurring HPV16 integration events in basal cervical keratinocytes. *J Pathol.* 2014;233(3):281-93.
206. Kim J, Kim BK, Jeon D, Lee CH, Roh JW, Kim JY, et al. Type-Specific Viral Load and Physical State of HPV Type 16, 18, and 58 as Diagnostic Biomarkers for High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions or Cervical Cancer. *Cancer Res Treat.* 2020;52(2):396-405.
207. Wu Z, Qin Y, Yu L, Lin C, Wang H, Cui J, et al. Association between human papillomavirus (HPV) 16, HPV18, and other HR-HPV viral load and the histological classification of cervical lesions: Results from a large-scale cross-sectional study. *J Med Virol.* 2017;89(3):535-41.
208. Del Río-Ospina L, Soto de Leon SC, Camargo M, Sánchez R, Moreno-Perez DA, Perez- Prados A, et al. Multiple high-risk HPV genotypes are grouped by type and are associated with viral load and risk factors. *Epidemiol Infect.* 2017;145(7):1479-90.
209. Barrios L, Benedetti I, Alvis L, Arroyo B. Conocimientos, actitudes y prácticas sobre la citología cérvico-uterina en mujeres de Sincelejo y Cartagena. Colombia. *Rev Cienc Biomed.* 2011;2(22):249-55.
210. Smith EM, Ritchie JM, Levy BT, Zhang W, Wang D, Haugen TH, et al. Prevalence and persistence of human papillomavirus in postmenopausal age women. *Cancer Detect Prev.* 2003;27(6):472-80.
211. Banister CE, Messersmith AR, Chakraborty H, Wang Y, Spiryda LB, Glover SH, et al. HPV prevalence at enrollment and baseline results from the Carolina Women's Care Study, a longitudinal study of HPV persistence in women of college age. *Int J Womens Health.* 2013;5:379-88.
212. Wiesner C, Acosta J, Diaz Del Castillo A, Tovar S. Social representations of human papillomavirus in Bogotá, Colombia. *Med Anthropol.* 2012;31(1):77-92.

213. de Sanjosé S, Wheeler CM, Quint WG, Hunt WC, Joste NE, Alemany L, et al. Age- specific occurrence of HPV16- and HPV18-related cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2013;22(7):1313-8.
214. Monsonogo J, Zerat L, Syrjanen K, Zerat JC, Smith JS, Halfon P. [Prevalence of genotype-specific HPV infection among women in France: implications for screening and vaccination]. *Gynecol Obstet Fertil.* 2013;41(5):305-13.
215. Dunne EF, Unger ER, Sternberg M, McQuillan G, Swan DC, Patel SS, et al. Prevalence of HPV infection among females in the United States. *JAMA.* 2007;297(8):813-9.
216. Howell-Jones R, de Silva N, Akpan M, Oakeshott P, Carder C, Coupland L, et al. Prevalence of human papillomavirus (HPV) infections in sexually active adolescents and young women in England, prior to widespread HPV immunization. *Vaccine.* 2012;30(26):3867-75.
217. Rysavy MB, Kresowik JD, Liu D, Mains L, Lessard M, Ryan GL. Human papillomavirus vaccination and sexual behavior in young women. *J Pediatr Adolesc Gynecol.* 2014;27(2):67-71.
218. Malagón T, Drolet M, Boily MC, Franco EL, Jit M, Brisson J, et al. Cross-protective efficacy of two human papillomavirus vaccines: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 2012;12(10):781-9.
219. Zahnd WE, Rodriguez C, Jenkins WD. Rural-Urban Differences in Human Papillomavirus-associated Cancer Trends and Rates. *J Rural Health.* 2019;35(2):208-15.
220. Raychaudhuri S, Mandal S. Socio-demographic and behavioural risk factors for cervical cancer and knowledge, attitude and practice in rural and urban areas of North Bengal, India. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012;13(4):1093-6.
221. Vinodhini K, Shanmughapriya S, Das BC, Natarajaseenivasan K. Prevalence and risk factors of HPV infection among women from various provinces of the world. *Arch Gynecol Obstet.* 2012;285(3):771-7.

- 222.** Marks M, Gravitt PE, Gupta SB, Liaw KL, Kim E, Tadesse A, et al. The association of hormonal contraceptive use and HPV prevalence. *Int J Cancer*. 2011;128(12):2962-70.
- 223.** Ramírez-López IG, Ramírez de Arellano A, Jave-Suárez LF, Hernández-Silva CD, García-Chagollan M, Hernández-Bello J, et al. Interaction between 17 β -estradiol, prolactin and human papillomavirus induce E6/E7 transcript and modulate the expression and localization of hormonal receptors. *Cancer Cell Int*. 2019;19:227.
- 224.** Cruz-Saco MA. Indigenous communities and social inclusion in Latin America. In: Societies UNEG FaI, editor. New York, USA Connecticut College; 2018



REDLIC | Red Editorial
Latinoamericana de
Investigación Contemporánea

A N E X O S

Anexo 1. Registro de Etnia del Ecuador

 Ministerio de Inclusión Económica y Social		DIRECCIÓN DE TALENTO HUMANO ACTUALIZACIÓN DE HOJA DE VIDA			
DATOS PERSONALES					
No. CEDULA	1308515301	GENERO:	MASCULINO	ETNIA:	MESTIZO
APELLIDOS	CEVALLOS ALVAREZ	NACIONALIDAD	ECUATORIANA		
NOMBRES	ALI EDUARDO	FECHA DE NACIMIENTO:	4/4/1984		
ESTADO CIVIL	SOLTERO / A	TIPO DE SANGRE:	B+	GENERO:	MASCU
CORREO ELECTRÓNICO	aeca_gpm@hotmail.com	DISCAPACIDAD:	NO	# CARNET	
INFORMACIÓN BANCARIA		INFORMACIÓN DE CONYUGE O CONVIVIENTE			
BANCO:	BANCO PACIFICO	APELLIDOS			
No. CTA:	1017433711	NOMBRES			
Tipo CTA:	AHORROS	CEDULA			
INFORMACIÓN DOMICILIARIA					
PROVINCIA	MANABI	CANTON	MANTA	PARROQUIA	Manta
CALLE PRINCIPAL:	AVENIDA FLAVIO REYES		BARRIO:	CORDOVA	TELÉFONO:
CALLE SECUNDARIA:	CALLE 20		No. CASA	S/N	CELULAR:
CONTACTO DE EMERGENCIA					
NOMBRES:	ALVAREZ MACIAS		PARENTESCO:	MADRE	TELÉFONO:
APELLIDOS:	YADIRA SEGUNDA				CELULAR:
INFORMACIÓN HIJOS / HIJAS					
CÉDULA	APELLIDOS	NOMBRES	FECHA DE NACIMIENTO		NIVEL DE INSTRUCCIÓN
ultimo (5)			27	8	2013
penultimo (4)			24	1	2013
antepenultimo (3)			24	1	2013
hijo (2)			24	1	2013
hijo(1)			24	5	2013
FAMILIAR CON DISCAPACIDAD					
	N: CONADIS		TIPO		PORCENTAJE
INFORMACIÓN ACADÉMICA FORMAL					
Nivel de Instrucción actual	No. Registro Senacyt	Institución Educativa	Area de Conocimiento	TITULO	No. años aprobados
TERCER-NIVEL	1029-09-967038	UNIVERSIDAD CATOLICA DE CUENCA	Teología - Pastoral Juvenil	Licenciado	5
CUARTO-NIVEL-ESPECIALI	1028-12-743195	U. CATOLICA SANTIAGO GUAYAQUIL	Gestión de Marketing	Diplomado	8 meses
EVENTOS DE CAPACITACIÓN					
NOMBRE DEL EVENTO/TEMA	Tipo	AUSPICIANTE / Empres o Institución	HORAS	FECHA DE INICIO	FECHA DE FIN
Gobernabilidad y Seguridad Ciudadana	CURSO	IAEN - MINISTERIO DEL INTERIOR	96	01/06/2012	24/08/2012
TIPO DE CERTIFICACION	ASISTENCIA	CERTIFICADO POR	IAEN - MINISTERIO DEL INTERIOR		
NOMBRE DEL EVENTO/TEMA	Tipo	AUSPICIANTE / Empres o Institución	HORAS	FECHA DE INICIO	FECHA DE FIN
Contratación Pública Actualización	TALLERES	ASSESORATO	16	24/05/2011	25/05/2011
TIPO DE CERTIFICACION	ASISTENCIA	CERTIFICADO POR	ASSESORATP		
NOMBRE DEL EVENTO/TEMA	Tipo	AUSPICIANTE / Empres o Institución	HORAS	FECHA DE INICIO	FECHA DE FIN
Reglamento a la Ley de Contratación	TALLERES	Enfoque Gerencial	12	03/09/2010	04/09/2010
TIPO DE CERTIFICACION	ASISTENCIA	CERTIFICADO POR	Enfoque Gerencial		
NOMBRE DEL EVENTO/TEMA	Tipo	AUSPICIANTE / Empres o Institución	HORAS	FECHA DE INICIO	FECHA DE FIN
Imagen Personal y Profesional	TALLERES	LIDERAZGO - AB/IMAGEN & CEREMON	32	23/09/2009	25/09/2009
TIPO DE CERTIFICACION	ASISTENCIA	CERTIFICADO POR	LIDERAZGO - AB/IMAGEN & CEREMONIAL		
NOMBRE DEL EVENTO/TEMA	Tipo	AUSPICIANTE / Empres o Institución	HORAS	FECHA DE INICIO	FECHA DE FIN
Gobernabilidad y Gerencia Política	OTRO	CAF - UCSG - George Washington	400	01/07/2007	31/12/2007
TIPO DE CERTIFICACION	ASISTENCIA	CERTIFICADO POR	CAF - UCSG - George Washington U.		
ANTECEDENTES SERVICIO PÚBLICO					
FECHA DE INGRESO POR PRIMERA VEZ SECTOR PÚBLICO	7	JUNIO	2007	TIPO	SERVICIOS OCACIONALES
TRAYECTORIA LABORAL (ÚLTIMA)					
TIPO DE INSTITUCION	PÚBLICA	NOMBRE:	Ministerio del Interior		
AREA/UNIDAD	Dirección Nac. de Seguridad Ciudadana		PERIODO:	DESDE:	11/09/2011
			HASTA:	31/12/2012	
TRAYECTORIA LABORAL (PENÚLTIMA)					
TIPO DE INSTITUCION	PÚBLICA	NOMBRE:	Gobierno Provincial de Manabí		
AREA/UNIDAD	Administración General		PERIODO:	DESDE:	01/08/2007
			HASTA:	31/05/2011	
TRAYECTORIA LABORAL (3)					
TIPO DE INSTITUCION	PRIVADA	NOMBRE:	Naviera MARNIZAM CIA. LTDA.		
AREA/UNIDAD	GERENCIA		PERIODO:	DESDE:	01/05/2008
			HASTA:	31/04/2010	
TRAYECTORIA LABORAL (2)					
TIPO DE INSTITUCION	PRIVADA	NOMBRE:	Intermediación de Personal - INTERMEDIATE S.A.		
AREA/UNIDAD	GERENCIA		PERIODO:	DESDE:	01/01/2008
			HASTA:	31/04/2008	
TRAYECTORIA LABORAL (1)					
TIPO DE INSTITUCION	PRIVADA	NOMBRE:	Expertos en Personal S.A. - EXPERSONAL		
AREA/UNIDAD	GERENCIA		PERIODO:	DESDE:	01/07/2007
			HASTA:	31/12/2007	
INFORMACION LABORAL					
INGRESO	MIES	FECHA DE INGRESO	02/01/2013	MODALIDAD DE TRABAJO	LIBRE REMOCIÓN
LUGAR DE TRABAJO					
COORDINACION ZONAL	ZONA 4	DIRECCION DISTRITAL	CHONE	GRUPO OCUPACIONAL	DIRECTOR TECNICO DE AREA
DENOMINACION DEL PUESTO	DIRECTOR				DIRECTOR DISTRITAL CHONE
NOMBRE JEFE SUPERIOR	XAVIER COBEÑA ANDRADE			GRACIAS POR SU COLABORACION	

Nota: Se utilizó como muestra para el ANEXO 1 un registro de Etnia del Ecuador de un ciudadano masculino, no involucrado en la investigación, que dio su consentimiento para utilizar este documento y para evitar exponer la identidad de mujeres participantes en el estudio.

Anexo 2. Modelo de recogida de la información (cuestionario) para mujeres participantes en el estudio

Modelo de recogida de la información (cuestionario) para mujeres participantes en el estudio

Fecha de toma de muestra Tipo de Muestra Muestra tomada por Indígena Urbana

I- DATOS PERSONALES.

Nombre y Apellidos: _____
 Fecha de nacimiento: _____ Edad: _____ Número de Caso _____
 Cédula #: _____ Dirección: _____
 Lugar de Trabajo: _____ Teléfono: _____

II-ULTIMO GRADO DE ESCOLARIDAD ALCANZADO.

Analfabeta__ Primario__ Secundaria__ Universitario__ Postgrado__

III-SITUACIÓN LABORAL.

Ama de casa__ Estudiante__ Obrera__ Agricultora__ Profesional__

IV-ESTADO CIVIL.

Soltera__ Casada__ Viuda__ Unión Consensual__

V-HISTORIA ANTICONCEPTIVA.

a: (actual)

DIU__ Progesten +Estradiol__ Progest__ Control__ Tiempo de uso _____

b: (anterior a la actual)

DIU__ P+E__ P__ Condón _____ Tiempo de uso _____

VI-HISTORIA OBSTÉTRICA.

Edad de la primera menstruación _____
 Última menstruación (fecha) _____
 Trastornos Menstruales _____ Metrorragia _____ Leucorrea _____ Prurito _____

Menopausia _____ Espontánea _____
 Quirúrgica _____ Total _____
 Parcial _____

Edad de inicio de las primeras relaciones sexuales _____
 Embarazos _____ Primer parto _____ Total _____ Abortos Espontáneos _____
 Normales _____ Provocados _____
 Patológicos _____

Número de parejas sexuales referidas en los últimos dos años _____

VII-HISTORIA GINECOLÓGICA y de ITS.

a) Antecedentes de enfermedades ginecológicas de naturaleza infecciosa:

Condiloma__Gonorrea__Monilias__Sifilis__Trichomonas__Herpes Genital____

Herpes Oral_____

Otras_____

Actuales ITS_____

b) Antecedentes de prueba citológica alterada: Si__No__

c) Antecedentes de cirugía cervical: Si__No__

d) Antecedentes de colposcopia positiva Si__No__

VIII-HABITOS TÓXICOS (en los últimos 10 años): a) Cigaro____ b) Alcohol____

IX-ALIMENTACIÓN SANA Si____ No____

IX-RESULTADOS:

Prueba citológica (Descripción que incluye lesión y otras alteraciones cérvico-vaginales)

Hallazgos al examen ginecológico, examen físico y entrevista (Descripción de todos los signos y síntomas)

Tipos de PVH por Genómica

Anexo 3. Forma de Consentimiento informado

La que suscribe:_____.

Se me ha explicado que el Virus del Papiloma Humano está asociado con alteraciones en células del cuello del útero y puede provocar cáncer cervicouterino. Resulta muy importante entonces reconocer la presencia o no del virus en las mujeres y el diagnóstico de la citología cervical, realizada por el especialista que participa en la presente investigación. Se me ha dicho que esta investigación se titula: **Infeción por Virus del Papiloma Humano y su asociación con variables virológicas, clínico-epidemiológicas y sociodemográficas en dos comunidades de la provincia del Cañar, Ecuador.**

Se me ha informado que seré incluida en un estudio y me someteré a una prueba citológica y a una toma de muestras del cuello uterino para el diagnóstico del Virus del Papiloma Humano. Las muestras serán tomadas por personal calificado y entrenado para tales tareas y se realizará con todas las condiciones de higiene para evitar infecciones y con materiales descartables. Igualmente, se me ha informado que puedo aceptar o no. La información obtenida será del conocimiento de los médicos e investigadores participantes en la investigación y los datos personales de los pacientes no serán divulgados. Mi identidad no puede ser revelada y los datos clínicos y microbiológicos permanecerán en forma confidencial, a menos que sean solicitados por Ley. Los resultados de este estudio pueden ser publicados.

El posible beneficio que tendré de este estudio es que se podrá establecer el diagnóstico citológico y de la infección viral y el genotipo, si estuviera infectada, lo que permitirá un seguimiento adecuado.

De acuerdo a las informaciones recibidas, se me ha solicitado el consentimiento de participación y se han respondido mis preguntas y aclarado mis dudas. Además, queda claro que puedo ser excluida del estudio en el momento que lo desee y estime conveniente. Por tanto, he aceptado mi inclusión y para que así conste firmo conjuntamente con los investigadores principales en el estudio.

Nombre y Apellidos de la participante en el estudio:

Firma del padre o tutor de la participante en el estudio, si fuera menor de edad:

Nombre y Apellidos del testigo: _____ Firma: _____

Yo, _____ Doctora en Medicina y Cirugía,
Máster en docencia universitaria e investigación socio-educativa, Master en atención integral del adolescente, Docente investigadora, por medio de la presente declaro haberle explicado a la paciente todo lo relacionado con este estudio e igualmente certifico que la misma ha participado de forma absolutamente voluntaria.

Firmo la presente: _____

Fecha: _____

Investigador Principal

Firma

LISTADO DE ABREVIATURAS

- ~ ADN: ácido desoxirribonucleico
- ~ ASC: células escamosas atípicas (del inglés, atypical squamous cells)
- ~ ASC-H: células escamosas atípicas de significado indeterminado que no excluye lesión de alto grado (del inglés, atypical squamous cells of undetermined significance cannot exclude HSIL)
- ~ ASC-US: células escamosas atípicas de significado indeterminado (del inglés, atypical squamous cells of undetermined significance)
- ~ ATP: ácido trifosfatado
- ~ CaCU: cáncer cervicouterino
- ~ CIOMS: Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (del inglés, Council for International Organizations of Medical Sciences), entidad en la esfera de la Organización Mundial de la Salud.
- ~ dNTPs: desoxirribonucleótidos trifosfatos
- ~ E: temprano (del inglés, early)
- ~ EGF: factor de crecimiento epidérmico (del inglés, epidermal growth factor)
- ~ EMA: Agencia Europea de Medicamentos (del inglés, European Medicines Agency)
- ~ FDA: Agencia de Drogas y Alimentos (del inglés, Food and Drugs Administration Agency)
- ~ IC: intervalo de confianza
- ~ INEC: Instituto Nacional de Estadísticas y Censos
- ~ ITS: infecciones de transmisión sexual
- ~ L: tardío (del inglés, late)
- ~ LCR: región larga de control (del inglés, long control region)
- ~ LIE: lesiones intraepiteliales cervicales
- ~ LIEA: lesiones intraepiteliales cervicales de alto grado

- ~ LIEB: lesiones intraepiteliales cervicales de bajo grado
- ~ LSIL: lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (LSIL del inglés, low grade squamous intraepithelial lesion)
- ~ HSIL: lesión escamosa intraepitelial de alto grado (HSIL del inglés, high grade squamous intraepithelial lesion)
- ~ MAL: marco abierto de lectura
- ~ MHC: complejo mayor de histocompatibilidad (del inglés, major histocompatibility complex)
- ~ MSP: Ministerio de Salud Pública
- ~ NIC: neoplasia intraepitelial cervical
- ~ NILM: Negativa para lesión intraepitelial o malignidad, (NILM del inglés, negative for intraepithelial lesion or malignancy) y anomalías de células escamosas
- ~ OMS: Organización Mundial de la Salud
- ~ OPS: Organización Panamericana de la Salud
- ~ OR: razón de productos cruzados (del inglés, odd ratio)
- ~ pb: pares de base
- ~ pRb: proteína del Retinoblastoma.
- ~ RCP: Reacción en Cadena de la Polimerasa
- ~ RCP-TR: Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real
- ~ RNT: Registro Nacional de Tumores
- ~ SCC: carcinoma de células escamosas (SCC del inglés, squamous cells carcinoma) SIL: lesión escamosa intraepitelial (SIL del inglés, squamous intraepithelial lesion) SOLCA: Sociedad de Lucha Contra el Cáncer
- ~ UEC: unión escamo-columnar
- ~ VB: vaginosis bacteriana
- ~ VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana
- ~ VLPs: partículas similares a virus (del inglés, virus like particles)
- ~ VP: Virus del Papiloma
- ~ VPH: Virus del Papiloma Humano

- ~ VPH-AR: Virus del Papiloma Humano de alto riesgo oncogénico
- ~ VPH-BR: Virus del Papiloma Humano de bajo riesgo oncogénico

LOS AUTORES



Julia Irma Carrión Ordóñez
Doctora en Medicina y Cirugía
Magister en Docencia Universitaria e
Investigación educativa
Magister en Salud Integral del Adolescente
Doctora en Ciencias biológicas



Sara Elizabeth Bravo Salinas
Médico general
Especialista en Medicina Familiar y Comunitaria
Máster en Atención de pacientes con VIH
Especialista en Docencia Universitaria

LOS AUTORES



**Fabian Alejandro Escandón
Carrión**
Médico General



**María Augusta Escandón
Carrión**
Médico general



El virus del papiloma humano constituye un grupo de virus relacionados entre sí, que se caracteriza por la presencia de verrugas en diferentes partes del cuerpo con mayor predominio en la región genital ya que su forma de transmisión más frecuente es por relaciones sexuales. Se estudió la frecuencia de infección por Virus del Papiloma Humano (VPH) y genotipos circulantes en dos comunidades (rural y urbana) del cantón Cañar, Ecuador; así como su relación con variables virales, clínico-epidemiológicas y sociodemográficas. Se incluyeron 200 mujeres (100 de cada comunidad) entre 15 y 55 años de edad.

Se analizaron muestras cervicales mediante Papanicolaou, amplificación de ADN para genotipado y carga viral. Resultó una frecuencia de infección del 42,5% (85/200) y predominio de tipos oncogénicos, con superioridad en mujeres de la zona urbana (51%). Se obtuvo 11% (22/200) de casos con alteraciones citológicas, mayormente lesiones de bajo grado (6%; 12/200). Los VPH31, 58, 66 y 59 fueron los más frecuentes, el VPH16 fue superior en mujeres rurales. La carga viral de VPH fue mayor en mujeres urbanas, excepto para VPH16. Hubo diferencias significativas entre los valores de carga viral de las lesiones cervicales de alto y bajo grado. El hábito de fumar, uso de anticonceptivos y los antecedentes de infecciones de transmisión sexual se asociaron a la infección viral ($p < 0,05$).

Se observaron diferencias entre los factores de riesgo en mujeres rurales y urbanas. La elevada frecuencia de VPH oncogénico indica la necesidad de incorporar la población del cantón Cañar a los programas de detección precoz del cáncer cervicouterino y al programa de vacunación.

Este estudio confirma la elevada prevalencia de genotipos oncogénicos de VPH en los grupos de mujeres estudiadas, indicando la necesidad de introducir el diagnóstico molecular de este agente viral, como parte de la pesquisa y detección precoz del CaCU. Además, se demuestra la presencia de lesiones intraepiteliales cervicales en las mujeres estudiadas, así como una alta prevalencia de virus oncogénicos, con un patrón diferente al de varias regiones de Latinoamérica, elementos que permiten alertar al sistema de salud del Ecuador sobre la necesidad de introducir métodos moleculares de pesquisa y la aplicación de la vacunación contra el VPH en esta comunidad.

La asociación entre el incremento de la carga viral de VPH oncogénico con el aumento del grado de las lesiones cervicales, que se evidencia en el estudio, pudiera permitir el empleo de este marcador viral como un predictor de severidad de la enfermedad.

Los resultados obtenidos sobre la relación entre las variables sociodemográficas y clínico-epidemiológicas y la infección viral, contribuyen al conocimiento sobre la influencia de los estilos de vida, la educación sexual y reproductiva de la población, el papel de la atención primaria de salud y la necesidad de actualizar los programas para el control de las ITS y la detección precoz del CaCU.

ISBN: 978-9942-7159-7-5



9 789942 715975