

ARTICULO

Infección por virus del papiloma humano (VPH) en una población indígena del Amazonas venezolano

Graciela Nicita^{1,2}, Aldo Reigosa^{1,3}, José Torres⁴, Carmen Vázquez⁵, Yolima Fernández¹, Maritza Álvarez⁶, Nancy Núñez¹, Magda Magris⁷.

¹ Centro de Investigaciones Médicas y Biotecnológicas de la Universidad de Carabobo (CIMBUC).

² Departamento de Investigación y Desarrollo Profesional, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo.

³ Departamento de Morfofisiopatología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo.

⁴ Instituto de Altos Estudios Dr. Arnoldo Gabaldón.

⁵ Escuela de Medicina, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo.

⁶ Laboratorio Genomik, Maracay, Estado Aragua.

⁷ Centro Amazónico de Investigación y Control de Enfermedades Tropicales "Simón Bolívar", Puerto Ayacucho, Estado Amazonas.

Correspondencia: Aldo Reigosa

E-mail: areigosa@uc.edu.ve

Recibido: Junio 2009 **Aceptado:** Enero 2010

RESUMEN

El cáncer cervicouterino (CaCu) constituye un problema de salud pública mundial. En Venezuela, representa la segunda causa de muerte por cáncer en mujeres en edad reproductiva. Estudios epidemiológicos han identificado una estrecha relación entre el CaCu y la infección por el virus del papiloma humano (VPH), que hoy día constituye la enfermedad de transmisión sexual de más prevalencia a nivel mundial. Previamente se han reportado lesiones producidas por VPH en poblaciones indígenas de la amazonia suramericana brasileña y boliviana en hasta un 29% de las mujeres. El propósito de este estudio fue determinar infección por VPH y conjuntamente realizar la pesquisa de CaCu a través de citología convencional en el Estado Amazonas venezolano. Se estudiaron 57 mujeres de las etnias Yekwana, Piaroa y Arawaco, comunidades del municipio Alto Orinoco. Se encontró la presencia de ADN asociado a VPH en 35,09 % de la muestra estudiada, 45% mostró secuencias de ADN asociadas VPH-16 y VPH-33 (alto riesgo) y 55% para las cepas de bajo riesgo (VPH-6 y VPH-11). Se

concluyó que un porcentaje significativo de la población indígena del Estado Amazonas venezolano posee un riesgo elevado de desarrollar CaCu.

Palabras clave: VPH, cáncer cervicouterino, poblaciones indígenas, Amazonas.

ABSTRACT

Human papillomavirus (HPV) infection in an indigenous population of the Venezuelan Amazon.

Uterine cervix cancer (UCC) constitutes a public health problem around the world. In Venezuela, it represents the second cause of death from cancer in women of reproductive age. Epidemiological studies have identified a close relationship between UCC and human papillomavirus (HPV) infection, which nowadays constitutes the most prevalent sexually transmitted disease world-wide. Previous studies have reported HPV lesions in indigenous populations of Brazilian and Bolivian South American Amazon in up to 29% of women. The aim of this study was to determine the presence of HPV infection and, at the same time, perform UCC screening through conventional cytology in Venezuela's Amazonas State. The study included 57 women from the Yekwana, Piaroa and Arawaco ethnic groups, from the High Orinoco Municipality. DNA associated to HPV was found in 35.09% of the sample studied, 45% showed DNA sequences of HPV-16 and HPV-33 (high risk), and 55% for the low-risk types (HPV-6 and HPV-11). In conclusion, a significant percentage of the indigenous population from Amazonas State in Venezuela has an elevated risk to develop UCC.

Key words: HPV, uterine cervix cancer, indigenous population, Amazon.

INTRODUCCIÓN

El cáncer cervicouterino (CaCu), constituye un problema de salud pública alrededor del mundo, anualmente se diagnostican cerca de 500.000 casos y mueren alrededor de 250.000 mujeres por esta causa. Aproximadamente 83% de estos casos y muertes ocurren en países en desarrollo. Cuando se cuenta con métodos de tamizaje en mujeres asintomáticas, junto con un diagnóstico, tratamiento y seguimiento apropiado, la enfermedad invasora es totalmente prevenible y curable, a un bajo costo y con un bajo riesgo. No obstante, los programas de prevención en América Latina y el Caribe han tenido poco o ningún éxito (1,2).

Para el año 2002, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC), estimó 71.862 nuevos casos y 32.639 muertes por cáncer del cuello uterino en América Latina y el Caribe (3).

En Venezuela, el CaCu representa la segunda causa de muerte por cáncer en mujeres en edad reproductiva, con una incidencia de 3.659 casos diagnosticados y 1.612 muertes registradas para el año 2.005 y aumentando la mortalidad a 2.141 para el año 2006. En este mismo año, en el estado Amazonas, el CaCu registró el 3,7% de las muertes por cáncer (1,4,7).

Estudios epidemiológicos han identificado una estrecha relación entre el cáncer de cuello uterino y la infección por el virus del papiloma humano (VPH), la cual

hoy día constituye la infección de transmisión sexual más prevalente a nivel mundial (8).

Estudios previos reportan una prevalencia de lesiones producidas por VPH en poblaciones indígenas de la amazonia suramericana brasileña y boliviana, así como en otras poblaciones indígenas, que va desde el 2% hasta el 29% (3,9,10).

El VPH se divide en dos grandes grupos dependiendo del riesgo que tienen de provocar lesiones cancerosas: alto y bajo riesgo. En este sentido, entre los genotipos de VPH considerados de bajo riesgo se encuentran: 6, 11, 40, 42, 53, 54 y 57. Estos pueden provocar verrugas genitales, también llamadas condilomas acuminados o cresta de gallo, y cambios leves en el cuello uterino que generalmente no conducen a cáncer y desaparecen espontáneamente con el tiempo (11,12).

Los VPH de alto riesgo son los que se encuentran con mayor frecuencia asociados al CaCu e incluyen los genotipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56 y 58. Por lo general, la infección por este tipo de virus provoca infecciones persistentes que conducen a cambios celulares, los cuales con el tiempo, pueden conducir al cáncer. Sólo la infección persistente por VPH de alto riesgo aumenta la posibilidad de desarrollar cáncer (11,12).

Los cambios morfológicos que produce la infección por el VPH constituyen un espectro de lesiones que van desde alteraciones celulares transitorias, pasando por cambios neoplásicos intraepiteliales de diverso grado, hasta llegar al carcinoma invasivo (13).

La selva pluvial amazónica ocupa el corazón de América del Sur y es un tesoro de diversidad biológica. En Venezuela, el estado Amazonas constituye un espacio geográfico donde conviven diversas etnias en territorios ancestralmente delimitados. El municipio Alto Orinoco, alberga dentro de su extensión tres parques nacionales, entre ellos el más grande de Venezuela, el Parima-Tapirapecó, el cual constituye la reserva de biosfera de bosque tropical más grande del mundo (14).

La Esmeralda es la capital de municipio, donde conviven criollos e indígenas de diferentes etnias, tales como Piaroa, Jiwi, Curripaco, Yekwana, Arawuaco (Baniwa y Bare) y Yanomami. Las características geográficas de la región y socioculturales de la población del Alto Orinoco, dificultan el cumplimiento de los programas de salud. La población se encuentra dispersa en 45.000 km² de selva húmeda tropical y sabana, que dificulta el acceso a los servicios de salud y programas de control, entre ellos el Programa de Control de despistaje de CaCu (15,16).

Por todo lo anterior y ante la ausencia de estudios sobre el riesgo de CaCu en poblaciones indígenas del país, se planteó realizar esta investigación en comunidades del municipio Alto Orinoco del Amazonas venezolano, a fin de determinar infección por VPH y conjuntamente realizar la pesquisa de CaCu a través de citología convencional.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en 57 mujeres provenientes de etnias del Amazonas venezolano: Yekwana, Piaroa y Arawaco, las cuales acudieron al Ambulatorio Rural tipo II de “La Esmeralda”, situado en la capital del Municipio Alto Orinoco, en el Estado Amazonas y en el Ambulatorio rural Tipo I de Tama-Tama ubicado a 18 kilómetros al este de la comunidad La Esmeralda. Cabe destacar, que las localidades de Tama-Tama y La Esmeralda favorecían la accesibilidad y factibilidad de la investigación planteada (Figura 1).

Debido a las características socioculturales propias de las comunidades en estudio, para tomar las muestras a cada una de las pacientes, se solicitó previamente el consentimiento al chamán o capitán de la etnia y luego, a la paciente. Las pacientes fueron evaluadas por el personal médico acompañado de agentes comunitarios en atención primaria en salud bilingües pertenecientes a etnias locales.

Se obtuvieron dos muestras: una para citología cervical convencional utilizando espátula e hisopo, muestra que posteriormente fue teñida por el método de Papanicolaou; y otra para la detección y genotipaje de VPH mediante la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), empleando un hisopo estéril, el cual fue colocado en un tubo Eppendorf de 1,5 ml y preservado a 4°C hasta ser procesado en el laboratorio Genomik ubicado en Maracay, Estado Aragua.

Las citologías se procesaron in situ y se informaron momentos después de su toma. De acuerdo a los resultados, se les indicó tratamiento el mismo día en los casos necesarios.

MAPA DEL MUNICIPIO ALTO ORINOCO



Figura 1. Ubicación de poblado de La Esmeralda en el estado Amazonas.
Fuente: www.amazonas.gob.ve

Detección de VPH y genotipaje. La PCR se realizó en tres etapas: 1) preparación de la muestra, 2) ensamblaje de la reacción y 3) visualización del producto. A cada muestra colocada en un tubo de reacción con 45 μ L de la solución β -globina, se le añadió 5 μ L de ADN extraído, colocándose en un termociclador PTC- 100 De M.J-Research, Inc. (para los cebadores S7/S8), con los siguientes ciclos: 4 minutos a 94 °C donde se llevó a cabo el primer ciclo de desnaturalización, 30 segundos a 94 °C para completar el ciclo de desnaturalización, 1 minuto a 55 °C para el ciclo de hibridación de los cebadores en el ADN, 90 segundos a 72°C para la extensión, y 10 minutos a 72°C para la extensión final. En un gel de agarosa al 2 % preparado en solución 0,045 mol/L Tris Borato, 0,001 mol/L EDTA, pH 8,0 (TBE 1X) más bromuro de etidio 0,5 μ g/mL se colocó una mezcla con 7 μ L del producto amplificado y 2 μ L de solución de carga, incluyendo 0,5 μ g de marcador de peso molecular 100 pares de bases (pb) DNA Ladder (Promega), para correrlos en electroforesis de 120 voltios por 1 hora. Las bandas se visualizaron en un transiluminador de luz ultravioleta.

Se consideraron positivos los que tuvieron una talla amplificada de 230 pb correspondiente al genoma del VPH. Se realizó una mezcla con 5 μ L de las muestras en las cuales se obtuvo ADN amplificable con β -globina, más un tubo de reacción para cada una de ellas, se utilizaron los cebadores de la L1 dentro del ORF denominado MY09 y MY11, que amplificó una talla de 450 pb y se empleó como control positivo a la dilución de células Hela (entre 20 y 40 copias de VPH-18 por célula) y como control negativo ADN de células humana que no contiene el genoma de VPH. La sensibilidad se estimó en 10 células Hela. Para la amplificación se utilizó una mezcla suministrada por el kit PVHFast. De las muestras amplificadas positivas para VPH se tomaron 27 μ L y se les añadió 2,5 μ L de la enzima 1 de restricción resuspendiendo varias veces; posteriormente se tomaron 15 μ L de esta mezcla y se agregó 1 μ L de la enzima 2 de restricción; se incubaron los tubos de Enzima 1 y Enzima 1 + Enzima 2 por 2 horas; posteriormente se añadió a cada tubo 3 μ L de solución de carga, colocándose esta mezcla en un gel de agarosa de alta resolución al 2,5 % en TBE 1X más bromuro de etidio a 0,5 μ g/mL. Se incluyó 0,5 μ g del marcador de peso molecular 100 pb ADN Ladder y se corrió por electroforesis a 80 voltios por 1 hora. La banda amplificada de ADN de VPH de 450 pb se digiere originando un patrón de banda en función del genotipo viral y se analiza de acuerdo al patrón de restricción suministrado por el fabricante de PVH fast (17).+

Los resultados fueron analizados mediante métodos estadísticos descriptivos utilizando el programa SPSS, versión 12.0.

RESULTADOS

La edad promedio de las 57 pacientes fue de 34,5 años. El 94,7% pertenecían a las etnias: Yekwana y Piaroa, con edad promedio de 31,8 (rango de 16 a 57 años) y 40,2 (rango de 16 a 85 años) años, respectivamente. Las tres pacientes de la etnia Arawaco tenían 29, 31 y 41 años.

En el estudio de la citología, una sola paciente resultó con alteraciones compatibles con infección por VPH. Al realizar la identificación y tipificación de la infección a través de PCR se evidenció la presencia de ADN asociado a VPH en el 35,09% de la población estudiada (tabla 1).

Tabla 1. Diagnóstico citológico y molecular de infección por VPH según etnia

Etnia (n)		Técnica diagnóstica de VPH			
		Citología		PCR	
		Negativo	Alterada (%)	Negativo	Positivo (%)
Yekwana (36)	35	1 (2,78)	23	13 (36,11)	
Piaroa (18)	18	0	11	7 (38,89)	
Arawaco (3)	3	0	3	0	
Total	57	56	1 (1,75)	37	20 (35,09)

En la tabla 2 se observa la distribución de los diferentes tipos de VPH encontrados, evidenciándose 45% de tipos de alto riesgo y 55% de bajo riesgo.

Tabla 2. Genotipaje del virus papiloma humano (VPH) por etnia

Etnia		Riesgo			
		Alto		Bajo	
		VPH-16 (%)	VPH-33 (%)	VPH-6 (%)	VPH-11 (%)
Yekuana	13	3 (23,08)	2 (15,38)	6 (46,15)	2 (15,38)
Piaroa	7	1 (14,29)	3 (42,86)	3 (42,86)	0
Total	20	4 (20)	5 (25)	9 (45)	2 (10)

DISCUSIÓN

El CaCu es el cáncer más frecuente en mujeres de países en desarrollo, y más de 90% de los casos en el mundo guarda una estrecha relación con la infección por ciertos tipos de VPH (18).

En este estudio, utilizando la técnica de PCR para VPH, se detectaron 20 casos positivos (35%), siendo los más comunes los genotipos de bajo riesgo 6 y 11 que representan el 55% de los casos. Los tipos de alto riesgo 16 y 33 se encuentran entre los virus más frecuentemente asociados a las lesiones neoplásicas intraepiteliales (1,3).

En este sentido, Cervantes y col., 2003 (19) señalan en un estudio de VPH en la amazonia boliviana un mayor porcentaje de casos de bajo riesgo (75%), aunque el número de casos con genotipaje es bajo (8 casos).

Los resultados expuestos pueden sugerir un cambio en el patrón cultural y de interacción social de la población en estudio; en estas poblaciones indígenas se han residenciado criollos, favoreciendo y promocionando el intercambio con centros urbanos, lo cual se traduce en la generación de nuevas patologías no característica de esas poblaciones. La alteración de los hábitos y costumbres incluyen todos los aspectos de la vida social de los habitantes, entre ellos: cambios en los hábitos alimenticios, psicosociobiológicos y de la conducta sexual, los cuales pueden tener impacto sobre la incidencia del CaCu. Además, como sugiere una investigación previa, el aumento del contacto entre la población urbana y aborígen, trae como consecuencia un incremento sustancial de enfermedades respiratorias y de transmisión sexual (19).

Esta investigación representa el primer estudio de campo en la zona indígena de la amazonia venezolana, los resultados obtenidos tienen carácter preliminar y proporcionan datos de suma utilidad para los organismos de salud. A su vez, este hallazgo del 35% de infección por VPH en la población indígena sugiere la necesidad de estudios masivos y exhaustivos en la población amazónica que comparten similares entornos culturales.

Estos datos sugieren la necesidad del cumplimiento de las políticas de acción en el campo de las enfermedades de transmisión sexual de forma continua y constante, conjuntamente con las estrategias de prevención e información comunitaria de dichas patologías. Para ello es fundamental la integración de: promotores de salud (personal indígena capacitado para la promoción en el primer nivel de atención en salud), enfermeros, auxiliares de medicina simplificada (personal indígena capacitado para la prevención, diagnóstico y atención de patologías básicas en el nivel primario de atención) vinculados a los distintos centros asistenciales, de forma que puedan adaptar las políticas emitidas desde un nivel central con las realidades socioculturales de cada región.

La integración de estos miembros del sistema de salud debe ser acompañada de programas de entrenamiento y capacitación para la toma de muestra citológica por parte del personal de salud. Se demuestra además, la necesidad de formación de personal especializado en la región para el diagnóstico de las mismas, lo cual garantizaría, no solo el desarrollo local, sino el aumento en el nivel de confianza en el sistema público de salud por parte de la población, lo cual se traduciría en un cumplimiento mas efectivo del programa. Indudablemente, debe desarrollarse y mantenerse en el tiempo un programa que garantice el diagnóstico preciso (biopsia) y tratamiento adecuado. No se hace nada si se realiza la pesquisa citológica y luego no se puede ejecutar la conducta adecuada en cada caso.

En conclusión, la población en estudio se encuentra en un alto riesgo de desarrollar lesiones neoplásicas de cuello uterino, pues se encontró un número considerable de genotipos de VPH de alto riesgo, que aun sin tener lesiones evidentes por clínica y citología, ameritan un seguimiento médico. Por tal

motivo se hace relevante elaborar de los programas preventivos de CaCu (que incluyan pruebas de citología y PCR), adaptados a la realidad local, para así no solo detectar los casos de alto riesgo, sino también, la evolución de la infección en la población en estudio.

AGRADECIMIENTOS *A la Fuerza Aérea Venezolana, por su valiosa colaboración en el transporte del personal de la Universidad de Carabobo. A las autoridades del Estado Amazonas, tanto locales como regionales, por su apoyo en la logística de campo. Al personal indígena de los Ambulatorios Rurales del Alto Orinoco, por su colaboración y apoyo en la comunicación con los indígenas. A todas las comunidades indígenas que participaron (Yekwana, Piara y Arawaco) por su disposición a participar en el estudio.*

BIBLIOGRAFÍA

1. Muñoz N, Reina J, Sánchez G. La vacuna contra el virus del papiloma humano: una gran arma para la prevención primaria del cáncer de cuello uterino. *Colombia Med* 2008; 39:196-204.
2. Lewis M. Análisis de la situación del cáncer cervicouterino en América Latina y el Caribe. Organización Panamericana de la Salud. 2004 "Disponible en: <http://www.paho.org/Spanish/AD/DPC/NC/pcc-cc-sit-lac.htm>".
3. Picconi M, Gronda J, Alonio L, Villa L, Fichero L, Miranda S, Barcena M Teysie A. Virus papiloma humano en mujeres quechuas jujeñas con alta frecuencia de cáncer de cuello uterino. Tipos virales y variantes de HPV 16. *Medicina (Buenos Aires)* 2002; 62:209-220.
4. Capote L. Aspectos epidemiológicos del cáncer en Venezuela. *Rev Venez Oncol* 2006; 18:269-281.
5. Suárez C, Mijares A, Castillo L, Briceño J. Tipificación del VPH en cáncer uterino en la población venezolana. *Rev Venez Oncol* 2006; 18:221-225.
6. Contreras L, Correnti M, Ávila M, Guerrero A, León A. Virus papiloma humano (VPH) en contexto ecológico venezolano. (1): diagnóstico citológico y molecular. *Salus* 2008; 12:39-44.
7. Ministerio del Poder Popular para la Salud. Dirección General de Epidemiología. Anuario de Mortalidad 2006. Republica Bolivariana de Venezuela. "Disponible en : www.mpps.gob.ve".
8. Bodurka DC. What's new in gynecology and obstetrics. *J Am Coll Surg* 2005; 201:265-274.
9. Correa W, Carneiro S, Rodrigues, Stávale J, Baruzzi R. Rastreamento do cancer de colo uterino em índias do parque indígena do Xingu, Brasil central. *Rev Panam Salud Pública* 2000; 7:92-96.
10. Tonon S, Picconi M, Zinovich J, Nardari W, Mampaey M, Galuppa J, Bos PD, Badano I, Di Lello F, Basiletti J, González JV, Alonio LV, Teyssié AR. Prevalence of cervical infection by human papilloma virus (HPV) in the Caucasian and Guarani populations residing in the province of misiones, Argentina. *Rev Argent Microbiol* 2003; 35:205-213.
11. Muñoz N, Bosch F, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, Snijders P, Meijer C. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348:518-527.
12. Muñoz N, Mendez F, Posso H, Molano M, van den Brule AJ, Ronderos M, Meijer C, Muñoz A. Incidence, duration and determinants of cervical human papillomavirus infection in cohort of Colombian women with normal cytologicals results. *J infect Dis* 2004; 190:2077-2087.
13. Puig-Tintore L, Cortés J, Castellsague X, Torné A, Ordi J, Sanjosé S, Alonso I, Cararach M, Vidart J, Alba A, Martínez J, Coll C, Vilaplana E, Hardinsson D, Bosch X. Prevención del cáncer de cuello uterino ante la vacunación frente al virus del papiloma humano. *Prog Obstet Gynecol* 2006; 49:5-62.
14. Gobernación del Estado Amazonas on line. "Disponible en: <http://www.amazonas.gob.ve>".

15. Acuña A. ¿Desarrollo o decadencia? La Esmeralda como modelo de progreso para los yanomami del Alto Orinoco. *Gac Antropol* 2008; 24:24-35.
16. Johnson O. Una unión de medicinas. *Perspectivas de Salud* (Organización Panamericana de la Salud) 2002. "Disponible en: http://www.paho.org/Spanish/dpi/Numero15_article5_6.htm".
17. Reigosa A, Álvarez M, De Vasconcelo M, Cristina R, Salas W, Rebolledo V, Voldman A. Diagnóstico del virus papiloma humano en cuello uterino de mujeres que acuden a su consulta anual citológica. *Salus* 2004; 8:26-31.
18. Muñoz N. Nuevas perspectivas para prevención del cáncer de cuello uterino basadas en el virus del papiloma humano. *Biomédica* 2006; 26:2-5.
19. Cervantes J, Lema C, Hurtado L, Andrade R, Quiroga G, García G, Torricos L, Zegarra L, Vera V, Panoso W, Arteaga E, Segurondo D, Romero F, Dulon A, Asturizaga D, Hurtado L, Sonoda S. Prevalence of human papillomavirus infection in rural villages of the bolivian amazon. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 2003; 45:131-135.