

PREVALENCIA DE INFECCION EN LA ENDOCERVIX CON EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN UNA POBLACION DE PROSTITUTAS DE LA CIUDAD DE PANAMA*

Dr. Juan Ramón Arosemena¹, Dr. Don Manuel Guerrero¹, Dr. Deoraj Causay²,
Lic. Marina Cuevas¹, Lic. Suzanne Loo de Lao¹, Dr. William C. Reeves¹

De la División de Epidemiología y Bioestadística del Laboratorio
Commemorativo Gorgas¹ y del Departamento de Patología de la Universidad de McMaster,
Hamilton, Canadá².

Durante el período comprendido entre Enero y Marzo de 1986 fueron examinadas 183 prostitutas para determinar la incidencia de ADN del virus de papiloma humano (VPH). Ellas acudían a las clínicas de Higiene Social, coordinadas por el Ministerio de Salud en diferentes Centro de Salud de la Ciudad de Panamá. A cada una de ellas se les efectuó una encuesta epidemiológica, el examen físico, y cultivos virales y bacterianos para la determinación de los agentes de enfermedades de transmisión sexual; además, se les hizo un hisopado del endocervix, para la detección del ADN del virus de papiloma humano (VPH).

La infección con el virus se determinó con la técnica de hibridación in situ, en papel filtro de nitrocelulosa, bajo condiciones estrictas y no estrictas.

De las 183 prostitutas estudiadas, 41 (22.4%) tenían uno de los tipos de VPH buscados; 31 (16.9%) presentaban los tipos 16-18, y 20 (10.9%) los tipos 6-11, bajo condiciones de hibridación estrictas. Se sugiere que el aumento de la promiscuidad sexual en la población estudiada incrementa el riesgo de infección con el VPH, tipo 16-18.

Las altas tasas de cáncer cérvico uterino reportadas en Panamá (1), como en la mayoría de los países de América Latina y el Caribe, representan un serio problema de salud pública (2-3). Ellas han obligado a la implementación de metodologías de investigación encaminadas a la detección de los factores que inciden en la presencia de dichas tasas. Se ha indicado que las causas probables de la alta incidencia de cáncer cérvico-

* Presentado para publicación en junio de 1987.

uterino pueden ser la promiscuidad sexual (4), el tabaquismo (5-6), el uso de anticonceptivos orales (7-9), la deficiencia de carotenos (10), y la infección cervical con agentes tales como el herpes simplex tipo 2 (11-13) y el virus del papiloma humano (14-17).

Ultimamente se le está dando mayor importancia al factor masculino, como probable amplificador del riesgo de adquirir dicho tipo de cáncer; dentro del cual intervienen en forma notable la promiscuidad sexual masculina y las relaciones frecuentes con prostitutas.

El virus del papiloma humano causa una variedad de lesiones dérmicas y en la mucosa de la cavidad oral, laringe y área anogenital. Pese a que la mayoría de estas lesiones parecen ser benignas, ya que desaparecen espontáneamente, algunos papilomas cutáneos y mucosos pueden evolucionar hacia la transformación maligna. Ello ha impulsado el desarrollo de técnicas más sensibles para la detección del virus en nuestras clínicas, especialmente del cuello uterino, tales como la microscopía electrónica, las técnicas inmunohistoquímicas y la detección de los ácidos nucleicos del VPH.

Las pruebas más sensibles y específicas para la detección del VPH son las de hibridación,

que se basan en la determinación de la presencia de ADN viral específico mediante la formación de dupletas entre dos secuencias de nucleótidos complementarios. Las condiciones experimentales utilizadas para discriminar entre secuencias de nucleótidos bien o mal pareados se han dividido en estrictas (aquellas que no toleran uniones inadecuadas) y no estrictas (aquellas que toleran cierto número de uniones inadecuadas, aunque el grado de la mismas puede ser controlado). La primera indica que estamos ante el tipo específico de VPH buscado; y la segunda sugiere la presencia de un tipo de VPH, por la secuencia de nucleótidos similares aunque no necesariamente iguales al tipo probado. Los métodos de hibridación en fase sólida o en filtros actualmente utilizados son el Southern blot, Northern blot, dot blot, in situ en papeles de filtro e in situ (18-20).

El objetivo del trabajo es determinar la prevalencia de la infección con el VPH, en una población de prostitutas de la Ciudad de Panamá; y establecer los factores involucrados, de riesgo epidemiológico.

MATERIALES Y METODOS

Población en Estudio

Durante el período comprendido entre Enero y Marzo de 1986 estudiamos la incidencia

del VPH en 183 prostitutas que acudieron a las Clínicas de Higiene Social, coordinadas por el Ministerio de Salud en los Centros de Salud del Chorrillo, Río Abajo, Marañón y Boca la Caja, en la Ciudad de Panamá, como parte de un estudio de las enfermedades de transmisión sexual. A las prostitutas se les explicó en detalle los objetivos del estudio, y su participación en el mismo fue totalmente voluntaria; con aquéllas que rehusaron participar se siguió la rutina establecida para dichas clínicas. A las que aceptaron participar se les efectuó, además de esta rutina, una entrevista detallada y estandarizada, y un examen físico completo; se obtuvieron muestras de sangre y Papanicolaou, suspensión de células de la endocervix para la detección y tipificación del ADN del VPH, e hisopados de la endocervix para el cultivo de agentes virales y bacterianos de enfermedades de transmisión sexual. La selección de la población en cada centro se hizo tomando la totalidad de las prostitutas que acudieron a dichas clínicas en el período señalado, y que aceptaron participar en el estudio.

Estudios de Laboratorio

Virus del papiloma humano. Se tomaron muestras de la endocervix o de las lesiones, con hisopos de punta de algodón, y se transfirieron a tubos que

contenían 2ml de salina amortiguada con fosfatos, más 0.5% de gelatina, y se las agitó, para crear una suspensión de células. Dichos tubos fueron congelados a -20°C hasta que se realizaron las pruebas correspondientes. La detección de las secuencias de ADN del VPH se realizó en papeles de nitrocelulosa mediante la técnica de hibridización in situ, según los protocolos descritos previamente (19-21). En esta técnica, las células y el material celular obtenidos del endocervix se adhieren al papel de nitrocelulosa y se hibridizan directamente sin someterlos a electroforesis. Dicho procedimiento se ejecutó en el Laboratorio de Virología Molecular e Inmunología del Departamento de Patología de la Universidad de McMaster, Hamilton, Canadá. Aquellas que resultaron positivas, en condiciones de hibridización no estrictas, se consideraron como indicativas de la presencia de algún tipo, de VPH; las que resultaron positivas, en condiciones de hibridización estrictas para los tipos 6-11 o 16-8, se consideraron como específicas para detectar la presencia de dichos tipos.

Manejo de Datos

Tantos las entrevistas como los exámenes físicos y los resultados de las pruebas de detección de ADN del VPH fueron consignadas en formularios precodifica-

dos, los cuales alimentaron una base de datos, utilizando dBaseIII, en las microcomputadoras IBM de la División de Epidemiología del Laboratorio Conmemorativo Gorgas. El análisis estadístico de dichos datos se efectuó por medio del programa comercial SYSTAT. Las pruebas de significación estadística utilizadas fueron el Chi cuadrado, y la prueba de exactitud de Fisher.

RESULTADOS

De las 183 prostitutas estudiadas, 41 (22.4%) presentaron evidencia de infección con el VPH mediante la prueba de detección del ADN viral específico. Bajo condiciones de hibridación estrictas, 31 (16.9%) fueron positivas para los tipos 16-18, y 20 (10.9%) para los tipos 6-11.

Al analizar las características epidemiológicas de la población estudiada se encontró que no había relación estadísticamente significativa entre la infección con VPH y la edad (Tabla No. 1), el lugar de nacimiento, la raza, los honorarios percibidos de los clientes, la escolaridad y el inicio de la vida sexual activa (Tabla No. 2). Tampoco la había entre la edad en que se inició en la prostitución (Tabla No. 3), el tiempo de ejercicio de la prostitución, el método anticonceptivo usado, el aislamiento concomitante de otros agentes de transmisión sexual, o los

TABLA No. 1

EDAD VS PRESENCIA DE
VPH 16-18 o 6-11

EDAD	VPH 16 - 18	VPH 6 - 11
20	1/9(11.1)	1/9(11.1)
20-25	9/69(13.0)	6/69(8.7)
26-29	9/38(23.7)	6/38(15.8)
29	12/66(18.2)	7/66(10.6)
	p = 0.52	p = 0.77

TABLA No. 2

EDAD COMIENZO VIDA SEXUAL ACTIVA VS
VPH 16-18 O 6-11

EDAD	VPH 16 - 18	VPH 6 - 11
13	0/4(0)	0/4(0)
13-16	14/77(18.2)	9/77(9.1)
17-20	15/86(17.4)	11/86(12.8)
21-24	1/13(7.7)	0/13(0)
24	1/2(50.0)	0/2(0)
	p = 0.52	p = 0.61

TABLA No. 3

EDAD COMIENZO PROSTITUCION VS
VPH/16-18 O 6-11

EDAD	VPH 16 - 18	VPH 6 - 11
15-18	2/20(10.0)	1/20(5.0)
19-22	7/49(14.3)	5/49(10.2)
23-26	10/63(15.9)	7/63(11.1)
27-30	7/19(36.8)	6/19(31.6)
30	4/22(18.2)	1/22(4.5)
	p = 0.18	p = 0.05

hallazgos que reveló el examen microscópico del cuello interino.

Pero la prevalencia de los tipos 16-18, aumentó en forma estadísticamente significativa, cuando fue mayor el número de clientes atendidos por semana (Tabla No. 4), y disminuyó cuando aumentaron los honorarios percibidos por cliente (Tabla No. 5). Esto nos indica que en la población estudiada el aumento de la promiscuidad sexual acrecenta el riesgo de infección con dicho virus.

TABLA No. 4

CLIENTES POR SEMANA VS PRESENCIA DE VPH 16-18 o 6-11

NUMERO CLIENTES	VPH 16 - 18	VPH 6 - 11
0-1	6/86(6.7)	5/86(5.8)
2-10	3/13(23.1)	2/13(15.4)
11-50	14/42(33.3)	7/42(16.6)
51-100	0/9(0)	2/9(22.2)
	p = 0.0006	p = 0.15

TABLA No. 5

HONORARIOS POR CLIENTE (BALBAOS) VS VPH 16-18 o 6-11

HONO RARIOS	VPH 16 - 18	VPH 6 - 11
NEGO	3/22(13.6)	2/22(9.1)
10	8/33(24.2)	4/33(12.1)
11-30	10/35(28.6)	7/35(20.0)
31-50	1/19(5.2)	1/19(5.3)
50	2/43(4.6)	2/43(4.6)
	p = 0.02	p = 0.23

Comentarios

El estudio epidemiológico ha demostrado consistentemente que algunas enfermedades de transmisión sexual y el cáncer cérvico-uterino tienen muchos factores de riesgo en común, lo cual sugiere el papel de uno o más agentes de transmisión sexual en la patogénesis de esas enfermedades. La característica oncogénica de algunos tipos de VPH (16-18) ha sido probada en animales (22); parece que en ellos se requiere de otros agentes químicos o físicos, como cofactores, para la transformación de la infección por el VPH a neoplasia. Dicho carcinógeno puede actuar sinérgicamente con el VPH para producir un riesgo mayor de transformación maligna que el cocarcinógeno o el VPH solo. Estudios en humanos adelantan la valoración de otros agentes ya mencionados que facilitan y que provocan la aparición del cáncer cérvico-uterino.

Se ha sugerido que la infección con VPH es un factor en la etiología del cáncer de la cervix. Esa idea ha llevado a la realización de estudios que intentan determinar la prevalencia de la infección con VPH en diversas poblaciones; en general, se observa un aumento progresivo de dicha prevalencia según el grado de patología de la cervix (por Papanicolaou o biopsia). Muchos de estos estudios se realizaron con un número pequeño de

pacientes, lo que dificulta la obtención de resultados concluyentes (23, 24). La frecuencia de la infección varía grandemente en las mujeres consideradas normales, según el área geográfica estudiada, aunque en general se registran cifras bajas (25). Se han realizado pocos estudios en poblaciones con alto riesgo de transmisión sexual, como la que estudiamos ahora, lo que hubiera aportado más información sobre la transmisión venérea del VPH, y de la posible importancia del factor masculino en la etiología del cáncer del cuello uterino.

Pese a que la población estudiada posee características que la alejan de lo que pudiéramos considerar normal, resulta sorprendente la baja tasa de infección encontrada; porque los resultados preliminares muestran, en estudios que se adelantan en Panamá y otros países de Latinoamérica (26), tasas mayores en los controles de pacientes con cáncer del cuello uterino hospitalarios y de la comunidad. Las razones de dichas discrepancias se desconocen y deben ser motivo de una evaluación cuidadosa.

La detección de ADN del VPH mediante la prueba de hibridación es una técnica bastante reciente que, aunque es de una ejecución relativamente fácil, todavía no se encuentra a disposición de los

clínicos en general, porque requiere de mayores evaluaciones para su debida regularización. También se acepta que la combinación de técnicas diagnósticas (colposcopia, detección de ADN viral, inmunoperoxidasas, microscopía electrónica, Papanicolaou), pueden mejorar los resultados de estos tipos de estudio (27) al momento de presentarse situaciones limítrofes y que de su decisión dependa la adopción de conductas conservadoras o no; porque se ha demostrado que las lesiones cervicales precancerosas o cancerosas incipientes pueden sufrir regresión en un apreciable porcentaje de casos, dependiendo de la detección de la infección con los tipos oncógenos del VPH (28).

Summary

During January through March 1986, 183 prostitutes were studied to establish the incidence of human papilloma virus (HPV) infection. They attended the Social Hygiene Clinics at different Health Centers in Panama City. A standard epidemiological questionnaire, a physical exam and both bacterial and viral cultures were performed on each participant; and also an endocervix swab was obtained for DNA detection of HPV types 6-11 and 16-18. The HPV infection was determined by using the dot blot hybridizat-

ion technique in nitrocelullose filter paper under stringent and non-stringent conditions. Out of the 183 prostitutes studied 41 (22.4%) had at least one of the HPV types; 31 (16.9%) presented

types 16-18 and 20 (10.9%), types 6-11 under stringent conditions. This study suggests that an increase in sexual promiscuity increases the risks of infection with HPV type 16-18.

AGRADECIMIENTO

A los doctores Alfredo Moltó y Guillermo Campos, del Ministerio de Salud; al doctor Washington Lum, del Centro de Salud del Chorrillo; a la doctora Delsa de Agamez, del Centro de Salud de Río Abajo; y a la doctora Dennis Castellero, del Centro de Salud de Boca La Caja. A la Lic. Sabina Rodríguez, del Centro de Salud del Chorrillo; y a la Lic. Diosa de Ramos, del Centro de Salud de Boca La Caja. A la señora Adaluz de Ince, María E. De La Guardia, Maritza Ramos, Itzy González, y al señor Basilio Gómez, del Laboratorio Conmemorativo Gorgas.

BIBLIOGRAFIA

1. Reeves WC, Valdes PF, Brenes MM, y col: Cancer incidence in the Republic of Panama. 1974-78, JNCI 68 (2):219-225, 1982
2. Pan American Health Organization (PAHO). Health conditions in the Americas 1977-1980. Scientific Publication No. 427. Pan American Health Organization. Washington, D.C., 1982
3. Waterhouse J, Muir C, Shanmugaratnam K, y col: Cancer incidence in five Continents, Vol IV, IARC Scientific Publication No. 42. International Agency for Research on Cancer. Lyon, France, 1982
4. Harris RWC, Brinton LA, Cowdell RH, y col: Characteristics of women with dysplasia or carcinoma in situ of the cervix uteri. Br J Cancer 42 (3):359-369, 1980
5. Winkelstein W: Smoking and cancer of the uterine cervix: hypothesis. Am J Epidemiol 106 (4):257-259, 1977
6. Thomas DB: An epidemiologic study of carcinoma in situ and squamous dysplasia of the uterine cervix. Am J Epidemiol 98 (1):10-28, 1973
7. Melamed MR, Koss LG, Flehinger BJ, y col: Prevalence rates of uterine cervical carcinoma in situ for women using the diaphragm or contraceptive oral steroids. Br Med J 3 (5664): 195-200, 1969
8. Peritz E, Ramcharan S, Frank J, y col: The incidence of cervical cancer and duration of oral contraceptive use. Am J Epidemiol 106 (6):462-469, 1977
9. Ory H, Naib Z, Conger SB, y col: Contraceptive choice and prevalence of cervical neoplasia and carcinoma in situ. Am J Obstet Gynecol 124 (6):573-577, 1976
10. Marshall JR, Graham S, Byers T, y col: Diet and smoking in the epidemiology of cancer of the cervix. JNCI 70 (5):847-851, 1983
11. Melnick JL, Adam E, Rawls WE: The causative role of herpesvirus type 2 in cervical cancer. Cancer 34 (45 suppl): 1375-1385, 1974
12. Catalano LW, Johnson LD: Herpesvirus antibody and carcinoma in situ of the cervix. JAMA 271 (6419):447-501, 1971

13. Nahmias AJ, Naib 2M, Josey WE: Prospective studies of the association of genital herpes simplex infection and cervical anaplasia. *Cancer Res* 33 (6):1491-1497, 1973
14. Zur Hausen H: Human genital cancer: synergism between two virus infection or synergism between a virus infection and initiating events? *Lancet* 2 (8312):1370-1372, 1982
15. Singer A, Walker PG, McCance DJ: Genital warts virus infections: nuisance or potentially lethal. *Br Med J* 288 (6419):735-737, 1984
16. Franceschi S, Doll R, Gallwey J, y col: Genital warts and cervical neoplasia: an epidemiological study. *Br J Cancer* 48(5):621-628, 1983
17. Campion MJ, Singer A, Clarkson PK, y col: Increased risk of cervical neoplasia in consorts of men with penile condylomata acuminata. *Lancet* 1 (1):943-946, 1985
18. Southern EM: Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J Mol Biol* 98(3):503-517, 1975
19. Grunstein M, Hogness DS: Colony hybridization: a method for the isolation of cloned DNAs that contain a specific genome. *Proc Natl Acad Sci USA* 72(10):3961-3965, 1975
20. Thomas PS: Hybridization of denatured RNA and small DNA fragments transferred to nitrocellulose. *Proc Natl Acad Sci USA* 77 (9):5201-5205, 1980
21. Caussy D, Orr W, Daya A, y col: Evaluation of methods for detecting human papillomavirus deoxyribonucleotide sequences in clinical specimens, EN PRENSA.
22. TW Fiennes RN: **Infectious cancers of animals and man**, Academic Press Inc, London, 1982. p 57
23. Dürst M, Gissmann L, Ikenberg H, zur Hausen H: A papillomavirus NA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. *Proc Natl Acad Sci USA* 80(12):3812-3815, 1983
24. Prakash SS, Reeves WC, Sisson GR, y col: Herpes simplex virus type 2 and human papillomavirus type 16 in cervicitis, dysplasia and invasive carcinoma. *Int J Cancer* 35 (1):51-57, 1985
25. Schneider A, Holtz M, Gissman L: Prevalence of genital HPV infection in pregnant women, en **International Workshop of Papillomaviruses**. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, 1986, p 41
26. Reeves WC, Caussy D, Brinton LA, y col: Case-control study of human papillomaviruses and cervical cancer in Latin America, *Int J Cancer* (EN PRENSA).
27. Grubb GH: Human papillomavirus and cervical neoplasia: epidemiological considerations. *Int J Epidemiol* 15(1):1-7, 1986
28. Campion M: The progressive potential of mild cervical atypia: HPV as a marker of high risk of progression, en **International Workshop of Papillomaviruses**. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, 1986, p 19