

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ**

**Colegio de Posgrados**

**Identificación de los alelos del Antígeno Leucocitario Humano (HLA)  
asociados a la Infección persistente de VPH y Cáncer cervical**

**Mecanismo de Titulación: Tesis en torno a una hipótesis o problema de  
investigación y su contrastación**

**María José Mora Vaca**

**PhD. Sonia Zapata  
Director de Trabajo de Titulación**

Trabajo de titulación de posgrado presentado como requisito para la obtención del título de  
Máster en Microbiología

Quito, abril 29 del 2022

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ**  
**COLEGIO DE POSGRADOS**

**HOJA DE APROBACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

**Identificación de los alelos del Antígeno Leucocitario Humano (HLA)  
asociados a la Infección persistente de VPH y Cáncer cervical**

**María José Mora Vaca**

Patricio Rojas-Silva, PhD.

Director del Programa de Maestría en Microbiología

Carlos Valle, PhD.

Decano del Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

Hugo Burgos, PhD.

Decano del Colegio de Posgrados

**Quito, abril 2022**

## © DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombre del estudiante:	María José Mora Vaca
Código de estudiante:	00216292
C.I.:	1003572250
Lugar y fecha:	Quito, abril 29 del 2022

## ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

**Nota:** El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el *Committee on Publication Ethics COPE* descritas por Barbour et al. (2017) *Discussion document on best practice for issues around theses publishing*, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

## UNPUBLISHED DOCUMENT

**Note:** The following graduation project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) *Discussion document on best practice for issues around theses publishing* available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

## **DEDICATORIA**

A mis padres, Tania y Milton, por haberme inculcado la importancia del estudio desde que era pequeña, por su apoyo incondicional en los días más difíciles y por ser el motor de mi vida. A mis hermanos, Raque y Santi por darme ánimos para seguir adelante hasta en los días en los que ya no podía más y por nunca dejarme rendir. A mis abuelitos, Yolanda, Edmundo, Rogeria y Hernando por el apoyo que me han brindado durante todos estos años. A mis tíos, primos y el resto de mi familia que siempre estuvieron presentes con sus palabras de apoyo y hoy celebran este logro conmigo.

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad San Francisco de Quito, al Instituto de Microbiología y al Hospital Carlos Andrade Marín por abrirme las puertas y por el apoyo logístico para llevar a cabo este proyecto.

A Sonia Zapata, directora de mi tesis, por su apoyo, su guía incondicional durante todo el proyecto y por permitirme trabajar en el área que me apasiona.

A Lorena Mejía, Diana Muñoz y Rosita Bayas por sus importantes comentarios y apoyo logístico en el estudio.

A Sarita Guerra y Pamela Calle por su paciencia, sus enseñanzas, su apoyo y por trabajar conmigo durante la pandemia para poder finalizar el proyecto.

A todos mis amigos de la maestría en Microbiología: Miguel, Ale, Diego, Mery, Rommel, Fausto y Sabri por seguir apoyándonos entre todos y por la amistad que cada uno de ustedes me brindó.

A todos mis profesores a lo largo de la Maestría en Microbiología por todas las enseñanzas que me brindaron y que me ayudaron para concluir con este proyecto.

A mis amigas, especialmente a Heidi, Sofi y Dena por su amistad incondicional durante años y por apoyarme en todos mis proyectos y mis sueños.

## RESUMEN

El cáncer cervical es el cuarto tipo de cáncer más común en mujeres y se estima que alrededor de 604,127 mujeres al año son diagnosticadas con la enfermedad y 341,831 resultaron en muerte a nivel mundial. La asociación entre genotipos de alto riesgo (AR) del VPH y el cáncer de cuello uterino está bien establecida, los mismos que están relacionados con persistencia del virus y desarrollo de cáncer; sin embargo, existen otros factores, como el tabaquismo y hábitos en la conducta sexual, que incrementan el riesgo de desarrollar cáncer cervical. Por otro lado, existen estudios que indican que los genes que codifican para el antígeno leucocitario humano (HLA) pueden ser determinantes relacionados con la persistencia de la infección por VPH y la progresión a cáncer cervical ya que son los encargados de controlar una respuesta inmune celular efectiva para eliminar el VPH. En Ecuador, existe información escasa sobre los alelos de HLA, persistencia de VPH y cáncer cervical en la población. En este estudio se pretende identificar los alelos de HLA específicos de mujeres con neoplasia intraepitelial cervical (NIC) tipo II y III y cáncer con infección de VPH-16, 58, 52. Se analizaron 51 muestras y se encontró que los alelos HLA- A\*02, HLA- B\*35, HLA- C\*04, HLA- DRB1\*04 y HLA-DQB1\*03 fueron los más frecuentes. Estos alelos ya han sido asociados a una infección persistente y al desarrollo de cáncer cervical en estudios previos. Este es un estudio piloto que permite elucidar las posibles relaciones entre HLA y VPH y ayuda a comprender la persistencia de la infección en ciertas mujeres y el desarrollo de cáncer cervical.

**Palabras clave:** VPH, HLA, cáncer cervical, NIC, Ecuador

## ABSTRACT

Cervical cancer is a public health problem worldwide, it is the fourth most common type of cancer in women, with around 604,127 women diagnosed per year and 341,831 deaths worldwide. There is an association between cervical cancer development and infection with human papillomavirus (HPV). High-risk HPV genotypes are related to HPV persistence and cancer development; however, there are other factors, such as smoking and sexual behavior habits, that are also associated with cervical cancer. On the other hand, studies have shown that genes which code for human leukocyte antigen (HLA) molecules can be determinants related to the persistence of HPV infection and progression to cervical cancer because HLAs are responsible for controlling the immune response mediated by T-cells to efficiently clear an HPV infection. In Ecuador, there is little information about HLA and HPV infection with high-risk genotypes in the population. This study aimed to identify host-specific HLA alleles in women with cervical intraepithelial neoplasia (CIN) II and III and cancer infected with HPV-16, 58 and 52. 51 samples were tested and the results showed that the HLA-A\*02, HLA-B\*35, HLA-C\*04, HLA-DRB1\*04 and HLA-DQB1\*03 alleles were the most frequent in this population; these alleles have already been associated with cervical cancer in previous studies. This pilot study enables the discovery of possible relationships between HLA and HPV and allows to elucidate why this virus can develop a persistent infection in some women leading to the development of cervical cancer.

**Keywords:** HPV, HLA, cervical cancer, CIN, Ecuador

**TABLA DE CONTENIDO**

<b>RESUMEN.....</b>	<b>7</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>8</b>
<b>PARTE 1: INTRODUCCIÓN GENERAL.....</b>	<b>11</b>
Virus del Papiloma Humano .....	11
Persistencia del VPH .....	13
Cáncer cervical y VPH .....	14
Antígeno Leucocitario Humano .....	17
HLA, VPH y Cáncer Cervical.....	18
<b>PARTE 2: ARTÍCULO CIENTÍFICO .....</b>	<b>21</b>
Introducción.....	21
Materiales y métodos .....	23
Resultados.....	24
Discusión .....	29
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>38</b>

**ÍNDICE DE TABLAS**

<b>Tabla 1:</b> Alelos HLA Clase I y Clase II, tipo de lesión y origen geográfico en el genotipo VPH-16 .....	26
<b>Tabla 2:</b> Alelos HLA Clase I y Clase II, tipo de lesión y origen geográfico en el genotipo VPH-58 .....	27
<b>Tabla 3:</b> Alelos HLA Clase I y Clase II, tipo de lesión y origen geográfico en el genotipo VPH-52 .....	28

## PARTE 1: INTRODUCCIÓN GENERAL

### VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

El virus del papiloma humano (VPH) es uno de los virus de transmisión sexual más comunes a nivel mundial. Es un virus de ADN de doble cadena sin envoltura con un genoma circular, un tamaño aproximado de 8-kb de la familia *Papillomaviridae* (Ramachandran & Dork, 2021). El genoma del VPH está dividido en tres regiones; una de estas regiones es no codificante y las dos regiones restantes codifican los genes tempranos y tardíos del virus. Existen seis genes tempranos (E1, E2, E4, E5, E6 y E7) los cuales están involucrados en procesos como replicación, transcripción, alteraciones del ciclo celular, evasión del sistema inmune y control de la apoptosis (Cervantes, 2013). Los genes E6 y E7 juegan un papel importante ya que se activan una vez que el virus se integra en el genoma del hospedero y producen las proteínas E6 y E7, las cuales son responsables de interferir con los genes p53 y pRb que controlan el ciclo celular y la apoptosis; al interferir con estos genes, se pueden producir cambios en las células que pueden conducir al desarrollo de cáncer (Cervantes, 2013). En el caso de los genes tardíos, existen 2 genes, el L1 y L2, que codifican los elementos necesarios para formar las proteínas de la cápside del virus (Cervantes, 2013).

El secuenciamiento de genoma completo de VPH ha permitido identificar alrededor de 220 genotipos organizados en cinco géneros basados en variaciones en la secuencia en el gen L1; identificados como: Alfa VPH, Beta VPH, Gamma VPH, Mu VPH y Nu VPH. A los géneros alfa y beta se les conoce como el tipo mucoso y el tipo cutáneo respectivamente basados en el tropismo que tiene el virus de invadir el epitelio mucoso o cutáneo. El género alfa es el más frecuentemente estudiado y está dividido en los genotipos de alto riesgo y los de bajo riesgo de acuerdo con la capacidad carcinogénica de cada genotipo (Sias et al., 2019).

El VPH tiene la capacidad de infectar las células epiteliales, específicamente se aprovecha del proceso de diferenciación de los queratinocitos para infectar a las células. El proceso de infección comienza con una infección primaria de las células epiteliales basales, en donde se desarrolla una infección latente con una replicación viral baja y una limitada expresión de las proteínas E1 y E2. Conforme los queratinocitos empiezan a diferenciarse, el resto de los genes tempranos empiezan a expresarse y la replicación viral aumenta. Al final del ciclo de diferenciación de los queratinocitos, las proteínas L1 y L2 son expresadas, el virus es ensamblado y sale con la capa externa de células epiteliales (Graham, 2010).

En el 70% de los casos de cáncer cervical, se ha observado que el genotipo responsable es el VPH-16 en regiones como Norte América, Latinoamérica y Europa; sin embargo, en otras regiones como Asia y África, se ha encontrado el genotipo VPH-52 y el VPH-58 (Clifford et al., 2019). El genotipo 16 ha sido clasificado en cuatro linajes o variantes basados en la secuencia del gen E6; las variantes son: A, que se divide en A1, A2 y A3, conocidos también como las variantes europeas; y A4 conocida como la variante asiática. La variante B conocida como la africana 1, la variante C conocida como la africana 2 y la variante D conocida como la asiático-americana y norteamericana (Clifford et al., 2019). Las variantes A1, A2 y A3 se han encontrado en la mayoría de las infecciones a nivel mundial; sin embargo, es importante recalcar que las variantes tienen diferentes distribuciones geográficas dependiendo de la población (Antaño et al., 2021). Algunos estudios han encontrado las sub-variantes A2 y A3 en muestras infectadas con VPH 58 (Mejía et al., 2016); por otro lado, en muestras infectadas con VPH-52, se ha encontrado que estas muestras pertenecen a la sub-variante C2 (Bee et al., 2021).

## **PERSISTENCIA DEL VPH**

A pesar de que la infección por VPH puede causar el desarrollo de cáncer cervical, no siempre es suficiente ya que, en el 90% de los casos, la infección es eliminada espontáneamente con ayuda del sistema inmune (Paaso et al., 2019).

La persistencia de infecciones de VPH depende de las proteínas E5, E6 y E7, que están encargadas de regular la proliferación y diferenciación celular; estas proteínas son capaces de manipular al sistema inmune del hospedador para permitir una continua replicación de las células infectadas. Adicionalmente, estas proteínas son capaces de alterar la respuesta inmune inhibiendo las vías de señalización, la producción de citocinas y la respuesta proinflamatoria (Della Fera et al., 2021). Por otro lado, el VPH es capaz de mantener su genoma como episoma extracromosómico que se une al ADN del hospedador. Al replicarse continuamente a niveles bajos en un tejido diferenciado, el VPH puede mantenerse en el hospedador y, al mismo tiempo, evitar la detección por parte del sistema inmunitario (Shanmugasundaram & You, 2017). Otra de las estrategias utilizadas por el VPH para garantizar que el genoma viral no se pierda durante la división celular, es utilizar un mecanismo de anclaje que une el genoma viral a los cromosomas mitóticos del hospedador a través de proteínas intermedias. Este proceso está mediado por la proteína E2, que juega un papel importante en el establecimiento de la persistencia al unir los episomas virales a los cromosomas mitóticos del hospedador (Shanmugasundaram & You, 2017).

Del 10 al 20% de las infecciones persisten de forma latente, lo que puede conducir a la progresión de cáncer (Paaso et al., 2019). Los factores de riesgo que pueden impedir la eliminación natural de la infección persistente por VPH en ciertas poblaciones han sido una fuente importante de interés. Se ha descrito que los factores genéticos y de estilo de vida pueden aumentar significativamente la probabilidad de desarrollar una infección persistente. Uno de

los factores que podría estar asociado con la progresión a cáncer cervical es el antígeno leucocitario humano (HLA por sus siglas en inglés) debido al papel que juegan durante la respuesta inmune frente al VPH (Shanmugasundaram & You, 2017). Ciertos alelos HLA parecen tener una asociación más prominente con la incapacidad de eliminar la infección por VPH y el posterior desarrollo de cáncer de cuello uterino. Dada la variación en los perfiles inmunogénicos y los riesgos asociados entre distintos grupos étnicos, es necesaria una mayor investigación sobre estos marcadores genéticos para cada población a fin de identificar pacientes con un riesgo elevado de persistencia del VPH (Shanmugasundaram & You, 2017).

Adicionalmente, existen otros factores de riesgo que se han asociado con una mayor probabilidad de desarrollar una infección persistente. Dada la prevalencia de infección con más de un tipo de VPH entre los pacientes, se investigó la coinfección con múltiples tipos de VPH como un predictor potencial de infección persistente posterior. Los resultados sugieren que la infección previa por VPH aumenta las posibilidades de adquirir otra infección por VPH (Shanmugasundaram & You, 2017; Radley et al., 2015; Oh et al., 2015). Sin embargo, no es definitivo si la persistencia del VPH depende de la coinfección. Además, se ha encontrado que las variantes dentro del tipo específico de VPH también pueden predisponer a una persona a una infección persistente. Por otro lado, en casos de infección por VPH, se ha descubierto que un entorno de inestabilidad genómica aumenta la probabilidad de integración del genoma viral en el genoma del huésped y esto contribuye al desarrollo de una infección persistente (Shanmugasundaram & You, 2017).

## **CÁNCER CERVICAL Y VPH**

El cáncer cervical es el cuarto tipo de cáncer más común en mujeres y se estima que alrededor de 604,127 mujeres al año son diagnosticadas con la enfermedad y 314,831 resultan en muerte a nivel mundial (Bruni et al., 2021). En Ecuador, el cáncer cervical es el segundo tipo de cáncer

más frecuente en las mujeres en general, y el tercer tipo de cáncer más frecuente en mujeres entre 15 a 44 años (Armijo & Sánchez, 2019). La infección por genotipos de VPH de alto riesgo es el agente causal de hasta el 70% de los casos de cáncer de cuello uterino en mujeres y también está altamente asociada con cánceres del tracto genital inferior, ano y orofaringe tanto en hombres como en mujeres (Paaso et al., 2019). El desarrollo de cáncer mediado por VPH se asocia con infección persistente a largo plazo; la expresión continua de las proteínas virales oncogénicas E6 y E7 anula los puntos de control del ciclo celular e inhibe la detección inmunitaria. En consecuencia, las células infectadas proliferan de forma descontrolada y las mutaciones celulares se acumulan, lo que lleva a la formación de cánceres asociados al VPH (Della Fera et al., 2021).

Existen otros factores que también están asociados con un mayor riesgo de causar cáncer cervical. Algunos estudios han analizado los polimorfismos asociados con la enzima metileno tetrahidrofolato reductasa (MTHFR) ya que se cree que los polimorfismos en el gen codificante de MTHFR están relacionados con el riesgo de desarrollar cáncer cervical debido a que esta enzima dirige la homeostasis entre la síntesis y la metilación del ADN. Algunos de estos polimorfismos son capaces de disminuir la actividad de la enzima y esto se considera un factor influyente en la carcinogénesis (Mora, 2016). Por otro lado, también se han estudiado los polimorfismos en el gen *Tp53* debido a que una de las mutaciones más comunes en todos los tipos de cánceres humanos ocurre en este gen supresor de tumores, que se encuentra en el cromosoma 17p13. Específicamente, se ha descrito el SNP Arg72Pro, que consiste en una variación de G a C en el exón 4 de *Tp53*, que es desactivado por la acción del oncogén temprano E6 del VPH. Se cree que la presencia de este polimorfismo podría aumentar la afinidad de la E6 viral por la *Tp53*, lo que facilitaría su degradación mediante ubiquitinación. El *Tp53* participa en el inicio de lesiones intraepiteliales escamosas, en la progresión de estas lesiones a cáncer cervical y en el riesgo de desarrollar cáncer cervical en presencia de VPH. Se ha

informado que, en poblaciones de India, China, Japón y Corea, el polimorfismo aumenta el riesgo de desarrollar cáncer (Mora, 2016). Las mujeres infectadas con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) tienen un mayor riesgo de contraer una infección por el VPH, especialmente con los genotipos de alto riesgo; además, pueden desarrollar una infección persistente que puede progresar a cáncer cervical debido a la respuesta inmunitaria ineficaz para eliminar el virus. Generalmente, las mujeres que tienen una infección por VIH y VPH o cáncer cervical suelen ser diagnosticadas a una edad más temprana (Paaso et al., 2019). Existen también otros comportamientos reproductivos y sexuales que pueden ser factores de riesgo para desarrollar esta enfermedad. Un metaanálisis mostró que las mujeres con múltiples parejas sexuales tienen un mayor riesgo de adquirir una infección por VPH y tienen un mayor riesgo de desarrollar tumor cervical maligno y no maligno. En este estudio, la edad de la primera relación sexual también fue catalogada como un factor de riesgo, ya que las mujeres que empezaron a tener una vida sexual activa a una edad temprana presentaron un mayor riesgo de desarrollar cáncer cervical (Zhang et al., 2020). El uso de píldoras anticonceptivas orales también se considera como un factor de riesgo; diferentes estudios reportan que el uso de píldoras anticonceptivas por más de cinco años puede duplicar el riesgo de desarrollar cáncer cervical, y si hay una infección con un genotipo de VPH de alto riesgo, el riesgo puede triplicarse (Zhang et al., 2020). Otro factor que se ha discutido en diferentes estudios es el tabaquismo, numerosos estudios muestran que las mujeres que fuman tienen un mayor riesgo de desarrollar cáncer cervical. Los subproductos y agentes carcinogénicos del cigarrillo pueden ser responsables de dañar el ADN y las células que se encuentran en el cuello uterino, lo que puede resultar en el desarrollo de cáncer. Además, se ha demostrado que fumar puede alterar la respuesta inmunológica, haciéndola menos efectiva para combatir una infección por VPH (Fonseca, 2011). Numerosos estudios han informado que otro factor de riesgo para el cáncer cervical podría estar relacionado con la población; esto podría deberse a factores conductuales,

culturales y socioeconómicos. En algunos países, es posible que las mujeres no tengan acceso a la detección del VPH u otras pruebas que les permitan detectar si están en riesgo de desarrollar cáncer cervical (Cervantes, 2013); adicionalmente, el estigma social contra las personas con enfermedades de transmisión sexual también podría jugar un papel importante en las decisiones que toman las mujeres sobre su vida sexual (Cervantes, 2013). Finalmente, algunos estudios reportaron que la cantidad de hijos que tiene una mujer también puede ser un factor de riesgo; las mujeres que han dado a luz a tres o más niños corren un mayor riesgo de desarrollar cáncer cervical (Montiel et al., 2010).

### **ANTÍGENO LEUCOCITARIO HUMANO**

El HLA es un componente importante del sistema inmunológico; comprende una familia de diferentes genes que controlan la respuesta inmune contra patógenos y virus. El complejo HLA se codifica en el brazo corto del cromosoma 6 y se divide en tres regiones principales: HLA Clase I (HLA-I), que comprende los genes para HLA-A, B, C, E, H, G y F; HLA Clase II (HLA-II), que comprende los genes HLA-DR, DP y DQ; y HLA Clase III (HLA-III), que es el menos estudiado y se ha asociado con los genes que codifican para las proteínas del sistema del complemento y el factor de necrosis tumoral (Cervantes, 2013). Los HLA-I y II están involucrados en la presentación de antígenos a las células del sistema inmune. El HLA-I se expresa en todas las células nucleadas humanas y es responsable de la presentación de antígenos a los linfocitos T CD8<sup>+</sup> (células T citotóxicas) y células natural killer (NK), mientras que el HLA-II se expresa constitutivamente en las células presentadoras de antígeno (APC) y está implicado en la presentación de antígenos a los linfocitos T CD4<sup>+</sup> (células T auxiliares). Algunos genes del HLA-I tienen funciones específicas; por ejemplo, el HLA-G juega un papel en la protección de un feto contra la respuesta inmune materna; además, el HLA-E se ha observado como un componente importante en la presentación de antígenos para las células NK. Una respuesta inmunitaria adecuada requiere la correcta activación y presentación de

antígenos a las células T auxiliares y citotóxicas mediadas por HLA-I y II. Es importante considerar el hecho de que el complejo HLA es altamente polimórfico y dado que tiene muchos genes, permite la presentación de diferentes antígenos que hacen que al menos uno de esos antígenos sea reconocido para producir una respuesta inmune eficiente (Montiel et al., 2010).

### **HLA, VPH Y CANCER CERVICAL**

La eliminación del VPH está restringida al complejo HLA y numerosos estudios han tratado de identificar diferentes alelos HLA para encontrar si existe alguna asociación entre la persistencia de la infección y la progresión al cáncer cervical (Cervantes, 2013); sin embargo, los alelos HLA tienen una distribución específica y su prevalencia varía según el grupo étnico y la ubicación geográfica (Paaso et al., 2019). Esto resalta la importancia de estudiar estos alelos en poblaciones específicas para encontrar si existen asociaciones en los grupos estudiados y si estas posibles asociaciones son estadísticamente significativas (Cervantes, 2013). Varios estudios han encontrado varios alelos que han sido asociados positiva y negativamente con el cáncer cervical. Entre los alelos que han demostrado una asociación positiva se puede encontrar el HLA-A\*02, HLA-A\*0301, HLA-B\*35, HLA-B\*37, HLA-C\*0702, HLA-DRB1\*1501, HLA-DRB1\*04, HLA-DRB1\*11, HLA-DQB1\*0402 y HLA-DQB1\*05 (Leo et al., 2017; Mahmud et al., 2007; Paaso et al., 2019; Wang et al., 2002). Por otro lado, los alelos que se han visto asociados como factores protectores para el cáncer cervical incluyen HLA-B\*14, HLA-B\*4006, HLA-C\*0202, HLA-C\*08, HLA-DQB1\*03, HLA-DQB1\*0603; HLA-DRB1\* 13 y HLA-DRB1\*0901 (Bahls et al., 2017; Paaso et al., 2019; Wang et al., 2002)

HLA-G es un antígeno HLA clase I, que es considerado como inmunoinhibidor. Este locus HLA-G es importante, ya que puede ser regulado positivamente por varias infecciones virales, incluido el SARS-CoV-2, haciendo que desempeñe funciones inmunosupresoras integrales

para favorecer la evasión inmune del virus y la posterior progresión de la enfermedad (Sáenz & Romero, 2021). Se ha observado una regulación al alza tanto de la expresión de HLA-G, cuando está unido a la membrana de la superficie celular infectada por un virus, así como también del HLA-G soluble periférico, en diversas enfermedades infecciosas virales, como el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1), el virus del herpes simple 1, el rabdovirus, el citomegalovirus humano, el virus de la hepatitis B y C, y el virus de la influenza A (Trabace, 2000). Estos estudios y las asociaciones encontradas recalcan la importancia que tienen los alelos HLA para la presentación de antígenos y la posterior eliminación efectiva de los agentes etiológicos de diferentes enfermedades mediada por el sistema inmunitario.

Se cree que la respuesta inmunológica puede afectar la progresión de las lesiones cervicales y, en particular, que las células NK pueden desempeñar un papel en prevenir el desarrollo de cáncer cervical. Las células NK son linfocitos citotóxicos que matan a las células diana con una expresión de moléculas HLA de clase I disminuida como mecanismo de defensa contra la transformación maligna o la infección viral (Brestovac et al., 2013; Bao et al., 2018). Estudios previos que han investigado la influencia de las células NK en el desarrollo de la neoplasia intraepitelial cervicouterina (NIC) han sugerido un papel protector de estas células. La actividad de las células NK humanas está controlada por la expresión de receptores activadores e inhibidores que reconocen moléculas de MHC de clase I. Los receptores similares a las inmunoglobulinas de las NK (KIR) son genéticamente altamente polimórficos y reconocen epítomos polimórficos de HLA. La familia de genes KIR se encuentra en el cromosoma 19. La diversidad de KIR ha sido impulsada por una rápida evolución y si bien la determinación de los vínculos genéticos con el cáncer de cuello uterino ha sido difícil de alcanzar, estudios recientes han sugerido una asociación entre el repertorio de genes KIR y el cáncer de cuello uterino (Brestovac et al., 2013; Chou et al., 2020). Otro factor que ha sido estudiado es el gen *CTLA-4*; este gen está ubicado en el cromosoma 2 en la banda q33 y juega un papel importante

en la desregulación de las células efectoras de linfocitos T. Hay evidencia de múltiples polimorfismos en *CTLA-4* asociados con la susceptibilidad a enfermedades autoinmunes y múltiples polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en la región codificante relacionados con la susceptibilidad a tumores humanos. Algunos estudios han demostrado que en mujeres chinas positivas para VPH, los SNP *CTLA-4* -318 C/T y *CTLA-4* CT60 G/A afectan el desarrollo de cáncer cervical; aunque no hay claridad con respecto a cómo los polimorfismos de *CTLA-4* desencadenan la neoplasia, se cree que sus causas podrían incluir la pérdida de la homeostasis del sistema inmunológico, la activación de la vía de las citocinas y la sobreexpresión de *CTLA-4*; este último puede desencadenar la inhibición de la actividad inmune de las células T en presencia de ciertos alelos (Mora, 2016).

## PARTE 2: ARTÍCULO CIENTÍFICO

### **Identificación de los alelos del Antígeno Leucocitario Humano (HLA) asociados a la Infección persistente de VPH y Cáncer cervical**

#### **INTRODUCCIÓN**

El cáncer cervical es el cuarto tipo de cáncer más común en mujeres y se estima que alrededor de 604,127 mujeres al año son diagnosticadas con la enfermedad y 314,831 resultan en muerte a nivel mundial (Bruni et al., 2021); en Ecuador, el cáncer cervical es el segundo tipo de cáncer más frecuente en las mujeres en general, y el tercer tipo de cáncer más frecuente en mujeres entre 15 a 44 años (Armijo & Sánchez, 2019). Los genotipos de VPH de alto riesgo son la causa de la enfermedad en la mayoría de los casos. Aproximadamente el 90% de los cánceres de cuello uterino ocurren en países de ingresos bajos y medianos que carecen de programas organizados de detección y vacunación contra el VPH (Cohen et al., 2019). Actualmente, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) solo reconoce 12 genotipos (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) como de alto riesgo, de los cuales el VPH-16 y -18 son los más prevalentes en todo el mundo (Giuliani et al., 2021). Además, en varios estudios, se ha encontrado que estos genotipos VPH-16 y VPH-18 son responsables de hasta el 70% de casos de cáncer cervical (Dalgo et al., 2017). Estudios realizados en el Ecuador, han identificado que el genotipo VPH-16 se encuentra en aproximadamente el 53% de los casos de lesiones precancerosas y cancerosas del cuello uterino, seguido del VPH-58 que está presente en aproximadamente 30% de los casos de cáncer cervical. Otros estudios también mencionan al genotipo VPH-52 que se encuentra en una alta prevalencia junto al VPH-16 especialmente en mujeres en la Costa ecuatoriana, incluyendo Guayaquil en mujeres sin un diagnóstico de precáncer o cáncer (Sailema et al., 2021). Adicionalmente a los genotipos mencionados, existen otros que son comunes en mujeres en el Ecuador, el VPH-39, VPH-6, VPH-18, VPH-31, VPH-

51, VPH-53 Y VPH-56 (Muentes et al., 2019; Bedoya et al., 2018; Tornesello et al., 2008); estos genotipos han sido encontrados como los principales causantes de VPH en Ecuador; sin embargo, de los genotipos mencionados, los que se han visto asociados con precáncer y cáncer son el VPH-31, VPH-56 y el VPH-18 (Bedoya et al., 2018).

La mayoría de las infecciones por VPH son transitorias y se eliminan espontáneamente en un periodo de hasta 2 años; sin embargo, el 10% de mujeres tienen la posibilidad de desarrollar una infección persistente que puede durar por años y convertirse en cáncer cervical (Hu et al., 2017). Se han identificado algunos factores que contribuyen a la persistencia de la infección tales como: el consumo de tabaco y alcohol, la coinfección con múltiples genotipos de VPH y la reinfección (Fonseca, 2011).

Por otro lado, también se han identificado factores genéticos como ciertos alelos del antígeno leucocitario humano (HLA) que podrían tener una menor capacidad para eliminar el virus y esto puede llevar a que la infección sea persistente (Shanmugasundaram & You, 2017). Tanto los HLA de clase I, como los de clase II están involucrados en una respuesta inmune adecuada para eliminar el VPH ya que están encargados de la presentación de antígenos a las células T. El HLA es una parte vital de la inmunidad de las células T y muestra heterogeneidad genética entre las poblaciones. Seis genes principales (HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-D, HLA-E, HLA-F) están codificados por el complejo principal de histocompatibilidad (MHC)-I o HLA-I. Estos genes codifican un conjunto de proteínas que presentan epítomos a receptores específicos en las células T. Específicamente, las moléculas HLA-I y HLA-II expresadas en la superficie celular se unen a los péptidos antigénicos del VPH y forman complejos de péptido antigénico-MHC de clase I y II. Las moléculas diana se presentan a las células T CD8+ y CD4+ para iniciar una respuesta inmunitaria, activar los linfocitos T citotóxicos y eliminar las células tumorales (Cai et al., 2021). Se cree que la posesión de moléculas de HLA que se unen al VPH con alta afinidad podría estar asociada con la protección contra la progresión del cáncer. Por

otro lado, la posesión de moléculas de HLA que no reconocen ni se unen a los antígenos del VPH estaría asociada con un mayor riesgo de etapas precancerosas y cáncer cervical (Shanmugasundaram & You, 2017).

En Ecuador, la información sobre los alelos HLA circulantes y su relación con el desarrollo de NIC II y III y cáncer por infecciones de VPH de alto riesgo es escasa. Adicionalmente, no existen estudios que encuentren una asociación entre los diferentes HLA con la infección persistente de VPH de alto riesgo en el país. El objetivo de este estudio es identificar la variabilidad genética de los alelos HLA específicos presentes en muestras de mujeres con lesiones tipo NIC II y III y cáncer cervical con infección de VPH 58, 16 y 52.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Población de estudio**

En el estudio se incluyeron 51 muestras de ADN proveniente de biopsias de mujeres con diagnóstico de precáncer (NIC II y III) y cáncer cervical y mono infección con VPH-58, 16 o 52 de un estudio previo recolectadas de 12 provincias (Mejía et al., 2016). De las 51 muestras analizadas, 29 fueron positivas para VPH-16, 15 para el VPH-58 y 7 para el genotipo VPH-52. En cuanto al tipo de lesión el 56.9% (29) presentaron (NIC) tipo III, 37.3% (19) presentaron cáncer y 23.5% (12) lesión NIC II. El estudio fue aprobado por el Comité de Bioética de la Universidad San Francisco de Quito (USFQ) con el código 2021-091M.

### **Tipificación de HLA**

Para la tipificación de los alelos HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1 y HLA-DQB1 se utilizó el kit LIFECODES de IMMUCOR. Primero se amplificó el ADN correspondiente a cada locus HLA bajo las siguientes condiciones: 1 ciclo a 95°C por 3 minutos, seguido de 12 ciclos a 95°C por 15 segundos, 60°C por 30 segundos, 72°C por 30 segundos; luego se llevaron a cabo 28 ciclos a 95°C por 10 segundos, 63°C por 30 segundos, 72°C por 30 segundos;

finalmente se realizó 1 ciclo a 72°C por 2 minutos. Luego, se realizó el proceso de hibridación en el que se combinó el producto de PCR con la mezcla de sondas en una placa Costar y se realizó una nueva PCR bajo las siguientes condiciones: 97°C por 2 minutos, 47°C por 10 minutos, 56°C por mínimo 8 minutos. Cuando la placa se encontraba en 56°C en espera, se agregó la mezcla de PE-Estreptavidina y posteriormente se analizó los resultados utilizando el fluoroanalizador de Luminex para obtener los diferentes alelos HLA presentes en cada muestra.

### **Análisis estadísticos**

Se calculó la frecuencia alélica para HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1 y HLA-DQB1 (Material Suplementario). La prueba exacta de Fisher fue utilizada para determinar la asociación de riesgo entre los alelos HLA y el cáncer cervical. Para los análisis estadísticos, se agruparon las muestras en dos grupos diferentes. El primer grupo correspondía a todas las muestras de neoplasia intraepitelial cervical, donde se agruparon los casos de NIC II y NIC III ( $n= 32$ ), mientras que, el segundo grupo estaba conformado por todas las muestras diagnosticadas con cáncer ( $n= 19$ ). Se comparó los diferentes alelos HLA de clase I y clase II entre los dos grupos (NIC y cáncer) utilizando la prueba exacta de Fisher para determinar si existían diferencias estadísticamente significativas. Los análisis estadísticos fueron realizados en el programa Rstudio y un valor de  $p<0.05$  fue considerado estadísticamente significativo.

### **RESULTADOS**

Se incluyeron 26 (50.1%) muestras de Pichincha (PI), 5 (9.8%) muestras de Imbabura (IM), 4 (7.8%) muestras de Carchi (CA), 3 (5.9%) muestras de Chimborazo (CH), 3 (5.9%) muestras de Cotopaxi (CO), 3 (5.9%) muestras de Sucumbíos (SU), 2 (3.9%) muestras de Manabí (MA) y 1 (1.9%) muestra de cada provincia incluyendo Napo (NA), Bolívar (BO), El Oro (EO), Esmeraldas (ES) y Los Ríos (LR) (Tablas 1, 2 y 3).

Se observaron ciertas diferencias en la distribución de alelos asociados a los tres genotipos incluidos en el estudio; el alelo HLA-A\*02 fue el más frecuente en los genotipos VPH-16 y VPH-58 y el alelo HLA-A\*24 en el VPH-52. Por otro lado, el alelo HLA-B\*35 fue el más común en los tres genotipos estudiados. El alelo HLA-C\*04 fue el más común en los genotipos VPH-16 y VPH-52, mientras que en el genotipo VPH-58, el alelo HLA-C\*07 y el HLA-C\*03 fueron los más frecuentes. Finalmente, los alelos HLA-DRB1\*04 y HLA-DQB1\*03 fueron los más frecuentes en los tres genotipos estudiados.

En las muestras con genotipo VPH-16 se encontró que los alelos HLA-A\*02 (55.2%) y HLA\*24 (34.5%) fueron los más comunes. Para HLA-B, los alelos más comunes fueron HLA-B\*35 (55.2%) y HLA-B\*40 (24.1%). Para HLA-C, los alelos más comunes fueron HLA-C\*04 en 12 muestras (41.4%), HLA-C\*01 y HLA-C\*03 en 8 muestras (27.6%). En el caso de HLA-DRB1, el alelo más común fue el HLA-DRB1\*04 (44.8%) y los alelos HLA-DRB1\*09 (24.1%), HLA-DRB1\*08 (24.1%) y HLA-DRB1\*14 (24.1%). Finalmente, para HLA-DQB1, los alelos más comunes fueron el HLA-DQB1\*03 (86.2%) y el HLA-DQB1\*02 (24.1%). (Tabla 1).

En el caso de las muestras con genotipo VPH-58 se encontraron los siguientes alelos: para HLA-A, los alelos HLA-A\*02 (73.3%) y HLA\*24 (40%) también fueron los más comunes. Para HLA-B, el alelo más común fue HLA-B\*35 (33.3%). Para HLA-C, los alelos más comunes fueron HLA-C\*07 (33.3%), HLA-C\*03 (33.3%) y HLA-C\*04 (26.7%). En el caso de HLA-DRB1, el alelo más común fue el HLA-DRB1\*04 (46.7%) y el alelo HLA-DRB1\*08 (26.7%). Finalmente, para HLA-DQB1, los alelos más comunes fueron el HLA-DQB1\*03 (66.7%) y el HLA-DQB1\*04 (40%). (Tabla 2).

Para las muestras con genotipo VPH52 se encontraron los siguientes alelos: en el caso de HLA-A, los alelos HLA-A\*02 (57.1%) y HLA\*24 (57.1%). Para HLA-B, el alelo más común fue HLA-B\*35 (85.7%). Para HLA-C, el alelo HLA-C\*04 (42.9%) fue el más común. En el caso

de HLA-DRB1, los alelos más comunes fueron el HLA-DRB1\*04 (42.9%), HLA-DRB1\*08 (42.9%) y HLA-DRB1\*16 (42.9%). Finalmente, para HLA-DQB1, los alelos más comunes fueron el HLA-DQB1\*03 (71.4%) y el HLA-DQB1\*04 (42.9%) (Tabla 3).

Al realizar las comparaciones entre los alelos HLA-A, B, C, DRB1 y DQB1, los genotipos y los tipos de lesiones, no se pudieron encontrar diferencias estadísticamente significativas.

**Tabla 1:** Alelos HLA Clase I y Clase II, tipo de lesión y origen geográfico en el genotipo VPH-

16

Locus	Alelo	n	Resultado histopatológico			Origen Geográfico
			NIC II	NIC III	Cáncer	
HLA-A	2	16	6	7	3	IM, CA, NA, PI, CO, CH
	32	2			2	CA, CH
	29	3		2	1	CA, SU, PI
	24	10	4	4	2	PI, CO, SU
	23	1			1	IM
	31	2	1	1		PI, CO
	3	3	1	1	1	BO, PI, IM
	30	1			1	BO
	68	4	1	3		CH, IM, PI, SU
	33	1		1		PI
HLA-B	39	4	2	2		IM, CA, CO
	27	2		1	1	CA, PI
	40	7	3	2	2	CA, PI, CO, CH, SU
	35	16	3	10	3	CA, NA, IM, PI, CH, CO
	51	4	1	3		NA, PI, CH
	44	3		1	2	PI, SU
	45	1			1	IM
	7	2		1	1	PI, BO
	48	3	2		1	CH, PI, SU
	52	1			1	CH
	13	1		1		IM
	18	1		1		PI
	15	2	1	1		PI
55	1	1			PI	
HLA-C	7	5	2	2	1	IM, CA, PI, BO, CO
	1	8	2	3	3	CA, PI
	3	8	3	3	2	CA, PI, CO, CH, SU, IM
	4	12	3	8	1	CA, NA, IM, PI, CH, CO

	15	4	1	3		NA, PI, CH
	6	3		1	2	IM, BO
	8	3	2		1	CH, PI, SU
	12	1			1	CH
	5	1		1		PI
	16	2		1	1	SU, PI
	2	1		1		PI
	9	7	2	5		IM, CA, PI
	16	4	1	2	1	PI, CH, IM
	1	2		1	1	CA, PI
	4	13	5	4	4	CA, NA, PI, CO, CH, SU
	7	6		3	3	CA, IM, BO, PI, SU
<b>HLA-DRB1</b>	14	7	3	4		IM, PI, CH, CO
	8	7	1	4	2	NA, IM, CH, PI, SU
	13	2	2			PI
	15	1		1		PI
	11	2	1		1	PI, BO
	3	1		1		PI
	3	25	8	12	5	IM, CA, PI, NA, BO, CO, CH, SU
	5	3		2	1	CA, PI
<b>HLA-DQB1</b>	2	7		4	3	PI, SU, BO, IM
	4	5	1	4		NA, CH, PI, SU
	6	4	2	1	1	IM, PI

**Tabla 2:** Alelos HLA Clase I y Clase II, tipo de lesión y origen geográfico en el genotipo VPH-

58

Locus	Alelo	n	Resultado histopatológico			Origen Geográfico
			NIC II	NIC III	Cáncer	
<b>HLA-A</b>	2	11	2	3	6	EO, IM, ES, PI, CA, CO
	32	1			1	IM
	29	1			1	PI
	24	6	1	2	3	ES, MA, PI, CO
	31	1			1	MA
	68	1			1	PI
<b>HLA-B</b>	39	2	1	1		PI, CA
	27	1		1		ES
	40	3	1	1	1	EO, PI
	35	5		1	4	ES, MA, PI, LR
	51	2	1	1		PI
	44	1			1	IM
	45	1			1	LR

	7	1			1	EO, MA
	18	1			1	IM
	58	1			1	PI
	14	1	1			PI
<b>HLA-C</b>	7	5	1	1	3	EO, MA, PI, CA
	1	1		1		PI
	3	5	1	1	3	EO, ES, PI, CO
	4	4	1		3	MA, PI, LR
	15	1			1	PI
	6	1			1	LR
	8	3	1	1	1	PI, CO
	12	1			1	IM
	5	1			1	IM
	2	1		1		ES
<b>HLA-DRB1</b>	9	1			1	CO
	16	1			1	PI
	1	2	1		1	MA, PI
	4	7	1	2	4	EO, ES, PI, CA, LR
	14	3			1	PI, CO
	8	4	1		3	MA, PI
	13	2			1	EO, IM
	15	2		1	1	IM, ES
	11	1		1		PI
	3	2	1		1	PI, LR
<b>HLA-DQB1</b>	3	10	1	4	5	EO, ES, PI, CA, CO, LR, SU
	5	3	1		2	MA, PI
	2	3	1		2	PI, LR
	4	6	1	1	4	MA, PI, SU
	6	3		1	2	EO, IM, ES

**Tabla 3:** Alelos HLA Clase I y Clase II, tipo de lesión y origen geográfico en el genotipo VPH-

52

Locus	Alelo	# muestras	Resultado histopatológico			Origen Geográfico
			NIC II	NIC III	Cáncer	
<b>HLA-A</b>	2	4	1	1	2	PI, MA
	29	1		1		MA
	24	4	1	1	2	PI, IM
	3	1	1			PI
	11	1	1			PI
<b>HLA-B</b>	27	1			1	PI
	40	1		1		MA

	35	6	2	1	3	PI, IM
	44	1		1		MA
	7	1	1			PI
	7	1	1			PI
<b>HLA-C</b>	1	2		1	1	PI, IM
	3	2		1	1	MA
	4	3	1		2	PI
	16	1		1		MA
	2	1			1	PI
	9	1			1	PI
<b>HLA-DRB1</b>	16	3	1	2		MA, IM, PI
	4	3		1	2	PI, IM
	8	3	2	1		MA, PI
	15	2	1		1	PI
	3	5		2	3	PI, IM, MA
<b>HLA-DQB1</b>	5	1	1			PI
	4	3	2	1		MA, PI
	6	2	1		1	PI

Adicionalmente, se realizó una comparación entre los alelos y el tipo de lesión. En este caso, el alelo HLA-A\*02 fue el más común en los casos de NIC II, NIC III y cáncer. En el caso de HLA-C, el alelo HLA-C\*07 fue más frecuente en las muestras de NIC II, mientras que el alelo HLA-C\*03 fue más frecuente en muestras de cáncer y el alelo HLA-C\*01 fue más frecuente en muestras de NIC III. Para los alelos HLA-DRB1, el alelo HLA-DRB1\*04 fue más frecuente en muestras de cáncer, mientras que el alelo HLA-DRB1\*14 fue más frecuente en muestras de NIC II; por otro lado, los alelos HLA-DRB1\*01 y HLA-DRB1\*15 fueron los más prevalentes en las lesiones de cáncer. Finalmente, dentro de los alelos HLA-DQB1, el alelo HLA-DQB1\*02, HLA-DQB1\*03, HLA-DQB1\*05 y HLA-DQB1\*06 fueron más frecuentes en los casos de cáncer, y HLA-DQB1\*04 fue más frecuente en las lesiones tipo NIC II.

## DISCUSION

La respuesta inmunitaria del hospedador juega un papel muy importante en la eliminación de la infección de VPH y en la persistencia del virus que puede conllevar al desarrollo de cáncer. Existen algunos estudios que reportan asociaciones de alelos HLA Clase I y Clase II con cáncer

cervical y VPH 16 (Dao et al., 2005). En Ecuador, la información sobre los alelos HLA circulantes y su relación con el cáncer cervical es escasa. Después de un análisis de la literatura, este sería el primer estudio en el Ecuador donde se analiza la relación entre HLA, VPH y cáncer cervical.

Los alelos HLA-A\*02 y HLA-A\*24 estuvieron presentes en los tres genotipos tanto en las lesiones tipo NIC II y NIC III, como en las muestras de cáncer. En el caso de HLA-A\*02, se ha demostrado que este alelo está asociado con un mayor riesgo de desarrollar cáncer cervical en estudios realizados en mujeres japonesas y suecas con VPH 16 y cáncer cervical, (Wright et al., 2022). En Bolivia se encontró que este alelo era uno de los más frecuentes encontrados en la población; sin embargo, los investigadores no lograron encontrar asociaciones estadísticamente significativas entre este alelo y el cáncer cervical y se cree que esto podría deberse a la baja prevalencia de este alelo en la población de pacientes infectados que formaron parte del estudio y al bajo número de pacientes con lesiones precancerosas y cancerosas incluidas en el mismo (Cervantes et al., 2003). Por otro lado, la base de datos Allele Frequency Net muestra los alelos HLA más comunes en los diferentes continentes y el alelo HLA-A\*02 es uno de los más comunes encontrados en Centro y Sudamérica (Gonzalez-Galarza et al., 2020); se cree que este alelo, al no ser común en otros continentes, podría estar relacionado con la etnia; sin embargo, no hay estudios concluyentes sobre este alelo y si verdaderamente tiene una relación con etnias específicas (González-Galarza et al., 2020). Este alelo ha sido estudiado en otras infecciones virales; por ejemplo, en un estudio realizado en pacientes con SARS-CoV-2, se observó que los linfocitos T CD8+ que reconocen los péptidos del SARS-CoV-2 presentados por el alelo HLA-A\*02:01 tenían una prevalencia baja y tenían una menor eficiencia para la eliminación del virus, lo que podría significar que los pacientes que posean este alelo tienen un mayor riesgo relativo de adquirir la enfermedad (Habel et al., 2020). Otro estudio realizado en pacientes seronegativos de HIV mostró que el alelo HLA-A\*02:01 estaba

presente en una menor frecuencia en estos pacientes, por lo que podría estar asociado con un mayor riesgo de adquirir VIH (Rallon et al., 2017). Finalmente, también se ha observado que este mismo alelo, podría estar relacionado con una mayor capacidad de eliminación del virus de la hepatitis C en la población de China (Huang et al., 2016). El hecho de que diferentes variaciones de este alelo HLA-A\*02 estén relacionadas con algunas infecciones virales, incrementa la evidencia para poder considerarlo como uno de los principales alelos a ser estudiado tanto en cáncer cervical, así como también en otras infecciones virales.

En el caso del locus HLA-B, los alelos que se encontraron con mayor frecuencia fueron HLA-B\*35 y HLA-B\*40 en los tres genotipos y se encontraron en lesiones NIC II, NIC III y en cáncer. En Bolivia se encontró una alta prevalencia del alelo HLA-B\*35 a pesar del bajo número de muestras analizadas (Cervantes et al., 2003); esto podría sugerir una posible asociación entre este alelo y el cáncer de cuello uterino, pero se necesitan estudios en cohortes más grandes. Además, estudios realizados en mujeres con cáncer de cuello uterino en India mostraron que el alelo HLA-B\*35 se asoció con un mayor riesgo de desarrollar cáncer de cuello uterino, mientras que el alelo HLA-B\*40 se asoció con un menor riesgo de desarrollar cáncer (Gokhale et al., 2014). Además, el alelo HLA-B\*40 se ha asociado con un mayor riesgo de desarrollar una infección por VPH y lesiones precancerosas o cancerosas en estudios realizados en Brasil (Bahls et al., 2017). Hay que recalcar que el alelo HLA-B\*07 ha demostrado asociaciones estadísticamente significativas con el cáncer cervical en Costa Rica, China y Estados Unidos (Zehbe et al., 2003); sin embargo, este alelo no presentó una alta frecuencia en el presente estudio. Un metaanálisis donde se evaluó las asociaciones entre alelos HLA de clase I y clase II e infección con VPH 16 encontró asociaciones positivas para los alelos HLA-B\*40 y HLA-B\*07 (Bhaskaran & ArunKumar, 2019). Adicionalmente, estudios realizados en pacientes con infección por el virus de hepatitis B, han mostrado que el alelo HLA-B\*40:03 está asociado con un mayor riesgo de adquirir una infección y desarrollar hepatocarcinoma ya

que se observó que este alelo no permite generar una respuesta inmune adecuada para la eliminación de la hepatitis B en los pacientes infectados (Wang et al., 2022). Estudios realizados en pacientes con SARS-CoV-2 han demostrado que HLA-B\*07:02 genera una respuesta de células T específica que está asociada con una menor severidad de la enfermedad y una alta eficacia, por lo que actuaría como un factor protector en los pacientes (Habel et al., 2020; Peng et al., 2022). Como es posible observar, ciertos alelos de HLA podrían ser considerados como factores de riesgo en ciertas enfermedades y como factores protectores en otras, recalcando así la importancia del estudio específico de los alelos HLA y el establecimiento de asociaciones teniendo en cuenta la población de estudio, el virus y el alelo que se está estudiando.

Para el locus HLA-C, los alelos HLA-C\*07, HLA-C\*03, HLA-C\*01 y HLA-C\*04 estaban presentes en VPH-16, VPH-58 y VPH-52 tanto en todas las lesiones. Existen pocos estudios que encuentren asociaciones entre este locus y el cáncer cervical; en un estudio realizado en Bolivia, el alelo HLA-C\*04 fue el que presentó una mayor prevalencia en pacientes con cáncer cervical, pero estos hallazgos no fueron estadísticamente significativos (Cervantes et al., 2003). Por otro lado, en el meta análisis mencionado previamente, el alelo HLA-C\*04 mostró una asociación negativa significativa con VPH16, lo que indica que se podría comportar como un factor protector contra el cáncer cervical (Medina et al., 2014). Estudios realizados en Brasil, en pacientes con lesiones tipo NIC II y NIC III, han encontrado que el alelo HLA-C\*03:04 está asociado con un mayor riesgo de desarrollar estas lesiones (Gonçalves et al., 2021). De la misma manera, pacientes con SARS-CoV-2 mostraron una mayor severidad de la enfermedad asociada al alelo HLA-C\*01:04 y esta severidad estaba asociada al mismo tiempo con la edad y el género de los pacientes (Hovhannisyan et al., 2022).

La mayoría de los estudios han centrado los análisis en los alelos HLA clase II. En este estudio, para el locus HLA-DRB1, los alelos que se encontraron en los tres genotipos fueron HLA-

DRB1\*09, HLA-DRB1\*16, HLA-DRB1\*04, HLA-DRB1\*08 y HLA-DRB1\*14 en lesiones NIC II, NIC III y cáncer. A pesar de que ciertos alelos mostraban prevalencias más altas, no se encontraron diferencias significativas. Un estudio reciente realizado en Colombia en mujeres con una infección por VPH encontró que ciertos alelos como el HLA-DRB1\*0408, \*0402, \*0801 y \*0804 estaban asociados con un mayor riesgo de desarrollar una infección persistente por el VPH, recalcando la importancia del estudio de varios de estos alelos (Del-Río Ospina et al., 2020). Estudios realizados en Argentina, México y Costa Rica han asociado al alelo HLA-DRB1\*04 con un mayor riesgo de desarrollar cáncer cervical (Rey et al., 2012; Eiguchi et al., 2008; Wang et al., 2001). Este alelo estuvo entre los alelos detectados con mayor frecuencia para este locus y al compararlo con resultados obtenidos en otros estudios, se podría sugerir que puede estar involucrado con un mayor riesgo de desarrollar cáncer cervical. De la misma manera, este alelo ha sido involucrado con un mayor riesgo de infección por el virus de Chikungunya y con una mayor probabilidad de desarrollar una enfermedad sintomática y severa para el SARS-CoV-2 (Sáenz & Romero, 2021; Rueda et al., 2021). El alelo HLA-DRB1\*14 también ha sido relacionado positivamente con el cáncer cervical (Paaso et al., 2019); sin embargo, a pesar de que este alelo fue encontrado en nuestro estudio, no presentó una alta frecuencia. Este alelo también ha estado relacionado como uno de los principales factores de riesgo genéticos en estudios realizados en pacientes con esclerosis múltiple ya que puede presentarse una alteración en las células T y la eficiencia de la respuesta inmune (De Mol et al., 2021).

En el caso del locus HLA-DQB1, se encontraron los alelos DQB1\*03, DQB1\*04, DQB1\*05 y DQB1\*06 en los tres genotipos en todos los tipos de lesiones. El alelo más frecuente, HLA-DQB1\*03, ha sido asociado con un mayor riesgo de desarrollar cáncer cervical en varios estudios realizados en Reino Unido, China, India, España, Japón, Irán, Honduras y Venezuela (Safaeian et al., 2014; Eiguchi et al., 2008; Alaez et al., 2011; Wang et al., 2001; Ferrera et al.,

1999). Estos estudios fueron realizados en pacientes con lesiones tipo NIC y con cáncer cervical, lo que concuerda con lo obtenido en el presente estudio en donde este alelo está presente tanto en las lesiones tipo NIC II, NIC III y cáncer cervical. Estudios en Brasil y en México, han encontrado diferentes alelos pertenecientes a HLA-DQB1\*05 como factores de riesgo para desarrollar cáncer cervical (Gonçalves et al., 2021; Alaez et al., 2011). Por otro lado, el alelo HLA-DQB1\*06 ha sido catalogado como un factor protector en estudios realizados en Argentina (Eiguchi et al., 2008).

Los estudios mencionan que los alelos HLA-A\*02, HLA-A\*24, HLA-B\*25, HLA-B\*44, HLA-C\*04, HLA-DQB1\*03, HLA-DQB1\*02, HLA-DQB1\*04, and HLA-DRB1\*04 generalmente son los más comunes en Sudamérica (Odunsi et al., 1995). Adicionalmente, un estudio realizado en Ecuador por Galarza y colaboradores encontró que los alelos HLA-A\*02, HLA-A\*24, HLA-B\*35, HLA-B\*39, HLA-B\*40:02, HLA-B\*51, HLA-DRB1\*04, HLA-DRB1\*14, HLA-DQB1\*06 y HLA-DQB1\*03:02 son los más comunes en el país al estudiar una cohorte de 1101 donadores o receptores de órganos. Los alelos encontrados en este estudio son similares a estudios previos en poblaciones de Cayapas, Afroecuatorianos y Amerindios en Ecuador, así como también en otras etnias nativas de Sudamérica como los Mapuches, Aymaras y Quechuas de Bolivia y Perú (Galarza et al., 2018; Blagitko et al., 1997). Varios de estos alelos fueron identificados en nuestro estudio; sin embargo, debido al bajo número de muestras incluido en el estudio, no se puede concluir con certeza si juegan un papel importante en el desarrollo del cáncer cervical. Adicionalmente, la información sigue siendo limitada por lo que es importante el estudio de los alelos HLA en la región y en el país teniendo en cuenta las diferencias poblacionales que pueden encontrarse.

Al mismo tiempo, es importante recalcar que existen alelos en una misma región geográfica que han sido catalogados tanto como un factor de riesgo y como un factor protector. En estudios realizados en Brasil, el alelo DQB1\*0502 fue identificado como un factor de riesgo y un factor

protector (Gonçalves et al., 2021). Por otro lado, también es importante tomar en cuenta que la mayoría de los estudios de asociación entre VPH, HLA y cáncer cervical son llevados a cabo en pacientes con una infección de VPH con el genotipo 16 y no se ha extendido a entender la relación con otros genotipos de VPH de alto riesgo y con un número pequeño de muestras.

El HLA juega un papel importante en la regulación de la inmunidad mediada contra patógenos. Las moléculas HLA de clase I y II son altamente polimórficas. Las personas que expresan diferentes alelos HLA pueden diferir en su capacidad para presentar un conjunto determinado de péptidos derivados del VPH; por lo tanto, los alelos HLA influyen en el resultado de la infección (Gough & Simmonds, 2007). Existen estudios donde se ha demostrado que alelos específicos de HLA clase I y clase II están asociados con la eliminación o la infección persistente del virus de la hepatitis C; al igual que en el VPH, se cree que estos alelos son específicos para cada etnia y para el genotipo del virus (Huang et al., 2016). Adicionalmente, existen diversos estudios donde se relaciona a los alelos HLA con diferentes virus como por ejemplo el dengue, la hepatitis B, la influenza y el VIH. Sin embargo, varios de estos estudios muestran resultados diversos dependiendo de la población de estudio y del virus, esto podría explicarse debido al alto nivel de polimorfismo encontrado en las moléculas HLA (Gough & Simmonds, 2007). Por otro lado, se han realizado estudios recientes donde se relaciona el curso de la infección de SARS-CoV-2 con ciertos alelos HLA (Tavasolian et al., 2021). Se cree que poseer ciertos alelos HLA podría estar asociado a la susceptibilidad y severidad de la enfermedad; sin embargo, al ser una enfermedad tan reciente, se necesita un mayor tiempo para determinar si en verdad existe una asociación (Tavasolian et al., 2021). A pesar de esto, tales análisis pueden contribuir a identificar a personas que tengan un mayor riesgo de contraer la enfermedad y al mismo tiempo podrían ayudar a explicar las diferencias observadas entre poblaciones (Tavasolian et al., 2021; Shanmugasundaram & You, 2017).

La principal limitación de este estudio es el número de muestras utilizado. Debido al alto polimorfismo del HLA, es importante realizar estudios a gran escala y con un mayor número de muestras. Es importante recalcar la dificultad de conseguir muestras con una infección por VPH de alto riesgo que tengan además una lesión precancerosa o cancerosa ya que muchas de estas lesiones pueden tomar entre 2 o más años en desarrollarse; adicionalmente, la mayoría de las infecciones por VPH se resuelven de manera espontánea (Della Ferra et al., 2021). Adicionalmente, es importante recalcar que este es un estudio piloto que revela la presencia de los alelos presentes en el Ecuador lo que puede servir como una herramienta para estudios a futuro y para elucidar el rol de los HLA en la infección persistente por VPH y la progresión a cáncer cervical. Otra de las limitaciones del estudio fue la falta de información sociodemográfica y de antecedentes personales de las pacientes, para poder realizar análisis adicionales con otros posibles factores de riesgo.

En conclusión, este es el primer estudio en Ecuador que trata de elucidar la asociación entre VPH, HLA y lesiones precancerosas y cancerosas. Se identificaron los alelos HLA-A\*02, HLA-A\*24, HLA-B\*35, HLA-C\*04, HLA-DRB1\*04, HLA-DQB1\*03 y HLA-DQB1\*04 como los más frecuentes. Varios de estos alelos han sido previamente reportados en poblaciones ecuatorianas; sin embargo, no se ha estudiado su relación con el VPH. A pesar de esto, la presencia de estos alelos podría sugerir que los alelos encontrados en nuestro estudio reflejan la distribución de los mismos a nivel del país y al verse relacionados como factores de riesgo en otros estudios, se podría sugerir que en el país estos alelos podrían estar involucrados en el desarrollo de cáncer cervical; sin embargo, debido al bajo número de muestras, es necesario realizar nuevos estudios. En enfermedades como el cáncer cervical es importante estudiar no solamente al virus, sino también los factores del hospedador que pueden influenciar la progresión de la enfermedad. El establecimiento de posibles relaciones entre HLA y VPH de alto riesgo permite que se elaboren planes de prevención y de control enfocados a estos

nuevos hallazgos acorde al comportamiento del virus y de los HLA presentes en cada región. El cáncer cervical es una enfermedad que puede ser prevenida y el estudio de los diferentes factores de riesgo asociados con esta enfermedad pueden ayudar a reducir el número de mujeres infectadas y de muertes en todo el mundo.

## REFERENCIAS

- Alaez-Verson, C., Berumen-Campos, J., Munguía-Saldaña, A., Flores-Aguilar, H., Guardado-Estrada, M., Rodríguez-Gomez, A., & Gorodezky-Lauferman, C. (2011). HPV-16 and HLA-DRB1 alleles are associated with cervical carcinoma in Mexican Mestizo women. *Archives of Medical Research*, 42(5), 421–425. <https://doi.org/10.1016/J.ARCMED.2011.07.002>
- Antaño-Arias, R., Moral-Hernández, O. Del, Ortiz-Ortiz, J., Alarcón-Romero, L. D. C., Navor-Hernández, J. A., Leyva-Vázquez, M. A., Jiménez-López, M. A., Organista-Nava, J., & Illades-Aguilar, B. (2021). E6/E7 Variants of Human Papillomavirus 16 Associated with Cervical Carcinoma in Women in Southern Mexico. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS10060773>
- Armijo, D., & Sanchez, K. (2019). Prevalence of human papillomavirus (HPV) genotypes in Ecuadorian women. *Revista Bionatura*, 4(4). <https://doi.org/10.21931/RB/2019.04.04.12>
- Bao, X., Hanson, A. L., Madeleine, M. M., Wang, S. S., Schwartz, S. M., Newell, F., Pettersson-Kymmer, U., Hemminki, K., Tiews, S., Steinberg, W., Rader, J. S., Castro, F., Safaeian, M., Franco, E. L., Coutlée, F., Ohlsson, C., Cortes, A., Marshall, M., Mukhopadhyay, P., ... Leo, P. J. (2018). HLA and KIR Associations of Cervical Neoplasia. *The Journal of Infectious Diseases*, 218(12), 2006. <https://doi.org/10.1093/INFDIS/JIY483>
- Bee, K. J., Gradissimo, A., Chen, Z., Harari, A., Schiffman, M., Raine-Bennett, T., Castle, P. E., Clarke, M., Wentzensen, N., & Burk, R. D. (2021). Genetic and epigenetic variations of hpv52 in cervical precancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(12). <https://doi.org/10.3390/IJMS22126463/S1>

- Bedoya-Pilozo, C. H., Medina Magües, L. G., Espinosa-García, M., Sánchez, M., Parrales Valdiviezo, J. V., Molina, D., Ibarra, M. A., Quimis-Ponce, M., España, K., Párraga Macias, K. E., Cajas Flores, N. V., Orlando, S. A., Robalino Penaherrera, J. A., Chedraui, P., Escobar, S., Loja Chango, R. D., Ramirez-Morán, C., Espinoza-Caicedo, J., Sánchez-Giler, S., ... Badano, I. (2018). Molecular epidemiology and phylogenetic analysis of human papillomavirus infection in women with cervical lesions and cancer from the coastal region of Ecuador. *Revista Argentina de Microbiología*, *50*(2), 136–146. <https://doi.org/10.1016/J.RAM.2017.06.004>
- Bhaskaran, M., & ArunKumar, G. P. (2019). A meta-analysis of association of Human Leukocyte Antigens A, B, C, DR and DQ with Human Papillomavirus 16 infection. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, *68*, 194–202. <https://doi.org/10.1016/J.MEEGID.2018.12.026>
- Blagitko, N., O’Huigin, C., Figueroa, F., Horai, S., Sonoda, S., Tajima, K., Watkins, D., & Klein, J. (1997). Polymorphism of the HLA-DRB1 locus in Colombian, Ecuadorian, and Chilean Amerinds. *Human Immunology*, *54*(1), 74–81. [https://doi.org/10.1016/S0198-8859\(97\)00005-0](https://doi.org/10.1016/S0198-8859(97)00005-0)
- Brestovac, B., Wong, M. E., Tjendera, R., Costantino, P. J., Mamotte, C., & Witt, C. S. (2013). Human papillomavirus, high-grade intraepithelial neoplasia and killer immunoglobulin-like receptors: a Western Australian cohort study. *Infectious Agents and Cancer*, *8*(1). <https://doi.org/10.1186/1750-9378-8-33>

- Bruni L, Albero G, Serrano B, Mena M, Collado JJ, Gómez D, Muñoz J, Bosch FX, de Sanjosé S. ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in the World. Summary Report 22 October 2021.
- Cai, H., Feng, Y., Fan, P., Guo, Y., Kuerban, G., Chang, C., Yao, X., Peng, Y., & Wang, R. (2021). HPV16 E6-specific T cell response and HLA-A alleles are related to the prognosis of patients with cervical cancer. *Infectious Agents and Cancer*, 16(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/S13027-021-00395-Y/TABLES/4>
- Cervantes, J. (2013). Aspectos inmunológicos de la infección por papilomavirus humano. Rol del complejo mayor de histocompatibilidad. *Revista Médica Herediana*, 14(2), 94. <https://doi.org/10.20>
- Cervantes, J., Lema, C., Hurtado, L. V., Andrade, R., Gomez, L. H., Torrico, L., Zegarra, L., Quiroga, G., Asturizaga, D., Dulon, A., Prada, R., Panoso, W., Yashiki, S., Fujiyoshi, T., & Sonoda, S. (2003). HLA-DRB1\*1602 allele is positively associated with HPV cervical infection in Bolivian Andean women. *Human Immunology*, 64(9), 890–895. [https://doi.org/10.1016/S0198-8859\(03\)00163-0](https://doi.org/10.1016/S0198-8859(03)00163-0)
- Chou, Y. C., Chen, C. H., Chen, M. J., Chang, C. W., Chen, P. H., Yu, M. H., Chen, Y. J., Tsai, E. M., Yang, P. S., Lin, S. Y., & Tzeng, C. R. (2020). Killer cell immunoglobulin-like receptors (KIR) and human leukocyte antigen-C (HLA-C) allorecognition patterns in women with endometriosis. *Scientific Reports* 2020 10:1, 10(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61702-y>
- Clifford, G. M., Tenet, V., Georges, D., Alemany, L., Pavón, M. A., Chen, Z., ... & Mirabello, L. (2019). Human papillomavirus 16 sub-lineage dispersal and cervical cancer risk

worldwide: Whole viral genome sequences from 7116 HPV16-positive women. *Papillomavirus Research*, 7, 67-74.

Cohen, P. A., Jhingran, A., Oaknin, A., & Denny, L. (2019). Cervical cancer. *Lancet (London, England)*, 393(10167), 169–182. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32470-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32470-X)

Dalgo Aguilar, P., Loján González, C., Córdova Rodríguez, A., Acurio Paéz, K., Arévalo, A. P., & Bobokova, J. (2017). Prevalence of High-Risk Genotypes of Human Papillomavirus: Women Diagnosed with Premalignant and Malignant Pap Smear Tests in Southern Ecuador. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/8572065>

Dao, D. D., Sierra-Torres, C. H., Robazetti, S. C., De Gomez, M. N., König, R., Lema, C., Lester, L. J., Au, W. W., & Tyring, S. K. (2005). HLA-DQB1 and cervical cancer in Venezuelan women. *Gynecologic Oncology*, 96(2), 349–354. <https://doi.org/10.1016/J.YGYNO.2004.10.002>

de Mol, C. L., Looman, K. I. M., van Luijn, M. M., Kreft, K. L., Jansen, P. R., van Zelm, M. C., Smolders, J. J. F. M., White, T. J. H., Moll, H. A., & Neuteboom, R. F. (2021). T cell composition and polygenic multiple sclerosis risk: A population-based study in children. *European Journal of Neurology*, 28(11), 3731–3741. <https://doi.org/10.1111/ENE.15019>

Del Río-Ospina, L., Camargo, M., Soto-De León, S. C., Sánchez, R., Moreno-Pérez, D. A., Patarroyo, M. E., & Patarroyo, M. A. (2020). Identifying the HLA DRB1-DQB1 molecules and predicting epitopes associated with high-risk HPV infection clearance and redetection. *Scientific Reports*, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64268-x>

- Della Fera, A. N., Warburton, A., Coursey, T. L., Khurana, S., & McBride, A. A. (2021). Persistent Human Papillomavirus Infection. *Viruses*, 13(2). <https://doi.org/10.3390/V13020321>
- Eiguchi, K., Tatti, S., Alonio, L. V., González, J. V., Leirós, G. J., Fleider, L., Vighi, S., Padros, K., Raimondi, E., Teyssié, A., & Picconi, M. A. (2008). Association of DRB1 and DQB1 HLA class II polymorphisms in high-grade and neoplastic cervical lesions of women from Argentina. *Journal of Lower Genital Tract Disease*, 12(4), 262–268. <https://doi.org/10.1097/LGT.0B013E3181729285>
- Ferrera, A., Olivo, A., Alaez, C., Melchers, W. J. G., & Gorodezky, C. (1999). HLA DQA1 and DQB1 loci in Honduran women with cervical dysplasia and invasive cervical carcinoma and their relationship to h
- Fonseca-Moutinho, J. A. (2011). Smoking and Cervical Cancer. *ISRN Obstetrics and Gynecology*, 2011, 1–6. <https://doi.org/10.5402/2011/847684>
- Galarza, J. M., Barquera, R., Álvarez, A. M. T., Hernández Zaragoza, D. I., Sevilla, G. P., Tamayo, A., Pérez, M., Dávila, D., Birnberg, L., Alonzo, V. A., Krause, J., & Grijalva, M. (2018). Genetic diversity of the HLA system in human populations from the Sierra (Andean), Oriente (Amazonian) and Costa (Coastal) regions of Ecuador. *Human Immunology*, 79(9), 639–650. <https://doi.org/10.1016/J.HUMIMM.2018.06.004>
- Giuliani, E., Rollo, F., Donà, M. G., & Garbuglia, A. R. (2021). Human Papillomavirus Oral Infection: Review of Methodological Aspects and Epidemiology. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 10(11). <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS10111411>

- Gonçalves, L. B., de França, P. P., Petry, N. A., de Souza Xavier, M. B., de Carvalho, N. S., Bicalho, M. da G., Boldt, A. B. W., & de Araujo-Souza, P. S. (2021). Inside the pocket: Critical elements of HLA-mediated susceptibility to cervical precancerous lesions. *HLA*, 98(5), 448–458. <https://doi.org/10.1111/TAN.14429>
- Gonzalez-Galarza, F. F., McCabe, A., Santos, E. J. M. Dos, Jones, J., Takeshita, L., Ortega-Rivera, N. D., Cid-Pavon, G. M. D., Ramsbottom, K., Ghattaoraya, G., Alfirevic, A., Middleton, D., & Jones, A. R. (2020). Allele frequency net database (AFND) 2020 update: gold-standard data classification, open access genotype data and new query tools. *Nucleic Acids Research*, 48(D1), D783–D788. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKZ1029>
- Gough, S. C., & Simmonds, M. (2007). The HLA Region and Autoimmune Disease: Associations and Mechanisms of Action. *Current Genomics*, 8(7), 453. <https://doi.org/10.2174/138920207783591690>
- Graham, S. V. (2010). Human papillomavirus: gene expression, regulation and prospects for novel diagnostic methods and antiviral therapies. *Future Microbiology*, 5(10), 1493–1506. <https://doi.org/10.2217/FMB.10.107>
- Habel, J. R., Nguyen, T. H. O., van de Sandt, C. E., Juno, J. A., Chaurasia, P., Wragg, K., Koutsakos, M., Hensen, L., Jia, X., Chua, B., Zhang, W., Tan, H. X., Flanagan, K. L., Doolan, D. L., Torresi, J., Chen, W., Wakim, L. M., Cheng, A. C., Doherty, P. C., ... Kedzierska, K. (2020). Suboptimal SARS-CoV-2-specific CD8<sup>+</sup> T cell response associated with the prominent HLA-A\*02:01 phenotype. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(39), 24384–24391. <https://doi.org/10.1073/PNAS.2015486117/-/DCSUPPLEMENTAL>

- Hovhannisyán, A., Madelian, V., Avagyan, S., Nazaretyan, M., Hyussyan, A., Sirunyan, A., Arakelyan, R., Manukyan, Z., Yepiskoposyan, L., Mayilyan, K. R., & Jordan, F. (2022). HLA-C\*04:01 Affects HLA Class I Heterozygosity and Predicted Affinity to SARS-CoV-2 Peptides, and in Combination with Age and Sex of Armenian Patients Contributes to COVID-19 Severity. *Frontiers in Immunology*, 13. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2022.769900>
- Hu, J. M., Liang, W. H., Qi, C. H., Wang, X. L., Pan, X. L., Qi, L. W., Shen, X. H., Li, J. F., Xie, Y. F., Pang, L. J., Liu, C. X., Zhang, H. J., Tao, L., & Li, F. (2018). HLA-DQB1\*03 and DRB1\*07 alleles increase the risk of cervical cancer among Uighur and Han women in Xinjiang, China. *https://Doi.Org/10.2217/Fon-2018-0048*, 14(20), 2005–2011. <https://doi.org/10.2217/FON-2018-0048>
- Hu, Y., Wu, J. Z., Zhu, H., Zhang, S. H., Zhu, Y. Y., Wu, Y. yao, & Shuai, C. X. (2017). Association of HLA-DRB1, HLA-DQB1 Polymorphisms with HPV 16 E6 Variants among Young Cervical Cancer Patients in China. *Journal of Cancer*, 8(12), 2401. <https://doi.org/10.7150/JCA.19809>
- Huang, J., Huang, K., Xu, R., Wang, M., Liao, Q., Xiong, H., Li, C., Tang, X., Shan, Z., Zhang, M., Rong, X., Nelson, K., & Fu, Y. (2016). The Associations of HLA-A\*02:01 and DRB1\*11:01 with Hepatitis C Virus Spontaneous Clearance Are Independent of IL28B in the Chinese Population. *Scientific Reports 2016 6:1*, 6(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep31485>
- Leo, P. J., Madeleine, M. M., Wang, S., Schwartz, S. M., Newell, F., Pettersson-Kymmer, U., Hemminki, K., Hallmans, G., Tiews, S., Steinberg, W., Rader, J. S., Castro, F., Safaeian, M., Franco, E. L., Coutlée, F., Ohlsson, C., Cortes, A., Marshall, M., Mukhopadhyay, P.,

- ... Brown, M. A. (2017). Defining the genetic susceptibility to cervical neoplasia—A genome-wide association study. *PLOS Genetics*, 13(8), e1006866. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PGEN.1006866>
- Mahmud, S. M., Robinson, K., Richardson, H., Tellier, P. P., Ferenczy, A. S., Roger, M., Coutlée, F., & Franco, E. L. (2007). HLA Polymorphisms and Cervical Human Papillomavirus Infection in a Cohort of Montreal University Students. *The Journal of Infectious Diseases*, 196(1), 82–90. <https://doi.org/10.1086/518612>
- Medina Efrain, Oliver Pedro, Neyra Elvia, Perez Jorge, Sánchez José, & Contreras Noé. (2014). Neoplasia intraepitelial cervical, análisis de las características clínico-patológicas | Gaceta Mexicana de Oncología. *Gaceta Mexicana de Oncología*, 13, 12–25. <https://www.elsevier.es/es-revista-gaceta-mexicana-oncologia-305-articulo-neoplasia-intraepitelial-cervical-analisis-caracteristicas-X166592011427863X>
- Mejía, L., Muñoz, D., Trueba, G., Tinoco, L., & Zapata, S. (2016). Prevalence of human papillomavirus types in cervical cancerous and precancerous lesions of Ecuadorian women. *Journal of Medical Virology*, 88(1), 144–152. <https://doi.org/10.1002/JMV.24310>
- Montiel Ramos, J., Bedoya, A. M., Flores García, V., & Sánchez Vázquez, G. I. (2010). Variantes del papilomavirus humano 16 y su asociación con el HLA en cáncer cervical. *Salud UIS*, 42, 272
- Mora, B. (2016). Immune and Genetic Susceptibility in the Development of Cervical Cancer. *International Journal of Cancer and Clinical Research*, 3(3). <https://doi.org/10.23937/2378-3419/3/3/1057>

- Muentes, G. D. G., García, M. A. M., Galárraga, R. I. B., Ollague, K., Wachter, C. V., & Cabezas, J. C. R. (2019). Frequency and distribution of HPV genotypes in 800 genital samples of Ecuadorian men and women from the city of Guayaquil. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, *61*. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946201961041>
- Odunsi, K., Terry, G., Ho, L., Bell, J., Cuzick, J., & Ganesan, T. S. (1995). Association between HLA DQB1 \* 03 and cervical intra-epithelial neoplasia. *Molecular Medicine (Cambridge, Mass.)*, *1*(2), 161–171. <https://doi.org/10.1007/BF03401564/TABLES/8>
- Oh, H. Y., Kim, M. K., Seo, S., Lee, D. O., Chung, Y. K., Lim, M. C., Kim, J., Lee, C. W., & Park, S. (2015). Alcohol consumption and persistent infection of high-risk human papillomavirus. *Epidemiology and Infection*, *143*(7), 1442–1450. <https://doi.org/10.1017/S0950268814002258>
- Paaso, A., Jaakola, A., Syrjänen, S., & Louvanto, K. (2019). From HPV Infection to Lesion Progression: The Role of HLA Alleles and Host Immunity. *Acta Cytologica*, *63*(2), 148–158. <https://doi.org/10.1159/000494985>
- Peng, Y., Felce, S. L., Dong, D., Penkava, F., Mentzer, A. J., Yao, X., Liu, G., Yin, Z., Chen, J. L., Lu, Y., Wellington, D., Wing, P. A. C., Dominey-Foy, D. C. C., Jin, C., Wang, W., Hamid, M. A., Fernandes, R. A., Wang, B., Fries, A., ... Dong, T. (2022). An immunodominant NP 105-113-B\*07:02 cytotoxic T cell response controls viral replication and is associated with less severe COVID-19 disease. *Nature Immunology*, *23*(1), 50–61. <https://doi.org/10.1038/S41590-021-01084-Z>
- Radley, D., Saah, A., & Stanley, M. (2016). Persistent infection with human papillomavirus 16 or 18 is strongly linked with high-grade cervical disease. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, *12*(3), 768–772. <https://doi.org/10.1080/21645515.2015.1088616>

- Rallón, N., Restrepo, C., Vicario, J. L., del Romero, J., Rodríguez, C., García-Samaniego, J., García, M., Cabello, A., Górgolas, M., & Benito, J. M. (2017). Human leucocyte antigen (HLA)-DQB1\*03:02 and HLA-A\*02:01 have opposite patterns in their effects on susceptibility to HIV infection. *HIV Medicine*, 18(8), 587–594. <https://doi.org/10.1111/HIV.12494>
- Ramachandran, D., & Dörk, T. (2021). Genomic risk factors for cervical cancer. *Cancers*, 13(20). <https://doi.org/10.3390/CANCERS13205137>
- Rey, D., Areces, C., Enríquez-De-Salamanca, M., Parga-Lozano, C., Abd-El-Fatah, S., Fernández, M., & Arnaiz-Villena, A. (2012). Los primeros pobladores de América y sus relaciones con poblaciones del Océano Pacífico según los genes HLA. *Inmunología*, 31(3), 83–91. <https://doi.org/10.1016/J.INMUNO.2011.12.002>
- Rueda, J. C., Santos, A. M., Angarita, J. I., Saldarriaga, E. L., Peláez-Ballestas, I., Espinosa, A. S., Briceño-Balcázar, I., Arias-Correal, S., Arias-Correal, J., Villota-Erazo, C., Reyes, V., Bernal-Macías, S., Cardiel, M. H., & Londono, J. (2021). Can presence of HLA type I and II alleles be associated with clinical spectrum of CHIKV infection? *Transboundary and Emerging Diseases*. <https://doi.org/10.1111/TBED.14387>
- Sáenz Hinojosa, S., & Romero, V. (2021). Risk HLA alleles in South America and potential new epitopes for SARS-CoV2. *Human Immunology*, 82(8), 561. <https://doi.org/10.1016/J.HUMIMM.2021.04.005>
- Safaeian, M., Johnson, L. G., Yu, K., Wang, S. S., Gravitt, P. E., Hansen, J. A., Carrington, M., Schwartz, S. M., Gao, X., Hildesheim, A., & Madeleine, M. M. (2014). Human leukocyte antigen class I and II alleles and cervical adenocarcinoma. *Frontiers in Oncology*, 4 JUN. <https://doi.org/10.3389/FONC.2014.00119/ABSTRACT>

- Sailema, N. R. L., de las Mercedes Hernández Bandera, N., Cisneros, J. E. L., & Jacome, A. G. L. (2021). Prevalence of HPV and risk factors in a population of symptomatic and asymptomatic women university, Ecuador 2020. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 61(2), 240–247. <https://doi.org/10.52808/BMSA.7E5.612.013>
- Shanmugasundaram, S., & You, J. (2017). Targeting Persistent Human Papillomavirus Infection. *Viruses*, 9(8). <https://doi.org/10.3390/V9080229>
- Sias, C., Salichos, L., Lapa, D., Del Nonno, F., Baiocchini, A., Capobianchi, M. R., & Garbuglia, A. R. (2019). Alpha, Beta, gamma human PapillomaViruses (HPV) detection with a different set of primers in oropharyngeal swabs, anal and cervical samples. *Virology Journal*, 16(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/S12985-019-1132-X/FIGURES/1>
- Tavasolian, F., Rashidi, M., Hatam, G. R., Jeddi, M., Hosseini, A. Z., Mosawi, S. H., Abdollahi, E., & Inman, R. D. (2021). HLA, Immune Response, and Susceptibility to COVID-19. *Frontiers in Immunology*, 11, 3581. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.601886/BIBTEX>
- Tornesello, M. L., Buonaguro, L., Izzo, S., Lopez, G., Vega, X., Reyes, C. F. M., & Buonaguro, F. M. (2008). A pilot study on the distribution of human papillomavirus genotypes and HPV-16 variants in cervical neoplastic lesions from Ecuadorian women. *Journal of Medical Virology*, 80(11), 1959–1965. <https://doi.org/10.1002/JMV.21317>
- Trabace, S. (2000). HLA and disease association. *The Journal of Headache and Pain* 2000 1:2, 1(2), S109–S113. <https://doi.org/10.1007/S101940070003>
- Wang, S. S., Wheeler, C. M., Hildesheim, A., Schiffman, M., Herrero, R., Bratti, M. C., Sherman, M. E., Alfaro, M., Hutchinson, M. L., Morales, J., Lorincz, A., Burk, R. D.,

- Carrington, M., Erlich, H. A., & Apple, R. J. (2001). Human leukocyte antigen class I and II alleles and risk of cervical neoplasia: results from a population-based study in Costa Rica. *The Journal of Infectious Diseases*, 184(10), 1310–1314. <https://doi.org/10.1086/324209>
- Wang, S. S., Hildesheim, A., Gao, X., Schiffman, M., Herrero, R., Bratti, M. C., Sherman, M. E., Barnes, W. A., Greenberg, M. D., Mc Gowan, L., Mortel, R., Schwartz, P. E., Zaino, R. J., Glass, A. G., Burk, R. D., Karacki, P., & Carrington, M. (2002). Comprehensive analysis of human leukocyte antigen class I alleles and cervical neoplasia in 3 epidemiologic studies. *The Journal of Infectious Diseases*, 186(5), 598–605. <https://doi.org/10.1086/342295>
- Wang, T., Qi, J., Li, H., Chen, L., Liu, S., & Shen, C. (2022). Human leukocyte antigen class I association with occult hepatitis B virus infection in the Shaanxi Han group: Analysis at the haplotype level. *The Journal of Gene Medicine*, 24(1). <https://doi.org/10.1002/JGM.3393>
- Wright Jason, Goff Barbara, & Chakrabarti Alana. (2022, March). *Cervical intraepithelial neoplasia: Management - UpToDate*. Up to Date. <https://www.uptodate.com/contents/cervical-intraepithelial-neoplasia-management>
- Zehbe, I., Mytilineos, J., Wikström, I., Henriksen, R., Edler, L., & Tommasino, M. (2003). Association between human papillomavirus 16 E6 variants and human leukocyte antigen class I polymorphism in cervical cancer of Swedish women. *Human Immunology*, 64(5), 538–542. [https://doi.org/10.1016/S0198-8859\(03\)00033-8](https://doi.org/10.1016/S0198-8859(03)00033-8)

Zhang, S., Xu, H., Zhang, L., & Qiao, Y. (2020). Cervical cancer: Epidemiology, risk factors and screening. *Chinese Journal of Cancer Research*, 32(6), 720.  
<https://doi.org/10.21147/J.ISSN.1000-9604.2020.06.05>

**ÍNDICE MATERIAL SUPLEMENTARIO**

<b>Tabla S1:</b> Comparación de las frecuencias alélicas de los alelos HLA tipificados entre los diferentes genotipos de VPH .....	52
<b>Tabla S2:</b> Comparación de las frecuencias alélicas de los alelos HLA tipificados entre los diferentes tipos de lesión.....	53

**Tabla S1:** Comparación de las frecuencias alélicas de los alelos HLA tipificados entre los diferentes genotipos de VPH.

HLA		Genotipo VPH		
		16	52	58
<b>HLA-A</b>	*02	0.40	0.33	0.58
	*29	0.08	0.08	0.04
	*24	0.24	0.42	0.25
<b>HLA-B</b>	*27	0.04	0.07	0.05
	*40	0.13	0.07	0.14
	*35	0.33	0.71	0.27
	*44	0.08	0.07	0.05
	*07	0.04	0.07	0.09
<b>HLA-C</b>	*07	0.12	0.14	0.25
	*03	0.16	0.14	0.21
	*01	0.16	0.21	0.04
	*04	0.24	0.36	0.17
	*02	0.02	0.07	0.04
<b>HLA-DRB1</b>	*09	0.13	0.14	0.04
	*16	0.07	0.21	0.04
	*04	0.27	0.29	0.32
	*08	0.13	0.21	0.14
	*15	0.02	0.14	0.07
<b>HLA-DQB1</b>	*03	0.63	0.57	0.47
	*05	0.05	0.07	0.10
	*04	0.09	0.21	0.20
	*06	0.07	0.14	0.13

**Tabla S2:** Comparación de las frecuencias alélicas de los alelos HLA tipificados entre los diferentes tipos de lesión.

HLA		Tipo de lesión			
		NIC II	NIC III	Cáncer invasor	Cáncer in situ
HLA-A	*02	0.50	0.47	0.33	0.41
	*24	0.27	0.22	0.17	0.32
HLA-B	*35	0.27	0.44	0.38	0.45
	*40	0.18	0.06	0.13	0.14
	*07	0.05	0.03	0.13	0.09
HLA-C	*07	0.27	0.12	0.17	0.14
	*03	0.18	0.15	0.33	0.14
	*01	0.09	0.18	0.17	0.14
HLA-DRB1	*04	0.25	0.22	0.38	0.42
	*14	0.17	0.11	0.13	0.08
	*01	0.04	0.03	0.13	0.04
	*15	0.04	0.06	0.13	0.04
HLA-DQB1	*02	0.04	0.15	0.25	0.12
	*03	0.58	0.60	0.38	0.62
	*04	0.17	0.15	0.13	0.08
	*05	0.08	0.05	0.13	0.04
	*06	0.13	0.05	0.13	0.15