



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD

HOSPITAL DE ONCOLOGÍA CMN SXXI

**"PATRÓN DE INFECCIÓN POR VIRUS DE PAPILOMA HUMANO DE ALTO RIESGO,
EN LESIONES PRE-INVASORAS E INVASORAS DEL CÉRVIX"**

TESIS DE POSGRADO

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:

CIRUGÍA ONCOLÓGICA

PRESENTA:

DRA. ARIZBETT URIBE JIMÉNEZ

ASESOR DE TESIS:

QBP. MAURICIO SALCEDO-VARGAS, DR. EN C.

MÉXICO, D.F.

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

UNIDAD DE ATENCIÓN MÉDICA
COORDINACIÓN DE UNIDADES MÉDICAS DE ALTA ESPECIALIDAD
UMAE HOSPITAL DE ONCOLOGÍA, C.M.N. SIGLO XXI
COMITÉ LOCAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD

7 de Abril del 2006

Dra. Dulce María Hernández Hernández
Investigador responsable

Informo a Usted que el proyecto titulado : " **EVALUACIÓN DE RECURRENCIA EN PACIENTES CON CARCINOMA CERVICOUTERINO EN ETAPAS CLÍNICAS IIB A IIIB POSTERIOR AL TRATAMIENTO CON QUIMIO-RADIACIÓN O RADIOTERAPIA SOLA** " fue sometido a la consideración del Comité Local de Investigación en Salud del Hospital de Oncología

Se adjunta copia de la opinión de los revisores y del Comité en pleno con base en los cuales se emitió dictamen de: **APROBADO** con el número de registro **R-2006-3602-1** de este Comité.

Atentamente

Dr. Marcos Gutiérrez de la Barrera
Secretario Ejecutivo del Comité Local de Investigación en Salud

Anexo: comentarios

Con copia:

- Dr. Alfonso Fajardo Rodríguez, Jefe de la División de Calidad, JMAE Hospital de Oncología
- Archivo del Comité en la Dirección de Educación e Investigación de la UMAE, Hospital de Oncología

DRA. ARIZBETT URIBE JIMÉNEZ

Médico Residente de 3er año

Cirugía Oncológica

Hospital de Oncología, CMN SXXI

QBP. MAURICIO SALCEDO-VARGAS, DR. EN C.

Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas

Hospital de Oncología, CMN SXXI

DR. JOSÉ FRANCISCO GALLEGOS HERNÁNDEZ

Profesor Titular del Curso de Especialidad en

Cirugía Oncológica, UNAM

Hospital de Oncología, CMN SXXI

DR. GABRIEL GONZÁLEZ ÁVILA

Director de Educación e Investigación en Salud

Hospital de Oncología, CMN SXXI

RESUMEN

TÍTULO: PATRÓN DE INFECCIÓN POR VIRUS DE PAPILOMA HUMANO DE ALTO RIESGO EN LESIONES PRE-INVASORAS E INVASORAS DEL CÉRVIX.

OBJETIVO: Determinar la frecuencia de tipos de virus de papiloma humano de alto riesgo, en pacientes con lesiones pre-invasoras e invasoras del cérvix.

MATERIALES Y MÉTODOS: Estudio piloto, experimental, transversal, descriptivo, observacional, en mujeres con diagnóstico de lesión pre-invasora e invasora del cérvix, referidas al servicio de Radioterapia del Hospital de Oncología, CMN SXXI, en un periodo comprendido de 2008 al 2010. Variables de estudio: patrón de infección, múltiple ó única; virus de papiloma humano (VPH) de alto riesgo (alto poder oncogénico) y lesiones pre-invasoras e invasoras del cérvix.

Análisis estadístico. Estadística descriptiva e inferencial.

RESULTADOS. Para determinar la prevalencia y patrón de infección de VPH en mujeres referidas al servicio de Radioterapia con diagnóstico de lesión cervical, se examinó la presencia del VPH (DNA genómico) en muestras de tejido cervical utilizando el Kit LINEAR ARRAY. Se analizaron 55 muestras, de las cuales, 37 (67.27%) correspondieron a CaCu invasor, 10 sin lesión cervical (18.18%) y 8 con Lesión Intraepitelial de Bajo Grado, LIEBG, (14.54%). En estas 55 mujeres se encontró VPH-16 en 69.09%, seguido de VPH-18 en 18.18% y VPH-45 en 10.90%. En 6 mujeres (10.90%), no se encontró infección por VPH. De manera global se encontró patrón de infección única por VPH en 67.34% de las mujeres e infección múltiple en 32.65%. Con relación a la distribución del VPH en las 49 mujeres positivas, se encontró como patrón de infección única en CaCu el 59.45%, en LIEBG el 37.5%, y en mujeres sin lesión cervical, el 60% como patrón de infección única. Como patrón de infección múltiple en CaCu, el 35.13% y en LIEBG el 62.5%. Dentro de las infecciones múltiples, se encontró como patrón de infección la asociación de VPH-16,-18 y -68 en 23.07% de los casos.

CONCLUSIÓN. VPH-16 es el más frecuente, seguido de VPH-18 en > 85% de la población evaluada (87.27%).

SUMMARY

TITLE: PATTERN VIRUS INFECTION HUMAN PAPILOMAVIRUS HIGH RISK IN PRE-INVASIVE AND INVASIVE LESIONS OF THE CERVIX.

OBJECTIVE: To determine the frequency of types of human papillomavirus high-risk lesions in patients with pre-invasive and invasive cervical.

MATERIALS AND METHODS: A pilot study, experimental, transversal, descriptive, observational, in women diagnosed with pre-invasive lesions and invasive cervical, referred to the service of Radiation Oncology Hospital, CMN SXXI in a period from 2008 to 2010. Study variables: pattern of infection, multiple or single, human papillomavirus (HPV) high risk (high oncogenic) and pre-invasive lesions and invasive cervical.

Statistical analysis. Descriptive and inferential statistics.

RESULTS. To determine the prevalence and pattern of HPV infection in women referred to the radiotherapy service with a diagnosis of cervical injury, we examined the presence of HPV (genomic DNA) in cervical tissue samples using the LINEAR ARRAY Kit. 55 samples were analyzed, of which 37 (67.27%) were invasive CC, 10 without cervical injury (18.18%) and 8 with Low Grade Intraepithelial Lesion, LSIL, (14.54%). In these 55 women were found HPV-16 in 69.09%, followed by HPV-18 in 18.18% and HPV-45 in 10.90%. In 6 women (10.90%), there was no HPV infection. Globally pattern was found only for HPV infection 67.34% of women and multiple infections in 32.65%. Regarding the distribution of the 49 HPV positive women, was found as a single infection pattern in the 59.45% CC, 37.5% in LSIL, and in women without cervical injury, and 60% as a single infection pattern. As a pattern of multiple infection in CC, the 35.13% and 62.5% in LSIL. In multiple infections, was found as the association pattern of infection of HPV-16, -18 and -68 in 23.07% of cases.

CONCLUSION. HPV-16 is the most common, followed by HPV-18 in > 85% of the study population (87.27%).

ÍNDICE

	Págs.
I. INTRODUCCIÓN	7-12
II. PROBLEMA A ESTUDIAR	13
III. JUSTIFICACIÓN	14
IV. HIPÓTESIS	15
V. OBJETIVO GENERAL	16
VI. OBJETIVO PARTICULAR	16
VII. DEFINICIÓN OPERACIONAL: VARIABLES	17
VIII. MATERIALES Y MÉTODOS	18-21
IX. RESULTADOS	25-27
X. DISCUSIÓN	28-29
XI. CONCLUSIONES	30
XII. FIGURA, GRÁFICOS Y TABLAS	31-34
XIII. BIBLIOGRAFÍA	35-38

PATRÓN DE INFECCIÓN POR VIRUS DE PAPILOMA HUMANO DE ALTO RIESGO EN LESIONES PRE-INVASORAS E INVASORAS DEL CÉRVIX

El Cáncer Cervico-uterino (CaCu) es un problema de salud pública a nivel mundial considerándose el segundo cáncer más común entre las mujeres en todo el mundo. La mayor prevalencia está en los países en vías de desarrollo, especialmente en América Latina y el Caribe. En México ocupa el segundo lugar de incidencia según el Registro Histopatológico de Neoplasias en México, 2002 y de acuerdo a dicho registro de manera general, los tumores más notificados fueron cérvix (24%), piel (14%), mama (11%). Cada año se diagnostican 500,000 nuevos casos, con una tasa de mortalidad del 50%. Actualmente es la primera causa de muerte por cáncer en mujeres en edad productiva con más de 4300 muertes anuales y se estima que cada 2 hrs muere una enferma a causa de esta neoplasia. La mayoría de las víctimas jamás se habían sometido a un estudio citológico cervico-vaginal.¹⁻³

En 2001, en México, el 8% total de muertes por cáncer fue secundario a CaCu (21/100,000 mujeres **de ≥ 25 años**). Se ha demostrado que la edad es factor de riesgo para morir por CaCu y la etapa crítica en la que el riesgo de morir aumenta en forma destacada, es la reproductiva. Otros factores de riesgo asociados en forma más consistente son la infección por Virus de Papiloma Humano (VPH), el **antecedente de ≥ 2 parejas sexuales, paridad vaginal de ≥ 12 partos (RM=5.2)**, inicio de vida sexual activa antes de los 14 años y menarca posterior a los 17 años (RM=3.22).⁴⁻⁶

La prevalencia de infección por VPH en mujeres a nivel mundial varía de 2-44%, prevaleciendo en mujeres jóvenes. Además la incidencia de infección por VPH tipos oncogénicos parece ser más alta que aquellas con tipos virales no oncogénicos.^{7,8}

De acuerdo a la Organización Panamericana de la Salud, en 2000 se reportaron 16,448 nuevos casos, con 6650 defunciones por cada 100,000 habitantes (tasa de incidencia 40.5 y tasa de mortalidad de 17.1). Durante los últimos 40 años en América Latina y el Caribe, las tasas anuales de CaCu, han permanecido altas, generalmente por arriba de 20 casos/100,000 mujeres. En México, donde ha estado en marcha un programa de tamizaje durante más de 20 años, sólo se han evitando menos del 13% de los casos potencialmente prevenibles. En México, en el año 2000, se reportaron 40,185 muertes por neoplasias, de las cuales 6,650

fueron por CaCu (16.5%). En América Latina y el Caribe se calcula que habrá 52mil muertes para el año 2020.⁹

El VPH es un virus con genoma de DNA de aproximadamente 8000 pares de bases. Se han reconocido >30 tipos de VPH oncogénicos y alrededor de 70 no oncogénicos. La prevalencia de los tipos oncogénicos en orden decreciente incluyen VPH-16,-18,-45,-31,-33,-58,-52,-35,-59,-56,-6,-51,-68,-39,-82,-73,-66 y -70. Muchos estudios han mostrado que VPH 6 y 11 están asociados con lesiones genitales benignas mientras que VPH 16 y 18 con cáncer cervical. Los tipos VPH -16,-18,-31,-33,-35,-39,-45,-51,-52,-56,-58,-59 y -68, se piensa que son tipos de alto riesgo dado que están presentes en Lesiones Intraepiteliales de Alto Grado (LIEAG) ó Cáncer cervical invasivo, mientras que VPH -6,-11,-40,-42,-43,-44 y -55 son considerados de tipos de bajo riesgo. En Estados Unidos el VPH16 y 18 están presente en alrededor del 70% de los CaCu pero existen diferencias geográficas con relación a la distribución de los tipos de VPH.¹⁰⁻¹³

Otros estudios han mostrado estos tipos de VPH y su asociación de algunos de ellos con CaCu, lesiones pre-malignas y verrugas genitales, se diseñaron una serie de ensayos para la detección del VPH de alto riesgo, basados en Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) y amplificación de hibridación de ácidos nucleicos. Dichos progresos en la biología molecular, permiten realizar pruebas de tamizaje para CaCu así como el seguimiento en mujeres con Lesiones Intraepiteliales, Células Escamosas Atípicas de Significado Incierto (ASCUS) y Glándulas Atípicas de Significado Incierto (AGUS).¹⁰⁻¹³

Pese a que la infección cervical con tipos de VPH carcinogénicos, aun el VPH-16, es extremadamente común comparado con la relativa baja incidencia de desarrollo de CaCu, existen factores etiológicos involucrados, en particular la variabilidad de la respuesta inmunológica del huésped. Otros posibles co-factores quizás actúen afectando los mecanismos de inmunidad ó la vía genotóxica, y éstos incluyen el tabaquismo, multiparidad, uso de anticonceptivos orales, co-infección con otros agentes infecciosos, etc.¹⁰⁻¹³

La mayoría de las lesiones leves ó moderadas revierten espontáneamente en individuos inmuno-competentes. Se sabe que más del 70% de las adolescentes sexualmente activas y mujeres jóvenes adquieren una infección por VPH. Sin embargo, la mayoría son transitorias y solo alrededor del 25% desarrollará una Lesión Intraepitelial de Bajo Grado (LIEBG), de este 25% sólo 20-40% progresará a Lesiones Intraepiteliales de Alto Grado (LIEAG), mientras que cerca del 90% de

mujeres infectadas no mostrará evidencia alguna del tipo viral adquirido después de 12-13 meses.

Se ha sugerido que casi el 50% de las mujeres serán infectadas con VPH dentro de los 4 años posteriores al inicio de actividad sexual. Afortunadamente a pesar de su alta prevalencia de infección por VPH, sólo 5-15% desarrollará displasia cervical y CaCu.¹⁴⁻¹⁶

La clasificación clínico-patológica de los diferentes genotipos de VPH, de acuerdo a su habilidad de promover el cáncer, es ahora el objetivo más importante en los programas de tamizaje en CaCu. Sin embargo la introducción de ensayos altamente sensibles revela infecciones múltiples en mujeres con citología anormal y aún en las mujeres con citología normal. Las infecciones múltiples pueden causar confusión al determinar qué tipos de VPH son los responsables de desarrollar lesiones cervicales. Recientemente se ha establecido un sistema basado en PCR que es capaz de detectar alrededor de 36 genotipos de VPH.¹⁰

Aedo y colaboradores, en Chile, reportaron 55 casos de lesiones pre malignas (15 bajo grado, 40 alto grado), en los cuales se encontraron 13 genotipos diferentes de VPH y dentro de los más frecuentes el VPH-16 (30.8%), VPH-52 (13.5%), VPH-18 y -53 (11.5%). Se destacó en este estudio, que el VPH-16 fue el más frecuente en lesiones de alto grado (34.1%) y VPH-52 (37.5%) en lesiones de bajo grado. En 15% de los casos se lograron identificar infecciones múltiples.¹⁷

Méndez, et al, en 2005 publicó que aproximadamente 20-40% de las mujeres presentan en su cérvix, por lo menos 2 tipos de VPH adquiridos simultáneamente ó sucesivamente, sin embargo es controversial si la infección con múltiples tipos (denominada infección múltiple) es un factor de riesgo para persistencia de VPH en lesiones cervicales, más aún se desconoce si aquella mujer con cuádruple infección, por ejemplo, tenga mayor riesgo que aquella con doble infección únicamente. El interés por las infecciones múltiples se ha incrementado debido al uso de vacunas cuádruples contra los tipos más comunes de VPH, esperando una protección al menos parcial en contra de estos tipos. Por lo tanto es de vital importancia asegurar todos los tipos de infección de VPH presentes en una paciente.¹⁸

La infección múltiple ha sido mencionada como un factor común en mujeres jóvenes y se explica por resistencia inmunológica, permitiendo que una infección de VPH persista, provocando además mayor susceptibilidad a la re-infección. Por otro lado, se ha reportado que en los casos de infección múltiple no ha habido un

aumento significativo en riesgo de desarrollar Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC) al compararlas con mujeres con un solo genotipo viral.

Se ha encontrado que la infección con múltiples tipos virales de VPH está asociada a persistencia. Los estudios de Bachtiry y van der Graaf, sugieren que la infección múltiple está asociada con un mayor riesgo de progresión de enfermedad. No está claro si esto se debe a la susceptibilidad del huésped, la interacción entre los virus ó la probabilidad de progresión independiente en cada tipo viral.¹⁹⁻²¹

En un estudio japonés, donde se incluyeron 1562 controles normales y 366 casos con citología anormal, globalmente, se encontró 77% de VPH en lesiones intraepiteliales de bajo grado, 91% en lesiones de alto grado, 93% en CaCu y 67% en adenocarcinoma. En las muestras que fueron positivas para VPH, infección única se encontró en 8.6% de citologías normales, 56% de LIEBG, 76% LIEAG 81% CaCu. VPH-16,-16,-18,-30-31,-33,-35,-39,-42.-44,-45,-51,-52,-53,-54,-55,-56,-58,-59,-61,-62,-66,-67,-68,-72 y -73, fueron identificados como tipos únicos en cérvix normal y LIEBG, mientras que HPV-16, -18,-31,-33,-45,-51,-52,-56,-58,-67, fueron identificados en LIEAG y CaCu. VPH-16 y -18 fueron identificados en adenocarcinoma. Infección múltiple por VPH en LIEBG (27%) fue ligeramente más frecuente que en LIEAG (17%, $p=0.056$) y significativamente más frecuente que en CaCu (13%, $p=0.0.33$), sugiriendo que la infección múltiple está asociada con todas las etapas de lesiones cervicales. En las infecciones múltiples, los tipos de VPH de alto riesgo, se identificaron como uno de los tipos múltiples en 82% de los cérvix normal, 60% de LIEBG, 95% de LIEAG, 100% de los CaCu y adenocarcinoma.¹⁰

Dos estudios sugieren que la infección por VPH de alto riesgo persiste por más tiempo que la infección por VPH de bajo riesgo. El cérvix pudiera contrarrestar las infecciones por VPH de bajo riesgo, sin embargo, quizás las lesiones asociadas a VPH de alto riesgo, resistan la inmunidad del huésped y persistan por más tiempo. Estos estudios también indican que la infección persistente por VPH es importante para el desarrollo de displasia cervical.^{22,23} En el estudio de Toshiyuk, los tipos de VPH de alto riesgo parecen estar solamente segregados en LIEAG y CaCu, sugiriendo que las lesiones asociadas a HPV de alto riesgo son capaces de persistir y progresar a LIEAG y CaCu. En contraste, las lesiones asociadas a VPH de bajo riesgo parecen ser meramente pasajeras. Las razones del porqué las infecciones por VPH de alto riesgo son capaces de persistir por más tiempo que las infecciones por VPH de bajo riesgo, se desconocen, al igual que si la infección múltiple puede producir condiciones que confieran protección inmunológica para la infección persistente por VPH, ó bien, mujeres con infecciones múltiples por VPH puedan ser

susceptibles a una infección mayor de VPH, por lo que se necesitan estudios adicionales para elucidar estas hipótesis.¹⁰

La distribución y prevalencia de tipos de VPH de alto riesgo varía de manera importante en la población mundial. De acuerdo a un meta-análisis de diciembre del 2010²⁴, que incluyó 1,016,719 mujeres de 5 continentes con citología normal, se encontró una prevalencia global de VPH estimada de 11.7% (IC 95%,11.6-11.7%), abarcando 24% África, 21.4% este de Europa, 16.1% Latinoamérica. Entre los tipos más comunes a nivel mundial por orden decreciente, se encontró VPH-16 en 3.2%; VPH-18 en 1.4%; VPH-52 en 0.9%; VPH-31 en 0.8% y VPH-58 en 0.7%. De las regiones correspondientes a Centroamérica (México, Honduras, Guatemala, Costa Rica, Belice), se encontró prevalencia global ajustada de VPH del 13.0%. Abarcando Latinoamérica y el Caribe dentro de sus análisis, los tipos más frecuentes de VPH por orden decreciente fueron: VPH-16, 3.3%; VPH-31 y -18, 1.2%; VPH-58, 1.0%; VPH-6, 1.09%; VPH-33, 0.8%; VPH-52,-11,-35,-45, 0.7%.²⁵⁻

30

En general, a lo largo del mundo, se ha reportado el VPH-58 como el 6° tipo de VPH más frecuente, sin embargo, existen diferencias en las prevalencia de acuerdo a la región geográfica estudiada, así hemos observado una alta prevalencia de VPH-58 en países asiáticos y Latinoamericanos. En México, algunos estudios han reportado mayor prevalencia de VPH-58 entre mujeres con CaCu y lesiones pre malignas, que lo descrito en la literatura mundial. De las regiones de México, en el sureste se han reportado frecuencias de VPH-58 de 28.2% (más que VPH-16). En el norte de México, Giuliano, 2001, reportó una prevalencia de 13.6% de LIEAG y encontró VPH-58 como el 2° genotipo más frecuente. En el este de México se reportó VPH-58 como el segundo genotipo (16%) más frecuente en LIEAG y el tercero más prevalente (15%) en LIEAG y CaCu. En el centro de México se reportó prevalencia del 18.6% para VPH-58 en LIEAG.^{26,31,32}

Con los resultados descritos por diferentes autores se ha podido identificar, que efectivamente VPH-16 es el de mayor prevalencia a nivel mundial, sin embargo, se debe prestar atención a otros genotipos, que aunque de menor frecuencia, pudieran tener importancia epidemiológica local.

Los estudios más recientes que evalúan los diferentes tipos de VPH, han determinado que quizás se ha subestimado la prevalencia real de las infecciones múltiples (20-40% vs 58% recientemente) debido a las diferentes técnicas de detección que se utilizaban en el pasado ya que actualmente se ha encontrado mayor número de infecciones múltiples en poblaciones de alto riesgo para CaCu

que en aquellas con bajo riesgo. En resultados combinados donde se han utilizado **5 métodos diferentes para identificar los tipos de VPH, $\geq 93\%$ de infecciones** múltiples fueron dobles ó triple infección. Las co-infecciones se han encontrado más frecuentemente entre mujeres jóvenes, mujeres con citologías anormales ó con respuesta inmune alterada. Esto es de suma importancia dado que está por definirse el patrón de infecciones de los tipos de VPH, su inducción, progresión de lesiones cervicales y el análisis de la latencia viral y el tipo específico de inmunidad contra ciertos tipos después de exposiciones previas.^{10,11,33,34}

Wentzensen reportó en 2009 la distribución de genotipos de VPH de 1670 mujeres referidas con colposcopia y/o citología cervical anormal en Oklahoma, encontrando los siguientes resultados: en los casos de CaCu invasor (n=107), 41% prevalencia de VPH-16, VPH-18, 9.3%; VPH-33, 3.7%; VPH-45, 1.9%; VPH-52 y 59, 0.9% como infecciones únicas. En casos de CIN3 (n=305), VPH-16 en 24.6%; VPH-31 en 3,3%; VPH-58 en 2%; VPH-33 en 1.6%; VPH-45 y 52 en 1.3%; VPH-18 en 1%, como infecciones únicas. En casos de CIN2 (n=427), VPH-16 en 12.2%; VPH-18 en 2.8%; VPH-52 en 2.6%; VPH-33 en 2.1%; VPH-31 en 1.9% como infecciones únicas. En lesiones menos de CIN2 (n=708), se encontró VPH-16 en 4%, VPH-51 en 2.8%; VPH-53 en 2.1%; VPH-66 en 1,7%; VPH-18,-35,-39 en 1.4%, como infecciones únicas. También se encontró 3 tipos de combinaciones virales: combinación de VPH-56 y VPH-66 en 52 casos, VPH-51 con VPH-82 en 26 casos y VPH-16 combinado con VPH-51 y VPH-39, ésta última con menor frecuencia que las anteriores.^{34,35}

En conclusión, los resultados de diferentes investigaciones proporcionan evidencia de que la infección por VPH cervical, en particular, infecciones con múltiples tipos y números bajos de copias virales, son más comunes de lo que se creía debido a los diversos métodos de identificación existentes actualmente.

Se espera que en un futuro la tecnología sea apropiada para la identificación de todas las infecciones de VPH en una misma muestra para poder esclarecer la pregunta de si las infecciones múltiples están asociadas a mayor riesgo de desarrollar cáncer cervical.

PROBLEMA A ESTUDIAR

Actualmente, a nivel mundial, se conoce parcialmente el patrón de infección por VPH en las lesiones cervicales, por lo que nos planteamos en el presente trabajo, cuál será el patrón de infección por VPH de alto poder oncogénico, en las mujeres con lesión pre-invasora e invasora del cérvix, referidas al Hospital de Oncología, CMN SXXI en un periodo comprendido de 2008 al 2010.

JUSTIFICACIÓN

El principal agente etiológico del CaCu es el VPH. A nivel mundial, se ha registrado la prevalencia de VPH en 99.7% de los CaCu, y los tipos oncogénicos -16 y -18, son los que se detectan con mayor frecuencia, sin embargo solo una pequeña proporción de las lesiones cervicales infectadas con VPH de los tipos de alto riesgo progresa a cáncer, lo cual indica la participación de factores adicionales. Evidencias epidemiológicas proponen que las variaciones genéticas del VPH pueden estar involucradas en el desarrollo de infecciones persistentes y/o en un mayor riesgo al desarrollo de CaCu. De ahí nuestro interés de investigar el patrón de infección de VPH de alto poder oncogénico.

La infección por VPH es uno de los factores asociados a distintos tipos de cáncer. A la fecha son más de 30 tipos de VPH oncogénicos los que se asocian a éste tipo de lesiones. Los datos publicados muestran una gran variabilidad en las frecuencias de los tipos de VPH en el CaCu y sus lesiones precursoras a nivel mundial y nacional, siendo más notorio estos datos en nuestro país aunado a que se desconoce la frecuencia de infecciones únicas ó múltiples de estos tipos de VPH. Éste hecho podría generar cuadros clínicos distintos aun cuando las pacientes lleguen con diagnósticos semejantes.

Dado que el CaCu representa uno de los pocos cánceres comunes en los cuales se ha identificado un agente causal específico, sería sumamente útil poder realizar un tamizaje y diagnosticar a las mujeres infectadas por tipos de VPH de alto poder oncogénico, ya que ello facilitaría una vigilancia más estrecha de aquellas persistentemente infectadas, incluso las que tienen una citología normal del cérvix y así ayudar a racionalizar los recursos de un programa de detección de CaCu.

En consecuencia se están concentrando grandes esfuerzos en el desarrollo comercial de métodos rápidos y económicos para la detección del VPH que ofrezcan mediciones más precisas. Además hay en marcha otras investigaciones para identificar marcadores biológicos que permitan predecir mejor qué pacientes tienen riesgo de presentar lesiones escamosas intraepiteliales de alto grado.

HIPÓTESIS

Se encontrarán infecciones múltiples por VPH de alto poder oncogénico en <50% de los casos de lesión invasora del cérvix.

OBJETIVO GENERAL

- Determinar la frecuencia de tipos de Virus de papiloma humano de alto poder oncogénico en mujeres con lesión pre-invasora e invasora del cérvix, referidas al Hospital de Oncología, CMN SXXI, en un periodo comprendido del 2008 al 2010.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Identificar patrón de infección (múltiple ó única) de VPH de alto riesgo en mujeres con lesiones invasoras del cérvix.
- Identificar patrón de infección (múltiple ó única) de VPH de alto riesgo en mujeres con lesiones pre-invasoras del cérvix.

VARIABLES

VARIABLE INDEPENDIENTE: Patrón de infección múltiple ó única, de VPH de alto riesgo (alto poder oncogénico).

VARIABLE DEPENDIENTE: Lesión pre-invasora e invasora del cérvix.

DEFINICIONES OPERACIONALES

Patrón de infección única: Presencia de infección por un solo tipo de Virus de Papiloma Humano de alto poder oncogénico.

Patrón de infección múltiple: Presencia de infección por ≥ 2 tipos de Virus de Papiloma Humano de alto poder oncogénico.

Virus de Papiloma Humano (VPH) de alto poder oncogénico: El VPH es un virus con genoma de DNA de aproximadamente 8000 pares de bases. Se han reconocido >30 tipos oncogénicos y alrededor de 70 no oncogénicos. Los tipos VPH -16,-18,-31,-33,-35,-39,-45,-51,-52,-56,-58,-59 y -68, se piensa que son tipos de alto poder oncogénico dado que están presentes en Lesiones Intraepiteliales de Alto Grado (LIEAG) ó Cáncer cervical invasor.

Lesión pre-invasora del cérvix: Lesión intraepitelial consideradas precursoras del cáncer cervico-uterino invasor, denominadas displasias en el pasado. De acuerdo a la clasificación de Bethesda se clasifican en Lesiones intraepiteliales de Alto y Bajo Grado con relación a la diferenciación del epitelio (pérdida de polaridad de las células y mitosis).

Lesión invasora del cérvix: Lesión intraepitelial que adquiere la capacidad de destruir la membrana basal e invadir el estroma y los vasos.

MATERIALES Y MÉTODOS

POBLACIÓN DE ESTUDIO. Se incluyeron en este estudio a 55 mujeres que fueron referidas de otros centros hospitalarios, durante el período del 2008-2010, al servicio de radioterapia del Hospital de Oncología, CMN SXXI, con diagnóstico de lesión invasora del cérvix uterino. A dichas pacientes, como parte del protocolo obligatorio que se realiza dentro del Hospital de Oncología, se les solicitaron las laminillas y/o bloques de parafina para revisión histopatológica y corroboración del diagnóstico oncológico con que fueron enviadas.

TIPO DE ESTUDIO: Estudio piloto, experimental, transversal, descriptivo, observacional.

MUESTRA. Se analizaron un total de 55 muestras: 37 con CaCu invasor, 10 sin lesión cervical y 8 con LIEBG. El DNA genómico se analizó mediante el KIT LINEAR ARRAY.

Una vez purificado el DNA de la lesión cervical mediante el KIT DNA EXTRACTOR WIZARD (PROMEGA,Co), fue sujeto a hibridación con el LINEAR ARRAY, en el cual la prueba de genotipado del VPH LINEAR ARRAY se basa en cuatro procesos principales: preparación de las muestras; amplificación mediante PCR13 del DNA objetivo mediante primers para VPH; hibridación de los productos amplificados con sondas oligonucleótidas; y detección de los productos amplificados fijados a las sondas mediante determinación colorimétrica.

La preparación de las muestras mediante el kit de extracción de material líquido AmpliLute prepara el DNA objetivo del VPH y el DNA genómico humano para la amplificación mediante PCR. El reactivo de mezcla maestra contiene primers para la amplificación del DNA de 37 genotipos de VPH y el gen de la β -globina humana. La detección y determinación del genotipo se realiza mediante el DNA amplificado desnaturalizado y una matriz de sondas oligonucleotídicas que permiten identificar de forma independiente genotipos de VPH individuales.

Preparación de la muestra

El DNA del VPH se libera por acción de la lisis de las muestras de células cervicales bajo condiciones de desnaturalización a temperaturas elevadas. La lisis se lleva a cabo ante la presencia de la proteinasa K, un agente caotrópico y detergente. A continuación se procede al aislamiento y purificación del DNA en una columna y a la elución con el reactivo de elución. El gen de la β -globina se aísla de forma simultánea y garantiza la adecuación celular, la extracción y amplificación de cada muestra procesada individualmente.

Amplificación mediante PCR

Selección del objetivo. La prueba de genotipado del VPH LINEAR ARRAY utiliza primers biotinilados para definir una secuencia de nucleótidos en la región L1 polimórfica del genoma del VPH, con una longitud de aproximadamente 450 pares de bases. Un lote de primers de VPH presente en la mezcla maestra está diseñado para amplificar el DNA del VPH de 37 genotipos de VPH14, incluidos 13 genotipos de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68). Las secuencias de las sondas de captura están ubicadas en regiones polimórficas de L1 limitadas por estos primers. Un par de primers adicional se dirige al gen de la β -globina para controlar la adecuación de las células, la extracción y la amplificación.

Amplificación del objetivo. La polimerasa de DNA AmpliTaq® Gold se utiliza para “iniciar en caliente” la amplificación del DNA objetivo de VPH y el control de la β -globina. Primero se calienta la mezcla de reacción de la PCR para activar la polimerasa de DNA AmpliTaq® Gold, desnaturalizar el DNA vírico y el DNA genómico humano, y exponer las secuencias objetivos del primer. A medida que la mezcla se enfría (tanto en sentido ascendente como descendente), los primers inician la fase de templado con el DNA objetivo. La polimerasa de DNA AmpliTaq® Gold, en presencia de Mg^{2+} y un exceso de dNTP, prolonga la alineación de los primers a lo largo de las plantillas objetivo para producir una molécula de DNA objetivo de VPH bicatenario con 450 pares bases aproximadamente o una molécula

de DNA de β -globina con 268 pares bases denominada amplicón. Este proceso se repite un número determinado de ciclos, en los cuales se dobla el volumen de DNA amplicón. La amplificación se produce sólo en la región del genoma de VPH ó del gen β -globina comprendida entre el par de primers adecuado. No se amplifica el genoma completo.

Amplificación selectiva. La amplificación selectiva del ácido nucleico, objetivo de la muestra, se logra en la prueba de genotipado del VPH LINEAR ARRAY mediante el uso de la enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) y el trifosfato de desoxiuridina (dUTP). La enzima AmpErase reconoce y cataliza la destrucción de las cadenas de DNA que contienen desoxiuridina 15, pero no del DNA que contiene desoxitimidina. El DNA natural carece de desoxiuridina, que sin embargo está siempre presente en el amplicón debido al uso de trifosfato de desoxiuridina además del trifosfato de desoxitimidina del reactivo de la mezcla maestra; por lo tanto, sólo el amplicón contiene desoxiuridina. La desoxiuridina hace al amplicón contaminante susceptible de destrucción por la enzima AmpErase antes de la amplificación del DNA objetivo. La enzima AmpErase, que se incluye en el reactivo de mezcla maestra, cataliza la escisión del DNA que contiene desoxiuridina en la posición de los residuos de desoxiuridina abriendo la cadena de desoxirribosa en la posición C1. Cuando se calienta en el primer paso del ciclo térmico al pH alcalino de la mezcla maestra, la cadena de DNA del amplicón se rompe en la posición de la desoxiuridina, lo que hace que el DNA ya no pueda amplificarse. La enzima AmpErase es inactiva a temperaturas superiores a los 55°C, es decir, durante los pasos de la ciclación térmica y, por consiguiente, no destruye el amplicón objetivo. Después de la amplificación, se desnaturaliza cualquier posible resto de enzima añadiendo solución de desnaturalización, para impedir de ese modo la degradación de amplicones objetivo.

Reacción de hibridación. Después de la amplificación mediante PCR, se añade solución de desnaturalización para desnaturalizar químicamente el amplicón del VPH y de β -globina, y crear así DNA bicatenario. Se transfieren entonces partes

alícuotas del amplicón desnaturalizado a los correspondientes pocillos de la bandeja de tipificación, que contienen cada uno tampón de hibridación y una única tira de genotipado del VPH 2LINEAR ARRAY revestida con VPH Y sondas de β -globina. El amplicón marcado con biotina se hibridará con alguna de las sondas oligonucleótidas sólo si el amplicón contiene la secuencia correspondiente de la sonda complementaria. Además, la tira de genotipado del VPH LINEAR ARRAY está revestida con una sonda oligonucleotídica de reacción cruzada que se hibrida con los genotipos 33, 35, 52 y 58 del VPH. El amplicón que contiene las secuencias de mayor similitud (con sólo de 1 a 3 desapareamientos) complementarias de la sonda se hibridarán con esta línea de sonda.

Reacción de detección. Después de la reacción de hibridación, la tira de genotipado del VPH LINEAR ARRAY se lava a conciencia para eliminar todo el material no fijado. A continuación, se añade a la tira el conjugado de estreptavidina y peroxidasa de rábano picante. El conjugado se une al amplicón marcado con biotina e hibridado con las sondas oligonucleótidas sobre la tira. Tras lavar nuevamente la tira para eliminar el conjugado de estreptavidina y peroxidasa de rábano picante no fijado, se añade entonces a cada tira una solución substrato que contiene peróxido de hidrógeno y 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB). En presencia de peróxido de hidrógeno, el conjugado de estreptavidina y peroxidasa de rábano picante fijado cataliza la oxidación de la TMB para formar un complejo de color azul que se precipita en las posiciones de las sondas donde tiene lugar la hibridación. La tira de genotipado del VPH LINEAR ARRAY se lee visualmente comparando el patrón de las líneas azules con la guía de referencia de la tira de genotipado del VPH LINEAR ARRAY.^{36,37} (Figura 1)

Criterios de Selección:

a) Inclusión

- Toda mujer con diagnóstico de referencia de cáncer cervico-uterino, enviadas al servicio de Radioterapia del Hospital de Oncología, CMN SXXI, en el periodo comprendido del 2008 al 2010, que aceptó y nos proporcionó material para la determinación de VPH por el método de Linear Array (ya descrito previamente) en nuestra unidad.
- Una vez que se llevó a cabo la revisión de laminillas y/ó bloques de parafina para corroboración de diagnóstico oncológico, ante el hallazgo de existir mujeres con lesiones tanto pre-invasoras como no invasoras y pacientes sin lesión cervical, se decidió, dadas las características de ser un estudio piloto, hacer la determinación de VPH de alto poder oncogénico, a las mujeres referidas que aceptaron dicho procedimiento.

b) No Inclusión

- Todas aquellas muestras de tejidos de mujeres que una vez concluido el proceso de calidad interna del método de Linear Array, posterior a la reacción de hibridación, no marcaron en la tira del genotipado, lo cual consideramos, pudo ser secundario a degradación del DNA.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Estadística descriptiva e inferencial.

Las muestras biológicas para realizar el presente trabajo fueron colectadas en el protocolo donde se demostró su presencia mediante la prueba de captura de híbridos (datos no mostrados). Estos estudios no modificaron el tratamiento de las pacientes, quienes ya fueron tratadas por métodos convencionales. Ésta metodología no es comparable pero sí es complementaria por lo que en esta situación no es necesario un análisis estadístico propiamente.

ASPECTOS ÉTICOS

Nuestro grupo cuenta con un banco de muestras de tejido y de DNA del cérvix uterino recolectadas del 2008 al 2010. Este estudio no modificó el tratamiento de las pacientes, las cuales recibieron tratamiento correspondiente a la lesión cervical detectada, siguiendo las guías internacionales de diagnóstico y tratamiento. El beneficio de la paciente no fue determinado con la sola detección de secuencias virales, más bien, el beneficio fue para la comunidad en el conocimiento de un factor de riesgo asociado al CaCu.

Este estudio deriva del trabajo titulado "Evaluación de recurrencia en pacientes con cáncer cervicouterino en etapas clínicas IIB a IIIB posterior al tratamiento con quimio-radiación ó radioterapia sola", sometido a consideración del Comité Local de Investigación en Salud del Hospital de Oncología, aprobado el 7 de abril del 2006, con el registro R-2006-3602-1 de este comité.

El presente estudio fue de tipo experimental y se mantuvo dentro de las prácticas bioéticas de investigación.

RESULTADOS

DETECCIÓN Y TIPIFICACIÓN DE VPH USANDO LINEAR ARRAY. Para determinar la prevalencia y patrón de infección de VPH en mujeres referidas al servicio de Radioterapia con diagnóstico de lesión cervical, se examinó la presencia de VPH (DNA genómico) en muestras de tejido cervical utilizando el Kit LINEAR ARRAY, descrito previamente en material y métodos.

Se analizaron 55 muestras en total, de las cuales 37 mujeres (67.27%) correspondieron a CaCu invasor, 10 mujeres (18.18%) sin lesión cervical y 8 mujeres (14.54%) con LIEBG. En estas 55 mujeres evaluadas, encontramos el siguiente patrón de infección por VPH: VPH-16 en 38 mujeres (69.09%); VPH-18 en 10 mujeres (18.18%); VPH-45 en 6 mujeres (10.90%); VPH- negativo en 6 mujeres (10.90%); VPH-31 en 5 mujeres (9.09%); VPH-68 en 4 mujeres (7.27%); VPH-42 en 2 mujeres (3.63%); VPH- 39,-52,-58,-CP6108 en 1 mujer, respectivamente (1.81%) (Gráfico 1).

En las muestras cervicales que fueron positivas para HPV se encontró que en las 37 mujeres con CaCu, hubo: 25 (67.56%) con VPH-16; 7 (18.91%) con VPH-18; 6 (16.21%) con VPH-45; 5 (13.51%) con VPH-31; 3 (8.10%) con VPH-68; 2 (5.40%) con VPH-42; 1 (2.70%) con VPH-39,-52,-58,-CP6108, respectivamente, por último 2 mujeres fueron negativas a VPH (5.40%).

En las muestras cervicales sin lesión cervical que fueron positivas para VPH (n=10, 18.18%), se encontró el siguiente patrón de infección: VPH-16 en 5 mujeres (50%), VPH-68 en 1 mujer (10%) y 4 mujeres negativas para VPH (40%).

En las muestras con lesión intraepitelial de bajo grado (n=8, 14.54%), se encontró: VPH-16 en 8 mujeres (100%) y VPH-18 en 3 mujeres (37.5%).

En las mujeres que fueron positivas para VPH (n=49, 89.09%), se presentó como patrón de infección única el 67.34%(33 mujeres) y patrón de infección múltiple en 32.65% (16 mujeres).

Del total de 49 mujeres positivas para VPH, se encontró la siguiente distribución con relación al patrón de infección única ó múltiple por VPH: en mujeres con lesión por CaCu (n=37), hubo 13 mujeres (35.13%) con patrón de infección múltiple y 22 mujeres con patrón de infección única (59.45%); en las mujeres sin lesión cervical (n= 10), las 6 mujeres con VPH, se presentaron como única infección (60%); y por último, de las 8 mujeres con LIEBG, 3 presentaron patrón de infección única (37.5%) y 5 mujeres infección múltiple (62.5%) (Tabla 1, gráfico 2).

De las 33 mujeres con patrón de infección única (67.34%), se encontró la siguiente frecuencia de VPH: VPH-16 en 24 mujeres (72.72%); VPH-45 en 3 mujeres (9.09%); VPH-18 y VPH-31 en 2 mujeres, respectivamente (6.06%); VPH-58 y -68 en 1 mujer (3.03%) respectivamente.

Comparativamente, de estas 33 mujeres, el patrón de infección única en mujeres con CaCu por VPH-16 corresponde a 14 mujeres (37.83%); VPH-45 en 3 mujeres (8.10%); VPH-18 en 2 mujeres (5.40%); VPH-31 en 2 mujeres (5.40%) y VPH-58 en 1 mujer (2.70%). Con relación al patrón de infección múltiple por VPH en lesiones por CaCu, encontramos que la frecuencia de VPH-16, fue de 11 muestras (84.61%), VPH-18 en 5 muestras (38.46%), VPH-31,-45,-68 en 3 muestras (23.07%), cada uno de ellos, VPH-42 en 2 muestras (15.38%), VPH-39,-52 y –CP6108 en 1 muestra (7.69%) respectivamente. Mientras que el patrón de infección única en mujeres sin lesión cervical, se presentó con una frecuencia de VPH-16 en 5 mujeres y VPH-68 en 1 mujer (50% y 10%, respectivamente), con relación al patrón de infección múltiple en este mismo grupo de mujeres, no obtuvimos ninguna muestra positiva para VPH. Por último el patrón de infección en mujeres con LIEBG, correspondió a infección única por VPH-16 (n=5, 62.5%), mientras que en el patrón de infección múltiple por VPH en este grupo de mujeres, se observó una frecuencia de VPH-16 en 3 mujeres (100%) y VPH-18 de igual manera en 100% de infecciones múltiples (n=3) (Tabla 2).

En las muestras cervicales con patrón de infección múltiple (n=16,32.65%), encontramos la siguiente frecuencia de VPH: VPH-16 en 14 muestras (87.5%), VPH-18 en 8 muestras (50%); VPH-31, -45,-68 en 3 muestras, respectivamente (18.75%); VPH-42 en 2 muestras (12.5%) y VPH-39,-52,-CP6108 en 1 muestra respectivamente (6.25%) (Tabla 3).

De la distribución de patrón de infección múltiple en lesiones con CaCu, encontramos, asociación de VPH-16, -18, -68 en 3/13 mujeres (23.07%); VPH-31,-39 y -45 en 1/13 mujeres (7.69%); VPH-16 y -18 en 2/13mujeres (15.38%); VPH-16 y -42 en 2/13 mujeres (15.38%); VPH-16 y -31; VPH-16 y -45; VPH-31 y -45; VPH-16 y -52; VPH-16 y -CP6108 en 1 solo caso de las 13 mujeres, respectivamente (7.69%). Con respecto a mujeres sin lesión cervical, no hubo infecciones múltiples en dicho grupo. Por último, en el grupo de LIEBG, el patrón de infección múltiple encontrado en 100% de las mujeres (n=3), fue asociación de VPH- 16 con VPH-18 (Tabla 4).

DISCUSIÓN

Con el KIT LINEAR ARRAY identificamos la mayoría de los tipos de VPH de alto poder oncogénico. La prueba de genotipado del VPH LINEAR ARRAY tiene la característica de poder identificar hasta 37 genotipos de VPH, siendo su mayor ventaja frente a otras metodologías. Usando éste método, nuestra hipótesis fue corroborada mediante los resultados descritos, al encontrar <50% de casos con patrón de infección múltiple en mujeres con lesión invasora del cérvix y encontrando que más de un tercio de las pacientes (35.13%) cursan con más de 2 subtipos de VPH, lo cual pudiera estar relacionado a cuadros clínicos más **severos secundarios a la presencia de ≥ 2 VPH de alto poder oncogénico**, generando sinergismo entre las infecciones múltiples de VPH, sin embargo, dado que éste fue un estudio piloto con una muestra pequeña a conveniencia, para establecer este tipo de aseveración, se requiere ampliar la muestra de estudio así como las variables a analizar.

En nuestro estudio encontramos que en las pacientes con diagnóstico de CaCu invasor, estuvo presente **la infección por VPH en $\approx 95\%$ (94.58%)**, lo cual concuerda con la literatura mundial descrita, sin embargo, en 5.4% de las mujeres con CaCu, no hubo infección alguna por VPH, con lo cual inferimos que el VPH no es el único agente causal de las lesiones cervicales que pueden preceder al CaCu, es decir, el desarrollo de cáncer cervico-uterino es multifactorial.

Nuestros resultados mostraron que la prevalencia global de infección por VPH en la población evaluada, corresponde alrededor del 70% (69%), lo cual contrasta de manera importante por lo descrito en la literatura, ya que se estima que a nivel mundial la prevalencia de mujeres con VPH varía del 2-44%. Bruni L. y colaboradores describen en su meta-análisis que incluyó 5 continentes en 2010, que en la región correspondiente a Centroamérica, se encontró prevalencia global ajustada de VPH del 13%. Estos resultados hacen que surja la pregunta de si estas mujeres con mayor prevalencia de VPH, están propensas a desarrollar una

infección subclínica que pudiera generar diversidad en los cuadros clínicos de presentación y con lo cual se retrasara el diagnóstico y tratamiento oportuno de las lesiones cervicales pre-invasoras.

Como se pensó, en este estudio, el VPH-16 fue el más frecuente (69%), seguido del VPH-18 (18.18%), pero llama la atención que esta frecuencia es mucho mayor a lo descrito en la literatura mundial (3-30%). Dado que el VPH-16 fue el más frecuentemente detectado, fue esperable, que de igual manera, VPH-16 fuera el tipo más frecuentemente encontrado en patrón de infecciones múltiples (87.5%). Sin embargo, nos sorprendió encontrar en nuestra población de estudio, como más frecuentes el VPH-16 seguido de VPH-18, dado que Giuliano ha descrito diferencias epidemiológicas al respecto, así tenemos que en el sureste de México, el VPH-58 está presente en 28.2% (más que VPH-16), en el norte de México, el VPH-16 es el más frecuente, seguido de VPH-58, en el este de México VPH-58 está presente en 16% (después de VPH-16) y por último en el centro de México, VPH-58 está en 18.6% de la población. Con lo anterior no podemos realizar ninguna aseveración epidemiológica, hasta no poder contar con una muestra mayor de análisis que reproduzca los resultados encontrados hasta el momento en nuestro estudio.

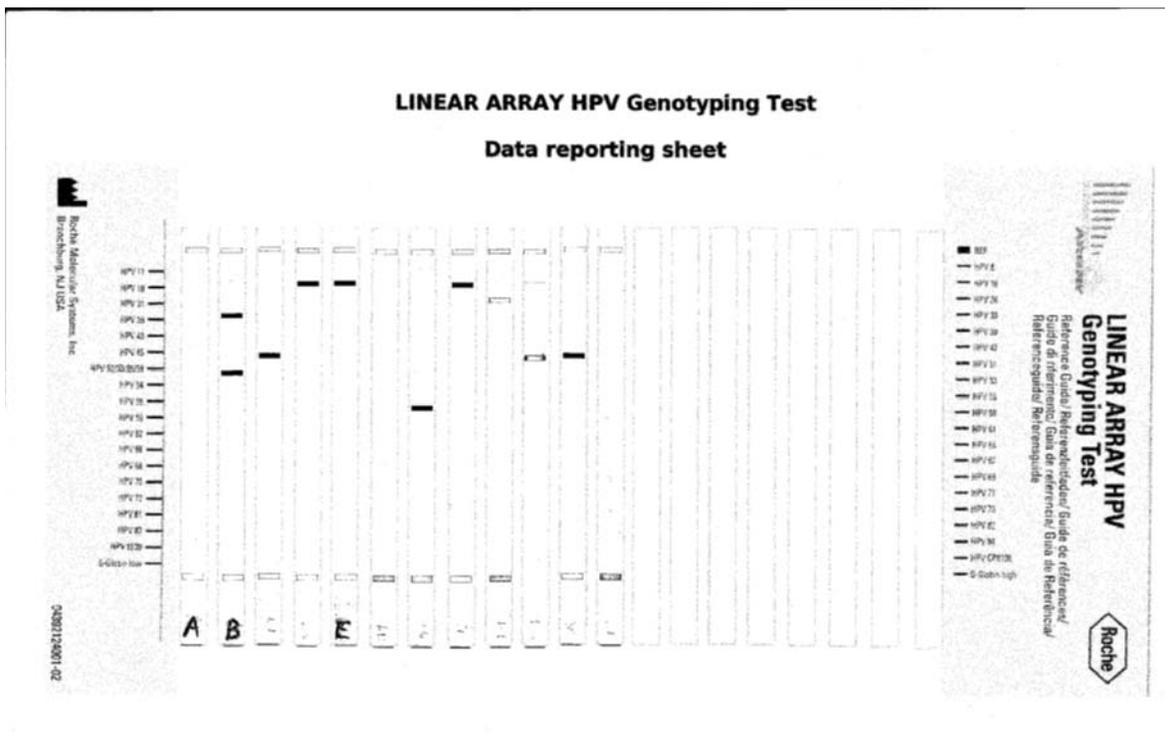
CONCLUSIONES. Concluimos que el VPH-16 es el más frecuentemente encontrado seguido de VPH-18 en >85% de la población evaluada (87.27%). La gran variedad de los diferentes genotipos de VPH presentes en una misma muestra sugiere que la competencia natural entre los diferentes tipos de VPH puede no ocurrir en el cérvix, por lo que permanece sujeto a especulación si la presencia de un tipo de VPH incrementará la posibilidad de adquirir un segundo tipo de VPH. Además es completamente desconocido si estos virus están presentes en la misma célula, si son biológicamente activos ó si sus cargas virales son indetectables. Los virus con actividad biológica aparentemente no detectable, pudieran tener una insinuación en la latencia del ciclo celular viral consecuente a la evasión del sistema inmune, motivo de mayor investigación al respecto en un futuro.

Reconocimientos

Este trabajo fue apoyado parcialmente por proyectos de fondos sectoriales 69719 y 87244 de CONACYT México.

Los resultados descritos en este estudio forman parte de los requerimientos como tesis de posgrado para finalizar la especialidad de Cirugía Oncológica en la Ciudad de México.

Figura 1



GRÁFICOS Y TABLAS

Gráfico 1. Prevalencia de VPH en las 55 mujeres evaluadas.

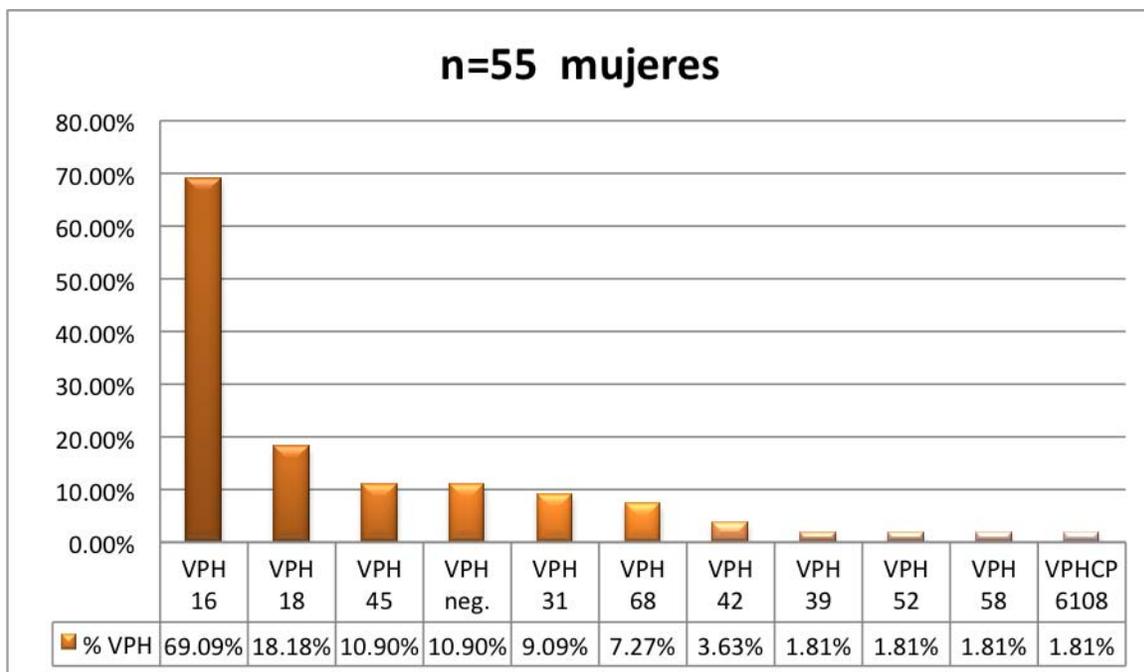


TABLA 1. PREVALENCIA DE INFECCIÓN EN MUJERES CON VPH, n=55

	CaCu (n=37)	Sin Lesión Cervical (n=10)	LIEBG (n=8)
Infección Única	22 (59.45%)	6 (60%)	3 (37.5%)
Infección Múltiple	13 (35.13%)	-	5 (62.5%)
VPH negativo	2 (5.40%)	4 (40%)	-

Gráfico 2. Distribución de patrón de infección única ó múltiple.

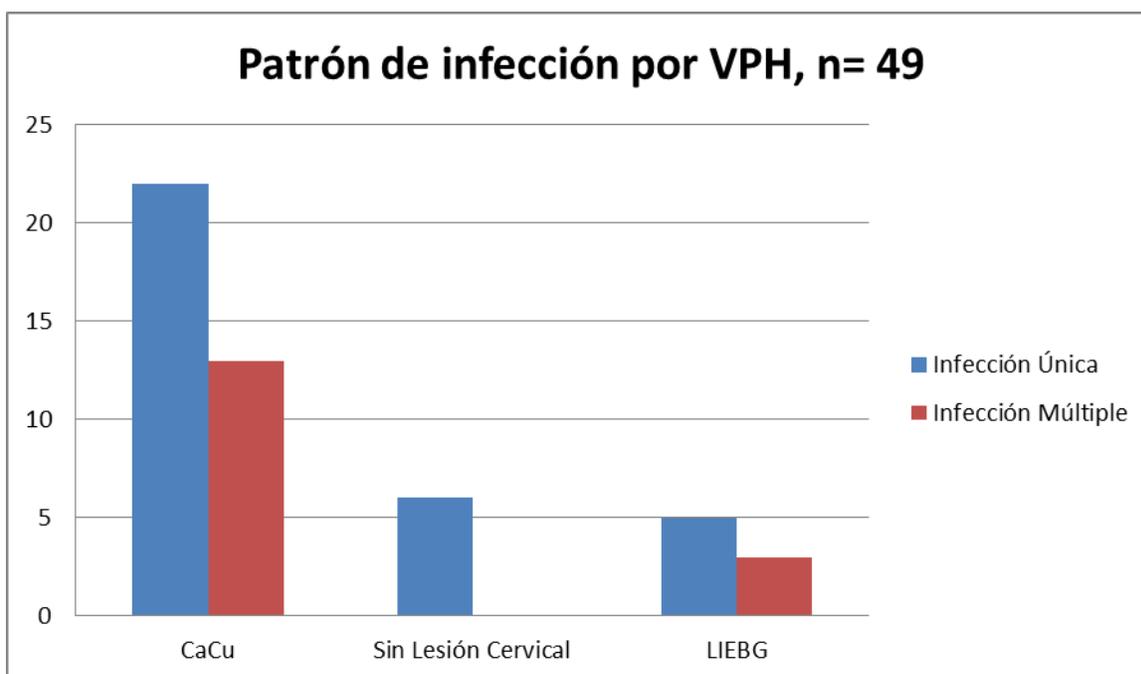


TABLA 2. Frecuencia de infección por VPH en mujeres con CaCu, LIEBG y sin lesión cervical.

	CaCu, n=37 (%)	Sin Lesión Cervical, n=10 (%)	LIEBG, n=8 (%)
Infección Única	VPH-16, n=14 (37.83) VPH-45, n=3 (8.10) VPH-18, n=2 (5.40) VPH-31, n=2 (5.40) VPH-58, n=1 (2.70)	VPH-16, n=5 (50) VPH-68, n=1 (10)	VPH-16,n=5 (62.5)
Infección Múltiple	VPH-16, n=11 (84.61%) VPH-18, n=5 (38.46%) VPH-31,-45,-68, n=9 (69.21%) VPH-42, n=2 (15.38%) VPH-39,-52,CP6108, n=3 (23.07)	-	VPH-16,n=3 (100) VPH-18,n=3 (100)
VPH Negativo	n=2 (5.40)	n=4 (40%)	-

Tabla 3. Patrón de infección por VPH múltiple.

Infección Múltiple	n	%
VPH-16	14	87.5
VPH-18	8	50
VPH-31	3	18.75
VPH-45	3	18.75
VPH-68	3	18.75
VPH-42	2	12.5
VPH-39	1	6.25
VPH-52	1	6.25
VPH-CP6108	1	6.25

Tabla 4. Patrón de distribución de infecciones múltiples por VPH.

Asociación de VPH	CaCu (%)	Sin Lesión Cervical (%)	LIEBG (%)
VPH-16,-18,-68	3 (23.07)	-	VPH-16,-18 (100)
VPH-31,-39,-45	1 (7.69)	-	
VPH-16,-18	2 (15.38)	-	
VPH-16,-42	2 (15.38)	-	
VPH-16,-31	1 (7.69)	-	
VPH-16,-45	1 (7.69)	-	
VPH-31,-45	1 (7.69)	-	
VPH-16,-52	1 (7.69)	-	
VPH-16,-CP6108	1 (7.69)	-	

BIBLIOGRAFÍA

1. Secretaría de Salud. Registro Histopatológico de Neoplasias en México. México, D.F.: DGE,SSA,2002.
2. Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J: Cancer incidence in five continents, vol VII. International Agency for Research on Cancer, Scientific Publications No. 143. Lyon; IARC, 1997.
3. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM: GLOBOCAN 2002; Cancer incidence, Mortality and Prevalence worldwide, iarc cancer base no. 5. Version 2.0, IARCPress, Lyon, 2004. (<http://www-dep.iarc.fr/>).
4. Burk RD, Ho GY, and Beardsley L: Sexual behavior and partner characteristics are the predominant risk factors for genital human papillomavirus infection in young women. J. Infect. Dis. 1996; 174(4): 679 – 89.
5. Adam E, Berkova Z, and Daxnerova Z, 2000: Papillomavirus detection: demographic and behavioral characteristics influencing the identification of cervical disease. Am. J. Obstet. Gynecol. 182: 257-264.
6. Burk RD, Kelly P, and Feldman J, 1996: Declining presence of cervicovaginal human papilloma virus infection with age is independent of other risk factors. Sex. Transm. Dis. 23: 333-341.
7. Franco EL, Villa LL ,Sobrinho JP, Prado JM ,Rousseau MC ,Marie De´sy, Rohan TE. Epidemiology of Acquisition and Clearance of Cervical Human Papillomavirus in Women from a High-Risk Area for Cervical Cancer. The Journal of Infectious Diseases 1999; 180:1415–23.
8. Giuliano AR, Harris R, Sedjo RL, 2002: Incidence, prevalence and clearance of type-specific human papillomavirus infections; The Young **Women’s Health** Study. J. Infect Dis. 186 (4): 462–9.
9. Merle J. Lewis. Análisis de la situación del cáncer cervicouterino en América Latina y el Caribe. Organización Panamericana de la Salud. Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud. Biblioteca sede OPS 2004. www.paoh.org
10. Toshiyuki S, Walid B, Hiroshi Y, Mascaki I. High-Risk and Multiple Human Papillomavirus Infections Associated with Cervical Abnormalities in Japanese Women. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. Vol. 10, 45–52, January 2001.
11. Schmitt M, Dondog B, Waterboer T, Pawlita M, Tommasino M, Gheit T. Abundance of Multiple High-Risk Human Papillomavirus (HPV) Infections Found in Cervical Cells Analyzed by Use of an Ultrasensitive HPV Genotyping Assay. Journal of Clinical Microbiology, Jan. 2010, p. 143–149 Vol. 48, No. 1

12. Cuschieri KS, H A Cubie, M W Whitley, G Gilkison, M J Arends, C Graham, E McGoogan. Persistent high risk HPV infection associated with development of cervical neoplasia in a prospective population study. *J ClinPathol* 2005;58:946–950.
13. Cuschieri, K. S., H. A. Cubie, M. W. Whitley, A. L. Seagar, M. J. Arends, C. Moore, G. Gilkisson, and E. McGoogan. Multiple high risk HPV infections are common in cervical neoplasia and young women in a cervical screening population. *J. Clin. Pathol* 2004. 57:68–72.
14. Holowaty P, Miller AB, Rohan T, 1999: Natural dysplasia of the uterine cervix. *J. Natl. Cancer Inst.* 91: 252-258.
15. Hildesheim A, Schiffman MH, Gravitt PE, 1994. Persistente of type-specific human papilloma virus infection among cytological normal women. *J. Infect. Dis.* 169 (2): 235 – 40
16. Ho GY, Bierman R, Beardsley L, 1998: Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N. Engl. J. Med.* 338 (7): 423–8.
17. Aedo S, Melo A, García P, Guzmán P, Capurro I, Roa JC. Detección y tipificación de virus papiloma humano en lesiones pre neoplásicas del cuello uterino mediante PCR-RFLP. *RevMéd Chile* 2007; 135: 167-173.
18. Méndez, F., N. Muñoz, H. Posso, M. Molano, V. Moreno, A. J. van den Brule, M. Ronderos, C. Meijer, A. Muñoz. 2005. Cervical coinfection with human papillomavirus (HPV) types and possible implications for the prevention of cervical cancer by HPV vaccines. *J. Infect. Dis.* 192:1158–1165.
19. Clifford GM, Smith SJ, Plummer M, Muñoz N, Franceschi S. Human papilloma virus types in invasive cervical cancer meta-analysis. *Br J Cancer* 2003; 88: 63-73.
20. Muñoz N, Bosch FX, De San-José S, 2003: Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N. Engl. J. Med.* 348 (6): 518–27.
21. Bachtiry B, Obermair A, Dreier B. 2002: Impact of multiple HPV infection on response to treatment and survival in patients receiving radical radiotherapy for cervical cancer. *Int J Cancer.* Nov20.102(3):237-43.
22. Ho, G. Y. F., Bierman, R., Beardsley, L. N. P., Chang, C. J., and Burk, R. D. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N. Engl. J. Med.*, 338: 423–427, 1998.
23. Herrero, R., Hildesheim, A., Bratti, C., Sherman, M. E., Hutchinson, M., Morales, J., Balmaceda, I., Greenberg, M. D., Alfaro, M., Burk, R. D., Wacholder, S., Plummer, M., and Schiffman, M. Population-based study of human papilloma virus infection and cervical neoplasia in Rural Costa Rica. *J. Natl. Cancer Inst.*, 92: 464–473, 2000.
24. Bruni L, Díaz M, Castellsagué X, Ferrer E, et al. Cervical Human Papillomavirus Prevalence in 5 Continents: Meta-Analysis of 1 Million Women with Normal Cytological Findings . *JID* 2010;202 (12) 1789-1799.

25. Oliveira-Silva M, Lordello C, MG-Zardo L, R-Bonvicino C, AM-Moreira M. Human Papillomavirus in Brazilian women with and without cervical lesions. *Virology Journal* 2011, 8:4,1-6.
26. Giuliano AR, Papenfuss M, Abrahamsen M, et al. Human Papillomavirus Infection at the United States-Mexico Border : Implications for Cervical Cancer Prevention and Control. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:1129-1136
27. Huang S, Afonina I, Miller BA, Beckmann AM. Human Papillomavirus Types 52 and 58 are prevalent in Cervical Cancers from Chinese Women. *Int. J. Cancer*: 70, 408–411 (1997)
28. Melo A, Montenegro S, Hooper T, Capurro I, Roa JC, Roa I. Human papilloma virus (HPV) typing in preneoplastic and lesions of the uterine cervix in the IX region-Chile. *Rev Méd Chile* 2003; 131:1382-90.
29. Melo A, Montenegro S, Roa I, Capurro I, Roa JC. Estudio comparativo de detección del virus papiloma humano (HPV) en muestras citológicas y biopsias de cuello uterino. *RevMéd Chile* 2005; 133: 639-44.
30. Ferrera A, Velema JP, Figueroa M, Bulnes R, Toro LA, Claros JM, De Barahona O, J.G. W. Melchers. Human Papillomavirus Infection, Cervical Dysplasia and invasive Cervical Cancer in Honduras: a case-control study. *Int. J. Cancer*: 82, 799–803 (1999).
31. Lazcano-Ponce E, Herrero R, Muñoz N, Cruz A, Shah KV, Alonso P, Hernández P, Salmerón J, Hernández M. Epidemiology of HPV infection among Mexican women with normal cervical cytology. *Int J Cancer*. 2001 Feb 1;91(3):412-20
32. Orozco-Colín A, Carrillo-García A, Méndez-Tenorio A, Ponce-de-León S, Mohar A, Maldonado-Rodríguez R, Guerra-Arias R, Flores-Gil O, Sotelo-Regil R, Lizano M. Geographical variation in human papilloma virus prevalence in Mexican women with normal cytology. *Int J InfectDis*. 2010 Dec;14(12):1082-7.
33. Rousseau, M. C., J. S. Pereira, J. C. Prado, L. L. Villa, T. E. Rohan, and E. L. Franco. 2001. Cervical coinfection with human papillomavirus (HPV) types as a predictor of acquisition and persistence of HPV infection. *J. Infect. Dis*.184:1508–1517.
34. Wentzensen N, Schiffman M, Terence Dunn S, Zuna RE, Gold MA, et al. Multiple HPV genotype infections in cervical cancer progression in the Study to Understand Cervical Cancer Early Endpoints and Determinants (SUCCEED). *Int J Cancer*.2009. Nov 1; 125 (9): 2151-2158.
35. Wang SS, Zuna RE, Wentzensen N, Terence Dunn S, et al. Human papillomavirus (HPV) cofactors by disease progression and HPV types in the Study to Understand Cervical Cancer Early Endpoints and Determinants (SUCCEED). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009 January ; 18(1): 113–120

36. Myers, T.W. and Gelfand, D.H. 1991. Reverse transcription and DNA amplification by a *Thermusthermophilus* DNA polymerase. *Biochemistry* 30:7661-.7666.
37. Gravitt P.E., C. L. Peyton, T. Q. Alessi, C.M.Wheeler, F. Coutlée, A. Hildesheim, M.H. Schiffman, D.R. Scott, and R.J. Apple. 2000. Improved Amplification of Genital Human Papillomaviruses. *Journal of Clinical Microbiology* 38:357-361.