



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA ISIDRO
ESPINOZA DE LOS REYES

Identificación de genotipos de virus de papiloma humano en
mujeres atendidas en el servicio de Oncología del Instituto
Nacional de Perinatología.

TESIS QUE PARA OPTAR POR EL DIPLOMA DE ESPECIALIDAD EN
GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA PRESENTA:

JOAQUÍN RUIZ SÁNCHEZ

TUTORES:

DR. EN C. SAÚL FLORES MEDINA

DR. GONZALO MÁRQUEZ ACOSTA

MÉXICO D.F. FEBRERO DE 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

ÍNDICE

RESUMEN.....	Pag 4
ABSTRACT.....	Pag 5
INTRODUCCIÓN.....	Pag 6
MATERIAL Y MÉTODOS.....	Pag 8
RESULTADOS.....	Pag 9
DISCUSIÓN.....	Pag 12
CONCLUSIONES.....	Pag 14
BIBLIOGRAFÍA.....	Pag 15

Identificación de genotipos de virus de papiloma humano en mujeres atendidas en el servicio de Oncología del Instituto Nacional de Perinatología.

Ruiz-Sánchez J¹, Márquez-Acosta G², García-Romero CS³, Soriano-Becerril DM³, Flores-Medina S^{3,4*}.

¹ Residente del curso de Especialización en Ginecología y Obstetricia. Instituto Nacional de Perinatología, México, D.F.

² Coordinación de Oncología. Instituto Nacional de Perinatología, México, D.F.

³ Departamento de Infectología. Instituto Nacional de Perinatología, México, D.F.

⁴ Académico del CECyT No. 15 "DAE" del IPN. México, D.F.

***Correspondencia de autor.** Dr. en C. Saúl Flores-Medina. Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes". Montes Urales 800. Colonia Lomas de Virreyes. Delegación Miguel Hidalgo. C.P. 11,000. México, D. F. Tel: 55 20 99 00. Ext. 520. Dirección de correo: s.flores@inper.mx

RESUMEN

La infección por virus de papiloma humano es la enfermedad viral de transmisión sexual más frecuente y es un factor de riesgo necesario para el desarrollo de cáncer cervicouterino. Se favorece por la presencia de genotipos de alto riesgo y otros factores asociados al huésped. El objetivo del presente trabajo fue identificar los genotipos más comunes de pacientes que asistieron al servicio de Oncología del Instituto Nacional de Perinatología. Se seleccionaron 82 mujeres con infección previa al virus del papiloma. A todas ellas se les practicó un exudado a nivel de cérvix y endocervix para la genotipificación del virus del papiloma humano empleando la técnica de molecular de arreglo en línea. En 29 (35.3%) pacientes se detectó la presencia de DNA viral, en los cuales se identificaron 45 genotipos. De ellos, el 57.8% fueron de alto riesgo siendo los más frecuentes; el 58, 52, 51, 16. Así mismo, se encontraron infecciones con más de 1 genotipo en 45% de las muestras. Es importante tener un esquema de diagnóstico citológico, colposcópico, histológico y molecular con una alta correlación diagnóstica para apoyar al diagnóstico y brindar atención oportuna.

ABSTRACT

Papillomavirus infection is the most common viral sexually transmitted disease and is a necessary risk factor for the development of cervical cancer. It is preceded by the presence of high-risk genotypes and other factors associated with the host. The aim of this study was to identify the most common genotypes of patients attending the Oncology Service of the National Institute of Perinatology. 82 women were selected with papillomavirus infection. All of them underwent a swab of the cervix and endocervix for papillomavirus genotyping using the technique of online molecular arrangement. We identified 29 (35.3 %) patients with the presence of viral DNA , in which 45 different genotypes were detected. Of these, 57.8 % were high risk types and the most frequent ones were 58, 52, 51 and 16. Likewise, infections were found with more than 1 genotype in 45 % of the samples. It is important to have a cytological diagnosis scheme, colposcopic, histological and molecular diagnostic with high degree of correlation to support the diagnosis and provide timely care.

INTRODUCCIÓN

La infección por virus de papiloma humano (VPH) constituye una de las enfermedades de transmisión sexual más frecuente y es considerada un factor de riesgo mayor para el desarrollo de cáncer cervicouterino (CaCu).^{1, 2} Se ha estimado que un 10% de las mujeres en el mundo con citologías normales son portadoras de infección cervical por VPH, el cual es detectable del 6.1%-35.5%.³ De acuerdo a las diferencias en su material genético se han identificado más de 100 tipos de VPH, de los cuales por lo menos 40 infectan la región anogenital de mujeres y varones, mientras que 15 de estos genotipos se reconocen como virus oncogénicos.⁴ Como resultado de estas características, los diferentes tipos de VPH se han dividido en genotipos de alto riesgo: 16,18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68 y genotipos de bajo riesgo: 6, 11, 26, 40, 42, 53, 54, 55, 61, 62, 64, 66, 67, 69, 70, 71, 72, 73, 81, 82, 83, 84 IS 39, CP6108. Sin embargo, algunos autores mencionan que los tipos 26, 53 y 66 deberían considerarse como probables carcinógenos. Se estima que el 67.5% de los cánceres cervicales invasivos son atribuidos a los tipos virales 16 y 18.^{4,5} Actualmente existen en el mundo cerca de 630 millones de personas infectadas con VPH. México tiene una población femenina cercana a los 37.5 millones mayor o igual a los 15 años, las cuales representan un riesgo potencial de desarrollar cáncer cervical. De ellas, aproximadamente 15,000 mujeres son diagnosticadas con cáncer cervical y 5,000 mueren por esta causa. Así mismo, en nuestro país el cáncer cervical (invasivo y

no invasivo) es el segundo más frecuente de todos los cánceres que afectan a la mujer en especial entre los 15 y 44 años de edad.^{6,7,8}

En la mayoría de los casos el diagnóstico es clínico, debido a que la infección por VPH puede cursar de manera asintomática, subclínica o latente. Sin embargo, existen pruebas diagnósticas que apoyan la detección de papilomavirus. Las técnicas más empleadas pueden dividirse en; morfológicas, para detección del virus (citología, colposcopia e histopatología, incluso de microscopia electrónica); en inmunohistoquímicas, para detección del antígeno viral en la lesión, y las basadas en la detección del DNA viral mediante hibridación o amplificación.⁹ Comúnmente los métodos de diagnóstico para VPH han sido la citología y el examen colposcópico, sin embargo la baja sensibilidad y especificidad de estas pruebas limitan la detección definitiva de la infección, mientras que las pruebas serológicas no distinguen de una infección actual a una exposición previa. Las técnicas basadas en la amplificación de ácidos nucleicos como la captura de híbridos (CH-II), la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la genotipificación con arreglo lineal (Linear Array) complementan el diagnóstico clínico, con la ventaja de analizar muestras citológicas o biopsias mejorando la sensibilidad y la especificidad. Por ello resulta importante identificar los diferentes genotipos de VPH en mujeres con antecedente de infección con la finalidad de brindar una atención integral a la paciente que abarque prevención y tratamiento oportuno.^{5,7,10-12}

MATERIAL Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un estudio de tipo transversal y descriptivo de casos consecutivos que incluyó un total de 82 pacientes con antecedentes de infección por VPH atendidas en el Servicio de Oncología del Instituto Nacional de Perinatología (INPer) durante el periodo comprendido de Junio de 2012 a Junio de 2013. A todas las mujeres se les practicó un exudado a nivel de cérvix y endocérnix para la genotipificación de VPH. Las muestras se depositaron en el medio PreservCyt Solution (Marlborough, MA., USA) y fueron congeladas a -20°C , hasta su procesamiento.

Para la genotipificación, se empleó un ensayo de tipo cualitativo *in vitro* en arreglo lineal (Linear Array HPV Genotyping Test, Roche Molecular Systems, Inc., Branchburg, NJ), diseñado para detectar 37 tipos virales anogenitales, incluidos trece genotipos de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68) y veinticuatro genotipos de bajo riesgo (6, 11, 26, 40, 42, 53, 54, 55, 61, 62, 64, 66, 67, 69, 70, 71, 72, 73, 81, 82, 83, 84, IS39, CP6108). La prueba se basa en cuatro pasos esenciales; a) preparación de la muestra empleando Amplitude Liquid Media Extraction kit (EXTRN), b) amplificación del DNA blanco por PCR, c) hibridación de los productos amplificados con sondas de oligonucleótidos específicos para cada virus usando *Linear Array* Genotyping test (LA HPV GT) y d) la detección por colorimetría utilizando *Linear Array* Detection kit (LA DK).

RESULTADOS

El análisis de los datos se llevó a cabo mediante estadística descriptiva. Se analizaron un total de 82 muestras de pacientes que tenían el antecedente de infección por VPH. En 29 (35.3%) pacientes se detectó la presencia de DNA viral. La mediana de edad de estas, fue de 30 años (con un rango de edad de 16-59 años); el inicio de su vida sexual activa en promedio fue de 18 años, mientras que el promedio del número de parejas sexuales fue de 3 (Tabla 1)

Tabla 1. Características socio-demográficas de las pacientes con VPH

Edad	
Rango	16-59
Promedio	29.93
Desviación estándar	9.60
< 20 años	8
> 20 años	74
Escolaridad	
Rango	5-17 años
Mediana	12 años
Desviación estándar	2.71 años
Educación Básica	9
Educación media	54
Educación superior	19
Inicio de la vida sexual	
Rango	13-30
Promedio	18.83
Desviación estándar	5.54
Antes de 20 años	61
Después de 18 años	21
Número de parejas sexuales	
Rango	1-15
Promedio	3.17
Desviación estándar	2.94
1	22

Con respecto a la genotipificación, se identificaron 45 genotipos en total, de los cuales 26 (57.8%) se clasificaron de alto riesgo, siendo los tipos virales más frecuentes el VPH58 (20.7%), VPH52 (17.2%), VPH51 y VPH16 (13.8%) respectivamente. También se identificaron 19 (42.2%) genotipos de bajo riesgo, donde los más comunes fueron el VPH84 (13.8%), VPH6 y VPH53 (10.3%) respectivamente. En la figura 1 se indica el resto de los genotipos encontrados.

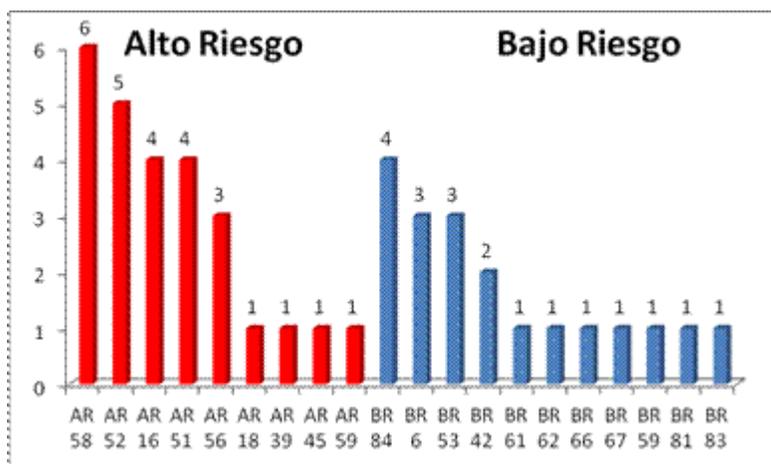


Figura 1. Distribución de los genotipos de VPH, con base a su oncogenicidad.

Cabe hacer mención que en el 55% de las pacientes se identificó infección por 1 solo genotipo viral, mientras que en el 45% restante se identificaron infecciones mixtas con 2 y hasta 3 genotipos de VPH diferentes (Tabla 2).

Tabla 2. Número de genotipos de VPH por paciente en infección única y mixta.

No. de genotipos por paciente	Pacientes n(%)
1 genotipo	16 (55)

2 genotipo	10 (35)
3 genotipo	3 (10)

En la tabla 3 se muestra la distribución de cada uno de los genotipos virales de VPH por paciente, en infección única e infección mixta.

Tabla 3. Presencia de diferentes genotipos de VPH por paciente.

No de paciente	Genotipos de VPH	
	Alto Riesgo	Bajo Riesgo
CON 1 GENOTIPO		
1	16	
2	16	
3	18	
4	39	
5	45	
6	51	
7	51	
8	56	
9	59	
10		6
11		42
12		53
13		53
14		61
15		62
16		66
CON 2 GENOTIPOS		
17	52	58
18	52	58
19	52	58
20	52	58
21		42, 84
22		83, 84
23	16	81
24	51	69
25	56	67
26	56	84
CON 3 GENOTIPOS		

27	16	51	58	
28		52	58	6
29				6, 53, 84

DISCUSIÓN

El virus del papiloma humano promueve el desarrollo de cáncer cervico-uterino y no depende del genotipo presente, sino de otros factores socio-demográficos. La prevalencia mundial de infección por VPH en pacientes con citología normal se ha estimado en 10.5%, sin embargo se han encontrado variaciones de hasta 20 veces entre las diferentes poblaciones con prevalencias que van desde 1.4% en España hasta 43.2% en México^{2,3}.

La prevalencia de esta infección aumenta cuando se estudia a pacientes con lesión demostrada con colposcopia o biopsia. Llegando a identificar la presencia de virus hasta en 87.5% de las muestras analizadas de pacientes con NIC III y cáncer invasor y siendo de 24% en pacientes con lesiones de bajo grado. Se identificaron genotipos virales en 35.3% de las muestras que se encuentra acorde con la prevalencia reportada para esta región que alcanza hasta 43.5%, sin embargo se encuentra por encima de la incidencia global que es de 22.5% y esto obedece a que se trata de pacientes con antecedente de infección por VPH^{14,15}.

En 2010 se realizó una distribución mundial de virus, resultando los 16, 18, 52, 31, 58, 39, 51, 56 y 6 virus de alto y bajo riesgo los que se presentaron con mayor frecuencia. En ese estudio la población mexicana no difirió de lo reportado. Nuestro estudio encontró que los virus más frecuentemente presentados fueron el

58 (20.7%), 52 (17.2%) 51 y 16 (13.8%) 84 (13.8%) 6 y 53 (10.3%). Las lesiones que se corroboraron por colposcopia y biopsia demostraron que la presencia de virus de alto riesgo se presenta más frecuentemente en lesiones de alto grado y los virus de bajo riesgo con las lesiones de bajo grado o estudios negativos ^{4, 14,16}.

El conocimiento de la distribución de las infecciones por VPH en la población general resulta una tarea crítica en la prevención de la aparición de lesiones premalignas cervicales que conlleva a una disminución en la presentación de CaCu. Una estrategia preventiva ha sido la introducción y amplia distribución de vacunas contra VPH. En nuestro medio contamos con 2 vacunas diferentes; la tetravalente que protege contra los virus 6, 11, 16 y 18 y la bivalente que protege contra los virus 16,18. En el presente estudio se encontró únicamente la presencia de los virus “vacunables” en 6 ocasiones que representan al 13% de las detecciones realizadas. Este hallazgo resulta importante si se compara con otros estudios realizados en la población mexicana en los que la distribución de los genotipos encontrados no se correlaciona con la reportada a nivel mundial y por consiguiente el uso de estas vacunas podría dejar lugar a una cobertura limitada para esta población aunque la información disponible actualmente no permite establecer una correlación definitiva ^{15, 16}.

CONCLUSIONES

Este estudio abre la puerta a nuevos estudios en poblaciones seleccionadas por antecedentes para identificar a aquellas mujeres que se encuentren en mayor riesgo de presentar lesiones de alto grado e invasoras, por esta razón la identificación de diferentes genotipos virales específicos en cada paciente permitirá un seguimiento controlado y un tratamiento preventivo y curativo más eficaz. Finalmente es importante tener un esquema de diagnóstico citológico, colposcópico, histológico y molecular con una alta correlación diagnóstica para apoyar al clínico de manera adecuada en la discriminación o confirmación de la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Weinstein LC, Buchanan EM, Hilson C, Chambers CV. Screening and prevention Prim Care. 2009 Sep;36(3):559-74.
2. Woodman CBJ, Collins SI, Young LS. The natural history of cervical HPV infection: Unresolved issues. Nat Rev Cancer. 2007;7:11-22.
3. de Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, Clifford G, Bruni L, Muñoz N, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. Lancet Infect Dis 2007;7: 453–459.
4. Insinga RP, Dasbach EJ, Elbasha E. Epidemiologic natural history and clinical management of human papillomavirus (HPV) disease: a critical and systematic review of the literature in the development of an HPV dynamic transmission model. BMC Infect Dis. 2009;9:119-144.
5. Diaz ML, Human Papillomavirus- Prevention and Treatment. Obstet Gynecol Clin N Am 35 (2008) 199–217 6 Aranda Flores Carlos, Márquez Acosta Gonzalo, Arteaga Gómez Ana C: Virus del papiloma humano. En: Casanova RG, Ortiz IFJ, Reyna FJ (eds): Infecciones de transmisión sexual. México, Alfil. 2004:49-69.
- 6 Aranda Flores Carlos, Márquez Acosta Gonzalo, Arteaga Gómez Ana C: Virus del papiloma humano. En: Casanova RG, Ortiz IFJ, Reyna FJ (eds): Infecciones de transmisión sexual. México, Alfil. 2004:49-69.
7. Bruni L, Diaz M, Castellsague X, Ferrer E, Bosch X, de Sanjose S. Cervical Human Papillomavirus Prevalence in 5 continents: Meta-Analysis of 1 million omen with normal Citology findings. J Infect Dis. 2010 Dec 15;202(12):1789-99.
8. Torres LA, Bustamante IJI, Torres RA, Oliva PJC, Morales PMÁ, Román BE. Cáncer cervicouterino. Perfil epidemiológico en 1,217 pacientes. Seguro Popular. Ginecol Obstet Mex 2013; 81 (02)
9. Akers AY, Newmann SJ, Smith JS. Factors underlying disparities in cervical cancer incidence, screening, and treatment in the United States. Curr Probl Cancer 2007;31:157–81.

-
10. Underwood M, Arbyn M, Parry-Smith W, De Bellis-Ayres S, Todd R, Redman CW, Moss EL. Accuracy of colposcopy-directed punch biopsies: a systematic review and meta-analysis. *BJOG*. 2012 Oct; 119(11):1293-301.
 11. Safaeian M, Solomon D, Castle PE. Cervical cancer prevention--cervical screening: science in evolution. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2007 Dec;34(4):739-60.
 12. Michelli E, Téllez L, Mendoza JA, Jürgensen C, Muñoz M, Pérez S, et al. Comparative analysis of three methods for HPV DNA detection in cervical samples. *Invest Clin*. 2011 Dec;52(4):344-57.
 13. Velázquez-Márquez N, Paredes-Tello MA, Pérez-Terrón H, Santos-López G, Reyes-Leyva J, Vallejo-Ruiz V., Prevalence of human papillomavirus genotypes in women from a rural region of Puebla, Mexico. *Int J Infect Dis*. 2009 Nov;13(6):690-5.
 14. López Rivera MG, Flores MO, Villalba Magdaleno JD, Sánchez Monroy V. Prevalence of human papillomavirus in women from Mexico City. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2012;2012:384758.
 15. Flores Y, Bishai D, Lazcano E, Shah K, Lörincz A, Hernández M, et al, Improving cervical cancer screening in Mexico: results from the Morelos HPV Study. *Salud Publica Mex*. 2003;45 Suppl 3:S388-98.
 16. Bruni L, Diaz M, Castellsagué X, Ferrer E, Bosch FX, de Sanjosé S. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J Infect Dis*. 2010 Dec 15;202(12):1789-99.