

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
FOLIO 2008-2012

INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES DE
LOS TRABAJADORES DEL ESTADO
HOSPITAL REGIONAL “GENERAL IGNACIO ZARAGOZA”

TITULO:

Detección de VPH-16 y 18 en
muestras de cérvix mediante captura de híbridos

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

ESPECIALISTA EN MEDICINA (GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

PRESENTA:

DRA. ADRIANA DE LA CRUZ OROZCO

DIRECTOR DE TESIS:

DR. FAUSTO MIOSÉS CORONEL CRUZ

MEXICO, DF; A 1 DE SEPTIEMBRE DEL 2015



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.

INDICE

Objetivo.....	3
Antecedentes.....	4
Justificación.....	6
Diseño.....	8
Resultados.....	9
Conclusión.....	12
Bibliografía.....	13

OBJETIVO

Determinar la frecuencia de VPH de alto riesgo, particularmente los subtipos VPH-16 y 18, en muestras cervicales de mujeres que acudieron al servicio de Displasias del hospital Regional General Ignacio Zaragoza , mediante el método de captura de híbridos (CH) del ADN viral y comparar estos hallazgos con las características colposcópicas respectivas, así como con los reportes histopatológicos de las colposcopias positivas para IVPH, LIEBG y LIEAG.

ANTECEDENTES

El cáncer cervicouterino es el segundo cáncer más común en mujeres en todo el mundo y el cáncer femenino más común en muchos países en desarrollo. Las estimaciones globales para el año 2000 fueron 470.600 nuevos casos y 233.400 muertes anuales.

Esquemáticamente, la infección cervical por VPH se presenta en 3 formas: 1) la forma clínica, que corresponde a los condilomas acuminados; 2) la forma infraclínica que se caracteriza por manifestaciones citológicas e histológicas y anomalías visibles con el colposcopio, y 3) la forma latente materializada por la presencia intracelular del genoma sin ninguna manifestación clínica o infraclínica.

En la actualidad la citología cervical es la herramienta más usada para el cribado del cáncer cervical, sin embargo presenta un porcentaje de falsos negativos que, puede alcanzar 20-30%. Dentro de las limitaciones de la citología cérvicovaginal como método convencional para la pesquisa de CaCu caben resaltar la dificultad y elevado costo de su automatización para reducir el error humano y la sobrevaloración de los hallazgos citológicos; esto, a su vez, conlleva al diagnóstico de cambios atípicos ambiguos que no pueden ser confirmados, tratamientos excesivos por Papanicolaou dudosos y manejo inadecuado de pacientes con lesiones cervicales cuyo Papanicolaou fue negativo para la infección por VPH y que, sin embargo, pudieran presentar una infección latente que solo se diagnosticaría molecularmente.

Distintos estudios han resaltado la importancia de utilizar métodos que permitan la tipificación viral, así como las ventajas de combinar los estudios citológicos con dichos métodos para mejorar el valor predictivo negativo de la prueba citológica convencional, permitiendo el incremento en los intervalos de periodicidad para la realización de la misma y la disminución de los costos de programas de salud. Un valor predictivo negativo elevado de la detección viral es muy útil en la práctica ya que, si no se detecta el virus, la posibilidad de que se esconda una lesión de alto grado es muy baja. Se ha establecido que la evaluación de VPH de alto riesgo en combinación con una citología vaginal negativa representa un valor predictivo negativo para la progresión de la enfermedad a cáncer cervical mayor a 98%.

La detección de VPH mediante captura de híbridos, es el primer método aceptado y registrado por la FDA para la detección del VPH, es un procedimiento cualitativo que consiste en la hibridación, en formato de microplaca, del ADN liberado de la muestra en estudio con sondas de ARN específicas para la identificación grupal de 13 tipos virales de alto riesgo (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/68) y 5 tipos de bajo riesgo (6/11/42/43/44). Los híbridos ADN:ARN son capturados sobre una superficie que contiene anticuerpos específicos para estos híbridos que, seguidamente, reaccionan con anticuerpos conjugados con fosfatasa alcalina. La unión es detectada por un sustrato quimioluminiscente de dioxetano, produciéndose una señal amplificada por lo menos 3.000 veces que es medida con un luminómetro en unidades relativas de luz (RLU). Esta técnica permite la discriminación entre grupos de VPH, pero no del tipo viral específico, a diferencia de la RCP.

A pesar de que el test de VPH es más sensible que la citología para detectar NIC 2 y 3; es menos específico cuando se usa sólo. Un resultado negativo para el test de VPH conlleva a un riesgo insignificante para NIC 3. A la inversa, un resultado positivo para

el test de VPH con una citología normal es sustancialmente predictivo para NIC 2 y 3. Estos datos sugieren que el test de VPH puede ser utilizado para detectar el riesgo de lesiones cervicales de alto riesgo.

JUSTIFICACION

El cáncer cervicouterino es el segundo cáncer más común en mujeres en todo el mundo y el cáncer femenino más común en muchos países en desarrollo. En México el CaCu es la primera causa de muerte por neoplasias en mujeres mayores de 25 años.

Se desconoce la prevalencia real de la infección por VPH, aunque se estima que el 70% de las mujeres tiene contacto con el virus a lo largo de su vida. Entre el 7-10% corresponde a tipos potencialmente oncogénicos,

El ADN del VPH está presente en aproximadamente el 95% de los cánceres infiltrantes, en el 90% de las lesiones de alto grado y el 70% de las lesiones de bajo grado. Se han determinado más de 150 genotipos diferentes de VPH, entre ellos, 15 son potencialmente oncogénicos para el epitelio del cuello uterino.

En la actualidad la carcinogénesis debida a la infección por VPH se conocen mejor. Se basan esencialmente en la integración de secuencias víricas en los genomas celulares, de la cual se deriva una sobreexpresión de los oncogenes E6 y E7 que tendrá como consecuencia la interacción de las oncoproteínas víricas y las proteínas celulares de regulación negativa del ciclo celular.

En los últimos años, mediante la biología molecular se ha establecido firmemente una relación causal entre la infección persistente (VPH), virus del papiloma humano de alto riesgo los genotipos y el cáncer de cuello uterino. Un estudio mundial informó la presencia de material genético (ADN) de este virus en más de 95% de casos de CaCu. Posteriormente, mediante técnicas de biología molecular más sensibles, la detección se ha optimizado, hasta obtener 99.7% de positividad al VPH en los tumores analizados.

Los tipos del VPH que se encontraron con mayor frecuencia fueron el 16, 18, 31, 33 y 35. El tipo 16 es el responsable de aproximadamente 50% de las infecciones en CaCu, mientras que el VPH 18 alcanza 18 a 20%.

Las neoplasias intraepiteliales (NIC), se desarrollan a partir de la unión cilindroescamosa y de la zona de transformación anormal y preceden a los carcinomas epidermoides, que constituyen aproximadamente del 80 al 90% de las lesiones invasivas del cuello uterino. Se trata de un grupo de lesiones caracterizadas por desorganización estructural y proliferación de células atípicas más o menos diferenciadas cuya evolución no siempre es progresiva; En algunos casos persisten o incluso remiten.

La relación entre la neoplasia intraepitelial cervical grado 2 y 3 (NIC 2 y 3) y el cáncer cervicouterino con la infección por el virus de Papiloma Humano (VPH), está bien establecida. El uso de la citología cervical convencional anual, ha reducido la incidencia del CaCu, pero las tasas probablemente se encuentren en meseta o incluso ligeramente en aumento.

El diagnóstico de CaCu puede mejorar con la aplicación del test para VPH mediante captura de híbridos aprobado por la FDA en Estados Unidos, dada la limitada sensibilidad de la citología.

En el servicio de Displasias del Hospital Regional Ignacio Zaragoza, se evalúan anualmente por primera vez a aproximadamente 3800 pacientes, de las cuales se tiene reportada una incidencia de IVPH del 21%, y de CaCu del 3.4%.

Por lo anterior, se decide realizar este estudio para valorar la eficacia de la detección del virus de papiloma humano mediante la tipificación viral. En este estudio se utilizará la captura de híbridos, que es específico para los serotipos 16 y 18; responsables del 70% de las infecciones en CaCu. Con lo anterior se busca valorar la eficacia de dicha prueba, pues no contamos con este estudio en la institución, y con esto incrementar la detección oportuna de infección por serotipos altamente cancerígenos y disminuir el desarrollo de lesiones mediante el seguimiento con mayor periodicidad en dichas pacientes.

DISEÑO

Estudio prospectivo, transversal, y comparativo. Se evaluaron mujeres mayores de 15 años de edad con actividad sexual, que acudieron a la clínica de Displasias del Hospital regional General Ignacio Zaragoza en el periodo comprendido de abril a octubre del 2010.

GRUPOS DE ESTUDIO

Se incluirán 2 grupos

- A) Pacientes con colposcopia normal
- B) Pacientes con colposcopia positiva para vph

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Todas aquellas que se recolecten en el periodo de tiempo establecido.

CRITERIOS DE INCLUSION

Pacientes mayores de 15 años con vida sexual activa que acudieron a la clínica de displasias del hospital regional general Ignacio Zaragoza en el periodo comprendido

CRITERIOS DE EXCLUSION

Pacientes con sangrado genital; procedimientos quirúrgicos previos que impidieran la adecuada toma de muestra; tratamiento inmunosupresor, seropositividad para VIH o embarazo diagnosticado.

RESULTADOS

Se tomaron 120 muestras de captura de híbridos a pacientes mayores de 15 años de edad con actividad sexual, que acudieron a realizarse su colposcopia a la clínica de Displasias del Hospital regional General Ignacio Zaragoza en el periodo comprendido de Abril a Octubre del 2010.

Se integraron 2 grupos; el grupo A: aquellas con colposcopia normal, grupo B: aquellas con datos colposcópico de infección por virus de papiloma (incluyendo infección, lesiones intraepiteliales escamosas de bajo y alto grado).

Se excluyeron pacientes con sangrado genital; con colposcopia no satisfactoria; tratamiento inmunosupresor, seropositividad para VIH, embarazo diagnosticado y aquellas que no aceptan la toma de la muestra. Eliminándose a pacientes cuyos expedientes no se encontraron completos durante la recopilación de datos.

En aquellas pacientes en cuya colposcopia se encontraban datos de Neoplasia intraepitelial cervical se realizó toma de biopsia para su estudio histopatológico.

Se realizó una historia clínica y un formato de recolección de datos que incluyó la edad, resultado colposcópico y resultado histopatológico en aquellas pacientes a las que se les realizó biopsia de cérvix.

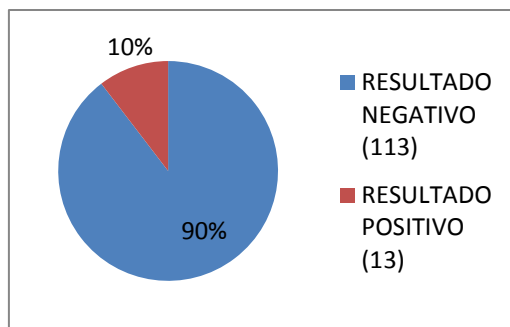
Previo consentimiento de cada paciente, se llevó a cabo la toma de muestras para su estudio.

La toma de la muestra fue endocervical, exocervical y de la zona de transformación con un hisopo de dacrón, el cual fue introducido en el medio de transporte ViraPap. El procesamiento de las muestras por captura de híbridos se realizó según las instrucciones del fabricante.

De las 120 pacientes a las que se les tomó la muestra, se eliminaron a 4 pacientes cuyos resultados o expedientes no se encontraban disponibles durante la recolección de resultados.

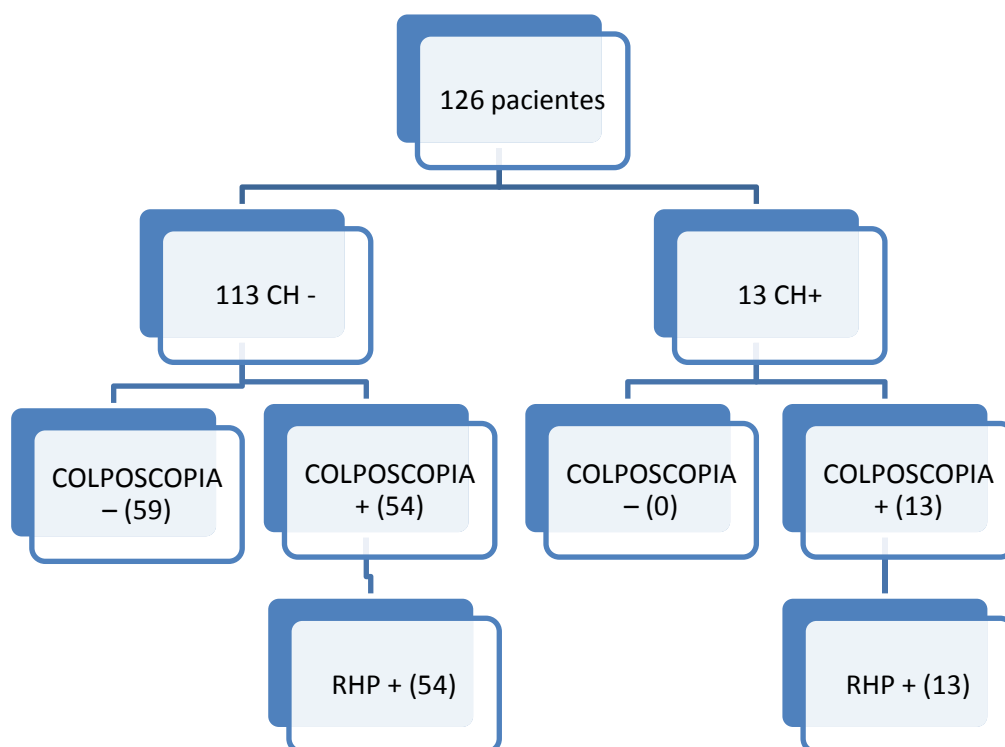
Se incluyeron en el estudio a 116 pacientes, de las cuales se reportaron 103 pacientes con resultado negativo de la captura de híbridos y 13 con resultado positivo.

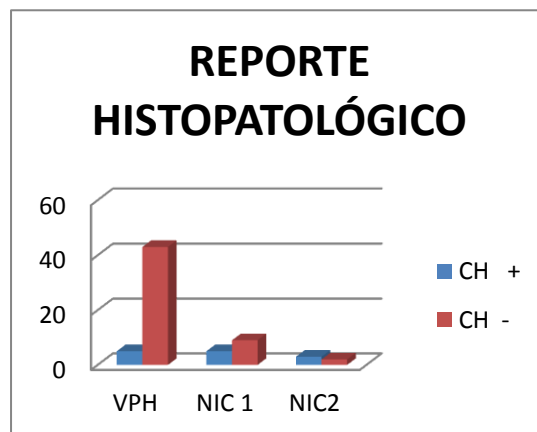
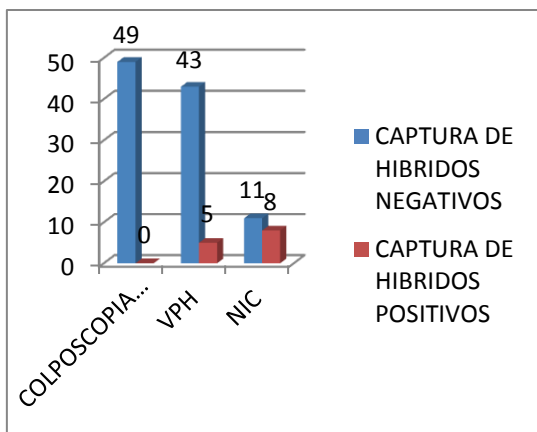
De las pacientes con resultado negativo con captura de híbridos (103), se encontraron 49 colposcopías normales y 54 con datos de IVPH (43 con datos de infección para VPH y 11 con NIC).



De las pacientes con resultado positivo (13), se encontró colposcópicamente que las 13 tenían características de infección por virus de papiloma humano (5 con IVPH y 8 con NIC).

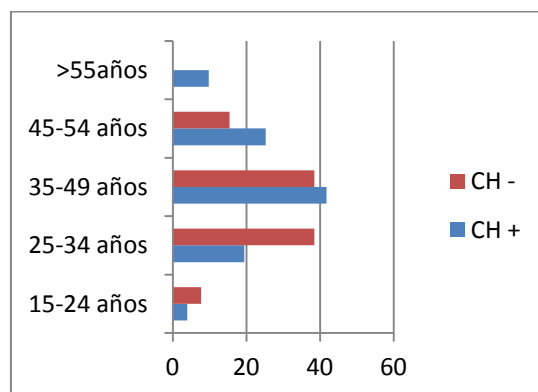
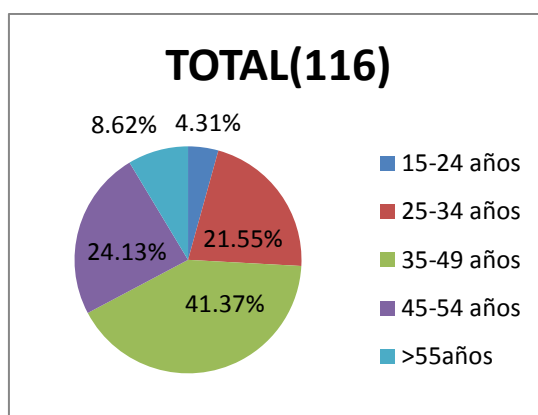
De las biopsias realizadas a las pacientes colposcópicamente positivas para IVPH pero con resultado negativo de captura de híbridos (54), se encontró en el reporte histopatológico (RHP) que las 54 tenían infección por VPH (43 con datos sugestivos de IVPH, 9 con NIC I y 2 con NIC 2); de igual manera en las pacientes colposcópicamente positivas con resultado positivo para captura de híbridos (13), se encontró en el RHP que todas contaban con IVPH (5 con IVPH, 5 con NIC 1 y 3 con NIC 2). No se encontró ninguna paciente con NIC 3 o CaCu in situ.





Según los rangos de edades establecidos, se encontró:

	15-24 años	25-34 años	35-49 años	45-54 años	>55años
CH +	4 (3.88%)	20 (19.41%)	43 (41.74%)	26 (25.24%)	10 (9.70%)
CH -	1 (7.69%)	5 (38.46%)	5 (38.46%)	2 (15.38%)	0 (0%)
TOTAL(116)	5 (4.31%)	25 (21.55%)	48 (41.37%)	28 (24.13%)	10 (8.62%)



CONCLUSION

La prueba realizada para la detección de infección por virus de papiloma humano, es específica para los serotipos 16 y 18, y según ésta, existe una frecuencia del 11% en la población estudiada.

En el 100% de los resultados positivos mediante captura de híbridos, se encontró una concordancia en el resultado colposcópico, no así con los resultados negativos.

Lo anterior no corresponde con lo descrito en otras publicaciones, lo cual puede explicarse por una mala toma de muestra, por el tamaño de la muestra o porque el método de captura de híbridos no incluye la detección de todos los serotipos del virus de papiloma humano asociado con la infección viral, existiendo la posibilidad de que se trate de resultados falsos negativos.

La mayoría de las pacientes con resultados positivos para IVPH (62.92%), se encontraron en un rango de edad entre 25 y 49 años de edad, lo cual nos alerta en cuanto a la adopción de medidas de control y seguimiento oportunas, como realizar tratamientos conservadores y tener un impacto en la morbilidad del cáncer cervicouterino.

BIBLIOGRAFIA

- Baldauf, JJ., Hamid D., Ritter J., et Walter P. Neoplasias intraepiteliales del cuello uterino. *Encycl Méd Chir* (Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Gynécologie, 597-A-10, 2003, 20p.
- Sasco AJ., Epidemiología del cáncer cervicouterino. (Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Gynécologie, 605-A-10, 2002, 6p.
- Norström A et Radberg T. Problemas de detección precoz de los cánceres del cuello uterino. (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Gynécologie, 605-A-20, 2002, 6p.
- Montoya H., Suárez A, Ramírez M. et al. Detección de papilomavirus 16, 18, 35 y 58 en cáncer cervicouterino y lesiones escamosas intraepiteliales de alto grado en el occidente de México: correlación clínico molecular. *Ginec Obst Mex* 2001; 69: 137.
- Management of abnormal cervical cytology and histology. ACOG Practice Bulletin No. 99. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol* 2008;112:1419–44.
- Z. De Guglielmo, A. Rodríguez. Métodos utilizados en la identificación del virus de papiloma humano. *An. Sist. Sanit. Navar.* 2010; 33 (1): 71-77.
- Mendoza J., Muñoz M., Vielma S, et al. Infección cervical por el virus del papiloma humano: diagnóstico por citología y por captura de híbridos del ADN viral. *Rev Obstet Ginecol Venez* 2000;60(2):103-107