



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

CENTRO MÉDICO NACIONAL “20 DE NOVIEMBRE”

INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS
TRABAJADORES DEL ESTADO (ISSSTE)

“COMPARACIÓN DE BIOPSIA CON FROTIS LARÍNGEO EN PACIENTES CON
DIAGNÓSTICO DE PAPILOMATOSIS RESPIRATORIA RECURRENTE”

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:

OTORRINOLARINGOLOGÍA Y CIRUGÍA DE CABEZA Y CUELLO

PRESENTA:

DRA. ITZEL HAYDE ESCAMILLA CETINA

DIRECTOR DE TESIS:

DR. MATSUHARU AKAKI CABALLERO

OTORRINOLARINGOLOGÍA Y CIRUGÍA DE CABEZA Y CUELLO

CENTRO MÉDICO NACIONAL “20 DE NOVIEMBRE”



Ciudad de México, 2017



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.

DIRECTORIO

Dra. Aura Argentina Erazo Valle Solís
Subdirectora de Enseñanza e Investigación
del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” ISSSTE

Dr. Rafael Manuel Navarro Meneses
Profesor Titular de la Especialidad de Otorrinolaringología
en el Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” ISSSTE

Dr. Matsuharu Akaki Caballero
Director de Tesis
Encargado del Servicio de Otorrinolaringología
del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” ISSSTE

Dra. Itzel Hayde Escamilla Cetina
Tesisista

ÍNDICE

I.	Marco Teórico	8
II.	Antecedentes	9
III.	Hipótesis	12
IV.	Justificación	13
V.	Objetivos	14
VI.	Diseño del estudio	15
VII.	Resultados	18
VIII.	Análisis y Discusión	23
IX.	Conclusiones	25
X.	Fuentes de información	26

*A mi Familia,
Maestros y Amigos*

MARCO TEORICO

La papilomatosis respiratoria recurrente (PRR) constituye una enfermedad viral sin tratamiento curativo en la actualidad, causante de una alta morbilidad con una incidencia elevada en países en vías de desarrollo. En el Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” se presenta una alta prevalencia de esta enfermedad sin existir estudios clínicos que comparen métodos diagnósticos. El presente estudio clínico se basa en la comparación de la biopsia con frotis laríngeo como método diagnóstico, el cual no requiere de anestesia general, por lo que es técnicamente más sencillo y más económico ya que no requiere de hospitalización, comparado con la biopsia excisional, la cual no tiene dichas ventajas.

ANTECEDENTES

La papilomatosis respiratoria recurrente constituye el tumor benigno más común de la laringe. Su incidencia aproximada es de 4.3 x 100,000 habitantes; Es una enfermedad de etiología viral, causada por el virus de papiloma humano (VPH). Los subtipos virales 6 y 11 causan con mayor frecuencia las lesiones, que pueden localizarse principalmente en la laringe pero pueden estar presentes a lo largo de todo el tracto respiratorio^{1,3}. La presencia de los subtipos virales 16 y 18 se asocia a la posibilidad de malignización, calculada en el 2%².

Pertenece a la familia *Papillomaviridae*, el virus del papiloma humano (PHV) es un virus encapsulado de ADN de doble cadena que presenta un alto grado de tropismo celular específico por las células epiteliales escamosas de mucosas de tracto genital, oral, faríngeo y esofágico⁴. Existen al menos 15 tipos del virus que han sido categorizados como de alto riesgo (HR) asociados a tracto genital y no genital y son reconocidos como una importante causa de cáncer en esos sitios (HPV 16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 59, 66, 68, 69, 73 y 82). Aquellos de bajo riesgo (LR) son 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81, CP6108 y se encuentran asociados a verrugas cutáneas y genitales⁵.

La mayoría de los casos de PRR se diagnostica en niños entre los dos y cuatro años de edad, algunas observaciones sugieren como factores de riesgo ser hijo de madre primigestante, joven y de estrato socioeconómico bajo^{2,6}. Otro pico de incidencia se encuentra después de los 12 años de edad y en el adulto joven.

Clínicamente los pacientes afectados con PRR se presentan con cuadros progresivos de disfonía, estridor y dificultad respiratoria. El diagnóstico se realiza al observar las lesiones laríngeas a través de laringoscopia indirecta con lente de 70°, microlaringoscopia directa o fibronasolaringoscopia, siendo característicamente lesiones grisáceas, pedunculadas o no, exofíticas, que están localizadas con mayor frecuencia en las cuerdas vocales, corroborándose el diagnóstico mediante el análisis histopatológico de las lesiones⁵. El curso clínico habitual de la PRR es el crecimiento progresivo de las lesiones hasta producir obstrucción respiratoria al comprometer la luz laríngea, por lo que frecuentemente es necesario que los pacientes sean intervenidos quirúrgicamente de manera repetitiva para debridación con el fin de restablecer la permeabilidad de la vía aérea^{7,8}.

Gracias a las herramientas moleculares, se han podido subtipificar al VPH y estudiar a aquellos causantes de la papilomatosis laríngea. Dentro de ellos, encontramos 70 subtipos diferentes de HPV, siendo el 6 y 11 los más frecuentemente encontrados en el epitelio laríngeo afectado. Sin embargo, de los distintos subtipos de HPV, los que se han hallado con mayor frecuencia en los pacientes con cáncer de laringe han sido los subtipos 16, 18 y 33^{9,10}.

Se han desarrollado en los últimos años múltiples escalas para describir la severidad de la enfermedad según su extensión, con el fin de hacer más objetiva ésta determinación y hacer más fácilmente la comparación de los resultados terapéuticos. La escala más conocida es la desarrollada por Derkay², en ésta se otorga una puntuación de 0-3 para cada sitio anatómico del tracto aerodigestivo. (0 lesión ausente, 1 lesión superficial, 2 lesión levantada, 3 lesión abultada), la suma de estos da el puntaje anatómico; además se

deben responder seis preguntas acerca del estadio clínico del paciente, que al sumarse dan el puntaje clínico. Por último se debe graficar en un formato estándar el lugar de las lesiones, de las biopsias y de aplicación de tratamiento coadyuvante²

El tratamiento habitual de esta patología requiere procedimientos quirúrgicos múltiples, debido a su carácter recurrente, en los cuales se resecan las lesiones mediante instrumentos de microcirugía laríngea, microdebridador laríngeo o vaporización de las lesiones con láser de CO₂ 5,7. Hasta el momento no existe cura para este padecimiento, y los gastos en el tratamiento individual de esta patología se calculan en promedio de \$201,724 dólares (rango entre \$61,822 y \$474,334 dólares en un paciente en quien la instalación de la enfermedad fue desde la infancia). El costo anual de cada caso de PRR es de \$57,996 dólares (rango entre \$32,407 y \$94,114 dólares)¹¹ Extrapolado este costo a la incidencia mexicana, se calcula un gasto de \$258,000,000 de dólares anuales para el tratamiento integral de esta patología.

Un porcentaje variable de los niños, imposible de predecir, con PRR puede tener un curso clínico más agresivo; los niños en quienes se diagnostica la condición en menores de tres años de edad tienen un riesgo 3.6 veces mayor de requerir un mayor número de procedimientos quirúrgicos anuales y de tener compromiso de más de un sitio anatómico². La carencia de un tratamiento efectivo para los pacientes con curso agresivo de esta patología ha llevado a que se realicen pruebas con múltiples opciones de tratamiento coadyuvante. Se han utilizado a lo largo de la historia el interferón alfa, terapia fotodinámica, indol-3-carbinol y cidofovir^{1,2,3}, sin embargo, ninguno de los anteriores ha demostrado hasta el momento cura de la enfermedad.

HIPOTESIS

Se formula las siguientes hipótesis:

- Hipótesis experimental: la toma de biopsia como el cepillado laríngeo son igual de sensibles para la detección de subtipos virales en la PRR
- Hipótesis nula: El cepillado laríngeo tiene menos sensibilidad para la detección de subtipos virales en la PRR que la biopsia

JUSTIFICACIÓN

Actualmente en México, la PRR representa una enfermedad con una incidencia no reportada oficialmente, pero debido a que se asocia con la infección sexual del mismo origen se calcula que el 50% de los adultos con vida sexual activa tienen exposición directa al virus y como actualmente no existe cura, representa una enfermedad crónica, recurrente y con tratamiento paliativo calculado para México en \$258,000,000 de dólares anuales para el tratamiento integral de esta patología.

En esta investigación se pretende identificar el subtipo viral de papiloma humano comparando el resultado de biopsia contra una prueba piloto (frotis laríngea) de las lesiones localizadas en la laringe y analizar las muestras mediante amplificación de DNA y utilización de microarreglo específico. Un microarreglo es una prueba de laboratorio diseñada para detectar DNA específico, en este caso es DNA del VPH.

Este estudio se justifica por la reducción de costo al no requerir de hospitalización para establecer el diagnóstico de PRR por biopsia, si no al realizar la prueba diagnóstica en consultorio con anestesia local con un cepillado laríngeo de las lesiones bajo visión endoscópica.

OBJETIVO

- Objetivo general: Comparar la sensibilidad del cepillado laríngeo contra la biopsia en pacientes con papilomatosis respiratoria recurrente en derechohabientes del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”.

- Objetivos específicos:
 - 1) Estandarizar la técnica para toma de frotis de laringe.
 - 2) Realizar la genotipificación en 5 pacientes que padezcan PRR
 - 3) Comparar los resultados de las muestras tomadas por frotis laríngeo con las muestras de biopsia

DISEÑO DEL ESTUDIO

Tipo de investigación: Es un estudio observacional con muestreo consecutivo, asignación no aleatoria, análisis descriptivo, con grupo de comparación, seguimiento longitudinal, prospectivo, fuente de datos prolectivo y retrolectivo, y con evaluación abierta.

Grupo de estudio:

- Pacientes adultos del servicio de otorrinolaringología del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, con diagnóstico histopatológico de papilomatosis respiratoria recurrente.

Criterios de Inclusión:

- Pacientes de cualquier genero, mayores de 18 años edad que cuenten con diagnóstico histopatológico de papilomatosis respiratoria.
- Que presenten por lo menos una recurrencia y que cuenten con enfermedad activa al momento del frotis caracterizada por la existencia de lesiones papilomatosas en cualquier sitio de la laringe.
- Estar de acuerdo con consentimiento informado y haberlo firmado
- Ser derechohabiente del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”.

Criterios de Exclusión:

- Pacientes menores de 18 años

- Pacientes sin enfermedad activa de PRR en la laringe.
- Pacientes sin diagnóstico histopatológico confirmatorio de PRR.
- Pacientes que no accedan a participar en el estudio bajo consentimiento informado

Criterios de Eliminación:

- Pacientes en los que el estudio histopatológico haya sido un falso positivo para papilomatosis respiratoria.
- Pacientes que decidan abandonar el estudio en cualquier momento en cuyo caso se destruirá la muestra

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio piloto donde se escogió a cinco pacientes de la consulta de otorrinolaringología en el Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” perteneciente al Instituto de Seguridad y Servicios Sociales para los Trabajadores del Estado con diagnóstico histopatológico de papilomatosis respiratoria recurrente con los criterios de inclusión descritos anteriormente. Se realizaron muestras de cepillado laríngeo, a partir de las cuales se obtuvo el genoma viral y la genotipificación del subtipo viral y se correlacionó con los resultados histopatológicos obtenidos por biopsia.

RESULTADOS

Se realizó la estandarización de la técnica de recolección de la muestra y se corroboró, mediante el cegamiento del médico que procesó las muestras, la precisión para identificar serotipos específicos. Corroborando una especificidad del 100% en muestras repetitivas de los mismos pacientes, corroborando que es posible la identificación viral en tejido y en saliva obtenida por frotis de pliegues vocales.

El protocolo de investigación consistió en la repetición consecutiva de muestras obtenida de seis pacientes. Esto consistió en el análisis ciego de 12 muestras consecutivas utilizando el kit de análisis PCR tiempo real. Se realizó el procedimiento de identificación de serotipos PRR a través de frotis y de biopsia; en esta fase se comprobó que la técnica de extracción y análisis de las muestras fuera estandarizado y exacto.

En este fragmento muestral encontramos los serotipos 6 (50%), serotipo 11 (37.5%) y serotipo 16 (12.5%).

Una vez probada la eficiencia del protocolo en cuanto a la búsqueda de hallazgos médicos así como la adecuada planeación metodológica, se integraron a la muestra 26 pacientes diagnosticados previamente con PRR por histología, para la identificación del serotipo por medio de frotis de pliegues vocales. Entre ellos se cuentan 7 mujeres (26.92%) y 19 varones (73.07%) ver, Figura 1.

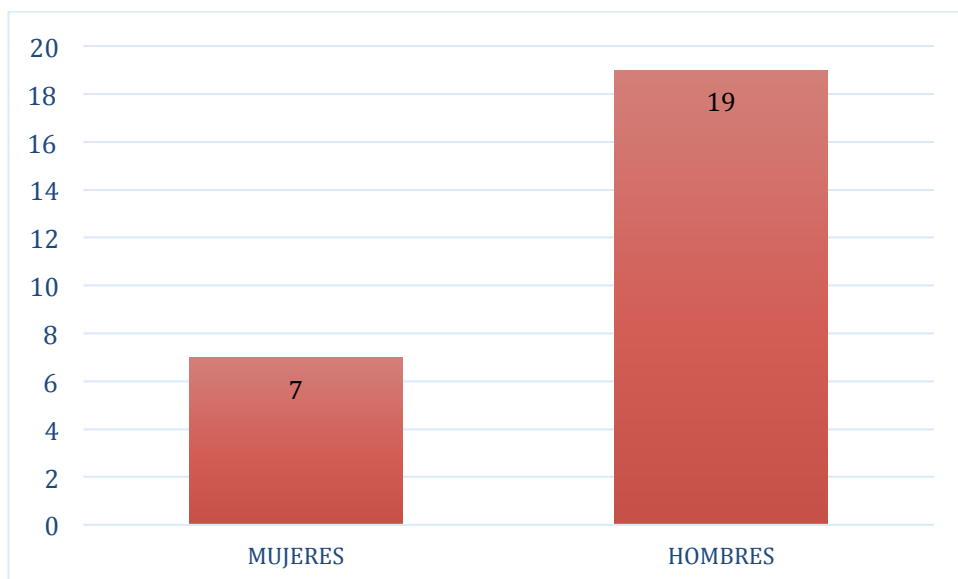


Fig. 1. Distribución de la muestra de pacientes por género

Todos pasaron por ambos procedimientos (frotis y biopsia) para la identificación del serotipo de PRR. En la tabla 1 se indican los resultados obtenidos en el procedimiento de biopsia donde se identificaron los serotipos 6, 11 y 16 siendo el serotipo 6 el más común con el 76.9% de la muestra.

Tabla 1. Identificación de serotipos por medio de Biopsia

Serotipo	Frecuencia de ocurrencia	Porcentaje (%)
6	20	76.9
11	4	15.8
16	2	7.4
Total	26	100%

En la tabla 2 se muestra el procedimiento de frotis que se identificaron los serotipos 6 y 11 siendo el tipo 6 el más común con el 76.92% de la muestra.

Tabla 2. Identificación de serotipos por medio de Frotis

Serotipo	Frecuencia de ocurrencia	Porcentaje (%)
6	20	76.9
11	4	15.8
Total	26	100%

Se realizó una correlación por género y el tipo de serotipo de PRR identificado, reportando los siguientes datos, ver tabla 3. En esta se observa que todos los serotipos tienen mayor correlación al género masculino, sin embargo esto puede deberse a las características de la muestra que es mayoritariamente masculina.

Tabla 3 Correlación entre género y serotipo de PRR

Género	Serotipo 6	Serotipo 11	Serotipo 16
Masculino	13	5	1
Femenino	3	1	1

En la tabla 4, se muestra la sensibilidad de ambas pruebas diagnósticas.
 TABLA 4.

$S = 26/26 = 1$

<i>VPH</i>	<i>BIOPSIA</i> +	<i>BIOPSIA</i> -
FROTIS +	26	0
FROTIS -	0	0
T	26	0

SENSIBILIDAD PARA EL SEROTIPO 6

$S = 20/20 = 1$

<i>SEROTIPO</i> 6	<i>BIOPSIA</i> +	<i>BIOPSIA</i> -
FROTIS +	20	0
FROTIS -	0	0
T	20	0

SENSIBILIDAD PARA EL SEROTIPO 11

$S = 4/6 = 0.666$

<i>SEROTIPO</i> 11	<i>BIOPSIA</i> +	<i>BIOPSIA</i> -
FROTIS +	4	0
FROTIS -	2	0
T	6	0

SENSIBILIDAD PARA EL SEROTIPO 16

S=0/2=0

<i>SEROTIPO</i> 16	<i>BIOPSIA</i> +	<i>BIOPSIA</i> -
<i>FROTIS</i> +	0	0
<i>FROTIS</i> -	2	0
T	2	0

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Este trabajo de investigación, es el primer estudio prospectivo que se realiza en su tipo a nivel nacional, donde se compara la sensibilidad y especificidad de la biopsia excisional contra el frotis laríngeo, para el diagnóstico de VPH respiratorio y detección de subtipos virales en pacientes adultos con diagnóstico de papilomatosis respiratoria recurrente.

Incluimos una muestra de 26 pacientes, mayores de 18 años de edad. De los cuales 7 fueron mujeres (27%) y 19 hombres (73%); con una relación hombre: mujer de 2.7:1. Esto difiere de los datos reportados en el estudio de Gustavo Cuello (2013)¹²; en el cual se encontró una relación hombre: mujer de 1.5:1. Probablemente esta diferencia en la distribución de PRR por género se deba a la mayor prevalencia de hombres en nuestra muestra.

A los 26 pacientes se les realizó detección viral y tipificación mediante ambos métodos diagnósticos (frotis y biopsia). Encontrando 3 subtipos de VPH 6,11 y 16; los cuales corresponden los subtipos virales más prevalentes, de acuerdo a lo reportado en la literatura^{13,14}.

El subtipo viral con mayor prevalencia en nuestra muestra fue el VPH 6, en 20 pacientes (77%), el cual es considerado de bajo riesgo y coincide con el subtipo reportado con mayor frecuencia en estudios previos¹². El segundo subtipo encontrado con mayor frecuencia en este estudio fue el VPH 11 aislado en 4 pacientes, por medio de biopsia

(19.4%); y se ha asociado a formas clínicas más severas, así como mayor riesgo de malignidad ^{15,16}.

Se realizó cálculo de la sensibilidad y especificidad del frotis en comparación con la biopsia excisional, considerado actualmente el estándar de oro para diagnóstico y subtipificación viral en papilomatosis respiratoria recurrente.

La sensibilidad del frotis como prueba diagnóstica, en la detección de VPH en pacientes con PRR, fue del 100%, ya que encontró VPH en los 26 pacientes. Sin embargo encontramos que este método no fue sensible para detectar el subtipo 16, ya que los dos casos tipificados por biopsia con el genotipo 16, se reportaron con subtipo 11 por medio de frotis.

Una limitante de este estudio es el tamaño de muestra, por lo que no fue posible determinar la exactitud del frotis como prueba diagnóstica. Por lo anterior es necesario realizar, con un mayor tamaño de muestra para obtener evidencia más sólida.

CONCLUSIONES

La prevalencia de Papilomatosis respiratoria recurrente en nuestro medio, es aún desconocido. Ya que es difícil realizar estudios de seguimiento de manera rutinaria debido a que estos son invasivos para los pacientes y no en todos los centros se cuenta con el equipo necesario para la detección y seguimiento de la enfermedad. Y en el caso particular de la biopsia, se requiere por lo general de anestesia general para la toma de la muestra y hospitalización para la recuperación del procedimiento.

Es por eso, que consideramos de suma importancia los resultados que nos ofrece este estudio, ya que a través de un procedimiento sencillo, rápido, poco invasivo y sin complicaciones reportadas como lo es el frotis faríngeo.

Hemos demostrado que el frotis laríngeo tiene la misma sensibilidad y exactitud que la biopsia de tejido laríngeo para la detección de los subtipos de VPH 6, 11 y 18. Lo anterior establece un método diagnóstico estandarizado para la realización de toma de muestras en estudios sucesivos.

FUENTES DE INFORMACION

1. Peñaloza M, Montoya H et al. Molecular identification of 7 human papillomavirus types in recurrent respiratory papillomatosis. *Ar Otolaryngol* 2000;123:1119-1123.
2. Derkay C. Recurrent Respiratory Papillomatosis. *Laryngoscope*, 2001;111:57-69.
3. Aaltonen L, Rihkanen H, Vaehri A. Human Papilomavirus in Larynx. *Laryngoscope*. 2002;112: 700-707
4. Goon P. Recurrent respiratory papillomatosis: an overview of current thinking and treatment. *Eur Arch Otorhinolaryngol* (2008) 265:147–151
5. Shirish Shukla, Alok C. Bharti, Sutapa Mahata, Showket Hussain, Rakesh Kumar*, Suresh Hedau & Bhudev C. Das* Infection of human papillomaviruses in cancers of different human organ sites. *Indian J Med Res* 130, September 2009, pp 222-233
6. Mammas IN, Sourvinos G, Vakonaki E, Giamarelou P, Michael C, Spandidos DANovel human papilloma virus (HPV) genotypes in children with recurrent respiratory papillomatosis. *Eur J Pediatr*. 2010 Mar 7.
7. Soldatskii I, Onufrieva EK, Strygina I, Pogosova IE. Recurrent respiratory papillomatosis: update review. *Vestn.Otorinolaringol*. 2009;(4)(4):66-71.

8. Blumin JH, Handler EB, Simpson CB, Osipov V, Merati AL. Dysplasia in adults with recurrent respiratory papillomatosis: incidence and risk factors. *Ann.Otol.Rhinol.Laryngol.* 2009 Jul; 118(7):481-485.
9. Bishai D. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2000;126:935-939
10. Broekema F. Side-effects of cidofovir in the treatment of recurrent respiratory Papillomatosis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* (2008) 265:87
11. David Bishai, The Cost of Juvenile-Onset Recurrent Respiratory Papillomatosis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2000;126:935-939
12. Gustavo G, Clinical characteristics and HPV type in recurrent respiratory papillomatosis in Colombia. *Salud Publica Mex* 2013;55:416-420.
13. Dickens P, Srivastava G, Loke SL, et al. Human Papillomavirus 6, 11, and 16 in laryngeal papillomas. *J. Pathol.* 1991;165:243-6.
14. Naren N. Venkatesan, Harold S. Pine. Recurrent Respiratory Papillomatosis. Department of Otolaryngology, University of Texas Medical Branch, USA. June 2012 volume 45, Issue 3:671-694.
15. Wiatrak BJ, Wiatrak DW, Broker TR, Lewis L. Recurrent respiratory papillomatosis: a longitudinal study comparing severity associated with human papilloma viral types 6 and 11 and other risk factors in a large pediatric population. *Laryngoscope* 2004;114:1-23.
16. Reidy PM, Dedo HH, Rabah R, Field JB, Mathog RH, Integration of human papillomavirus type 11 in recurrent respiratory papilloma-associated cancer. *Laryngoscope* 2004;114:1906-9.

