



RESUMEN

Utilidad y eficiencia de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en el diagnóstico de papiloma humano

Autor: **SALVADOR CONTRERAS HUERTA**

Coautores: Guadalupe Alcantar Garcia, Alma Clementina Andrade Bonilla, Armando Mendez Perez.

Area de Investigación: Biomedicina

Institución: Universidad Veracruzana

Año Residencia: -----

Tipo de Autor: Estudiante de Pregrado

Dependencia: Depto. de Patología Experimental.

Hospital: -----

Matricula/Numero Personal: 9840045

Telefono Laboral: 8102104

Telefono Particular: 8102104

Email: qcptoex@hotmail.com

Extension:

Telefono Celular: 044 2281460406

Email Alternativo: mackalen@hotmail.com

Marco teórico:

La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) es una de las técnicas mas empleadas en el diagnostico de infecciones por virus; en el caso del Virus de Papiloma Humano no podía ser la excepción. La prueba tiene como fin amplificar regiones génicas de los virus imperceptibles por métodos tradicionales como citología y colposcopia, lo cual permite identificar de manera más exacta la presencia viral y con ayuda de enzimas de digestión (RFLP) realizar cortes exclusivos que hacen a un subtipo viral diferente del otro, para apoyar así a la clasificación del grado oncogénico al cual pertenecen. El propósito de emplear métodos de biología molecular como PCR está fundamentado en que este tipo de técnicas deben tener la sensibilidad y especificidad necesarias, además de una buena reproducibilidad, para considerarlas óptimas y aplicarlas en la detección del VPH en la práctica clínica. La aseveración del diagnóstico

de infección por papova y la asignación de su grado de oncogenicidad a través de citología y colposcopia han resultado controversiales, ya que en los tiempos actuales deben considerárseles métodos de cribado con sugerencias a que exista la posibilidad de infección. Es por ello que algunos autores han considerado ahora la identificación de la infección por VPH mediante el estudio del DNA viral para confirmar la presencia de éste, considerando la posibilidad de reducir el porcentaje de falsos positivos obtenidos por los métodos convencionales ya mencionados. El uso de secuencias de oligonucleótidos denominadas de consenso (MY09/MY11) permite caracterizar las regiones L1 y L2 de los genes de expresión tardía del agente viral. Por todo lo descrito anteriormente, consideramos importante el efectuar este estudio, ya que de los resultados obtenidos pueden crearse opiniones a favor para que esta metodología sea aplicable en la mayoría de nuestras instituciones de

salud como una herramienta importante en la prevención del cáncer cervicouterino.

Antecedentes:

En 1987, Zur Hausen y sus colaboradores aislaron DNA del virus del papiloma humano de lesiones genitales utilizando técnicas de biología molecular mediante la clonación del genoma viral incrustado en el genoma celular, y se reportaron 42 subtipos virales de la familia papovaviridae, de los cuales 11 están involucrados con lesiones en el tracto genital. Hacia el año de 1996 se reportaron 60 subtipos virales de papovaviridae, y hacia 1998 KS Paul había descrito 85 subtipos, los cuales fueron divididos de acuerdo con su comportamiento en bajo, mediano y alto grado de capacidad para propiciar mutación en anti-oncogenes.

Hipótesis:

La Reacción en Cadena de la Polimerasa permite diagnosticar con certeza la presencia del Virus del Papiloma Humano y disminuye el porcentaje estadístico de la infección diagnosticado por métodos convencionales.

Objetivo general:

Identificar la infección por Virus del Papiloma Humano mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa. Clasificar los principales tipos virales (alto, medio o bajo riesgo). Contrastar y validar los resultados de la PCR con los obtenidos por métodos convencionales.

Metodología:

Se evalúa la utilidad y eficacia de la PCR en el diagnóstico de infección por VPH en comparación con métodos tradicionales como citología y colposcopia. El estudio se realizó en 160 muestras de raspado y exudado endocervical procedentes de mujeres en edad reproductiva y con vida sexual activa, atendidas en Clínicas de Salud de la ciudad de Xalapa, Veracruz, que fueron reportadas como infección viral asociada con papiloma humano, de las cuales se obtuvo DNA mediante el protocolo de aislamiento establecido para el reactivo de DNAzol. La PCR se realizó con secuencias de consenso MY09/MY011 para amplificar genes de expresión tardía L1 y L2 del virus. Todas las muestras se procesaron con controles positivos y negativos para reducir el margen

de error. Para la identificación del subtipo viral se empleó la enzima de restricción RsaI siguiendo el protocolo establecido por el proveedor.

Resultados:

El DNA-VPH se reconoció en sólo 25 casos (15.62%) de los 160 que fueron reportados como positivos a papova por citología y colposcopia. En la identificación del subtipo viral de los 25 casos positivos se encontraron varias expresiones clínicas de la enfermedad, siendo el VPH 11 el de mayor frecuencia con 36%, considerado según la literatura de bajo grado; por otra parte, el subtipo de menor aparición y proporción estadística fue el VPH16 (4%), clasificado como de alto grado oncogénico.

Discusión:

La detección del VPH es una herramienta útil para la disminución de la incidencia y mortalidad del cáncer de cuello uterino. Pese a que la citología y colposcopia son metodologías de antaño que nos sugieren datos de sospecha útiles en la detección oportuna de infección viral por papiloma, es importante que se tome en cuenta la gran sensibilidad y especificidad que posee la PCR para la detección de VPH, ya que ésta actúa de forma directa con regiones génicas del DNA viral. Ello contribuye a reducir en gran medida la estadística errónea, la cual manifiesta que 6.5 mujeres de cada 10 que acuden a revisión citológica cursan con infección viral asociada a VPH, no sólo afectando el estado físico y emocional de la paciente, sino más aún mermando la relación de pareja. Con la demostración de esta diferencia abismal de casos positivos arrojada por cada metodología, es necesario sugerir a las instituciones de salud considerar la posibilidad de incluir en sus instalaciones la creación y participación de laboratorios de biología molecular.

Referencias bibliográficas:

1. Ajo, D.; Cheri, P.; Hans, UB.; Chi. KO.; Niachaele, MM.; Shih, NS.; Villa, LL. "Identification and assessment of known and novel Human Papilloma virus by polymerasa chain reaction amplification, restriction fragment length polymorfism, nucleotide sequence and philogenetic algorithms".

- J of Infect Dis.* 1994; 70: 1077-1085.
2. Barasso, R.; Bergeron, C.; Veaudenon, S. "A human papilloma virus associated with cervical intraepithelial neoplasia: Great diversity and distinct distribution in low and high grade lesion". *Am J Surg Pathol.* 1992; 16: 641-649.
3. Bauer, Hm; Wheeler, CM.; Bernard, HU.; Chan, SY.; Dlius, H.; Manos, MM. Ong, CK.; Peyton, CL.; Villa, LL. "Identification and assessment of known and novel human papillomaviruses by polymerase chain reaction amplification, restriction fragment length polymorphisms, nucleotide sequence and phylogenetic algorithms". *J of Infect Dis.* 1994: 1077-84
4. Bedel, MA.; Hudson, JB.; Lalmima, LA.; NicCance, DJ. "Immortalization and alteration of Differentiation of human keratinocytes in vitro by the E6 y E7 open reading frames of human Papilloma virus type 18". *J Virol.* 1990; 64: 519-596.
5. Bergen, S.; Waller, J.; Wilczynski SP. "Human papilloma virus and cervical cancer: Analysis of histopathologic features associated with different viral types". *Hum Pathol.* 1988; 19: 697-704.
6. Cancer, DJ.; Camolon, SP.; Carkson, Chesters; Jenllsins, D.; Singer, A. "The prevalence of human papilloma virus type 16 DNA Sequences in cervical intraepithelial neoplasia and invasive carcinoma of the cervix". *Br J Obstet Gynecol.* 1999:1101-110.
7. Cerwenka, A.; Lainer, L.L. "Natural Killer Cell". *Virases and Cancer Nature Reviews* 2001, 1:41-49.
8. Crum, CP.; Levin, RU.; Mitao, M.; Nagal, N.; Silvester. "Histological and molecular analysis of early cervical neoplasia". *J Cell Biol Cern Suppl.* 1985; 9:70.
9. De Villers, FM. "Heterogeneity of the human papilloma virus group". *J Virol.* 1989; 63:4898-4903.
10. Durst, ML.; Glassman, H.; Ikenbeerg, IH.; Zur Hausen, HA. "Papilloma virus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions". *Prct Nati Acad Sci. USA80.* 1983:3812-3815.
11. Dyson, NP.; Howley, M.; Munger, K.; Mariow, A. "The human papova virus 16 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product". *Science.* 1989; 243:934-937.
12. Fletcher, S. "Histopathology of papilloma virus infection of the cervix uteris. The history, taxonomy, nomenclature and reporting of koilocitotic dysphasia". *J Clin Pathol.* 1983; 36:616- 624.
13. Ikenberg, H.; Giasmarin, L.; Gross, O.; Ornssndorf, EJ.; Zur Hausen, H. "Human papova virus type 16 related DNA in Genital Bowns disease and Bowenoid papulosis". *Int J Cancer.* 1983; 32:562-565.
14. Meissel, A.; Morin, C. "Human papilloma virus and cancer of the uterine cervix". *Gynecol Oncol.* 1981; 12: 8111-8123.
15. Leinilcid, P.; Purola, E.; Saicaela, F.; Vesterinen, E. "Clinical and virological findings in patients with cytologically diagnosed gynecologic herpes simple infections". *Acta Cyto* 1977U1:199-205.
16. Syijanen, MI. "Condilomatous lesions in dysplasic and neoplastic epithelium of uterine cervix". *Surg Gynecol Obstet* 1980; 150:372-376.
17. Paul, KS.; Tai, H.; Li, NT.; Chan/Vei, M.; Liniz, M.; Jo, L.; Cheuing, Auzusune, F.; Cheniz, H. "Prevalence of human papilloma virus type 58 in Chinese women with cervical cancer precancerous lesions". *J of Med Virol.* 1989:59.
18. Richan, RM.; Barron, BA. "A follow up study of patients with cervical dysplasia during long-term". *Am J Obstet Gynecol.* 1999; 61:609-614.
19. Schiffinan, MU.; Batir, HM.; Hoover, RN.; Olass, AG.; Cadeil, DM.; Rush, BB.; Seonil, DR.; Shermann, ME.; Kurman. RJ.; Wacholder, S. "Epidemiologic evidence showing that human papilloma virus infection causes most intraepithelial neoplasia". *J Nat Cancer Inst.* 1993; 85:958-964.
20. Chenggis, ML.; Costa, N.; Kenny, MB.; Unger, BR.; "In situ hibridization for human papilloma virus DNA in uterine adenosquamous carcinoma with glassy cell features (glassy cell carcinoma)". *Am J Clin Pathol.* 1992; 98:186-187.
21. Jansen, AM.; Peyton, CL.; Wheeler CM. "A novel

human papilloma virus sequence four, novel
genital human papilloma virus". J. Infect Dis.
1994; 170:792-795.