**Facultad de Medicina**

**UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD**

**GRAL. DE DIV. MANUEL ÁVILA CAMACHO**

# "DETERMINACIÓN DEL GENOTIPO DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN PACIENTES ADULTOS CON PAPILOMATOSIS LARÍNGEA"

**Tesis para obtener el Diploma de Especialidad en:**

**OTORRINOLARINGOLOGÍA**

**Presenta:**

**Dr. Alfonso Villaseñor Herrero**

**Directores:**

**Dra. C. Margarita Andrade Bonilla**

**Dra. Verónica Vallejo Ruiz**

**Asesor**

**Dr. Eduardo Gómez Conde**

**Colaborador:**

**Dr. Aurelio V. Mendoza García**

**H. Puebla de Z. Marzo 2018**

**AUTORIZACIÓN DE LA TESIS**

Los Doctores Clotilde Margarita Andrade Bonilla, Verónica Vallejo Ruiz y Eduardo Gómez Conde, directores de la tesis titulada: **Determinación del genotipo del virus del papiloma humano en pacientes adultos con papilomatosis laríngea,** del Doctor Alfonso Villaseñor Herrero, hacemos constar que hemos revisado el contenido científico y la estructura metodológica, por lo que autorizamos su impresión.

A T E N T A M E N T E
Puebla Pue. a 09 de octubre del 2017

DIRECTORES DE LA TESIS

Dra. Clotilde Margarita Andrade Bonilla

Dra. Verónica Vallejo Ruiz

Dr. Eduardo Gómez Conde

# RESUMEN

## DETERMINACIÓN DEL GENOTIPO DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN PACIENTES ADULTOS CON PAPILOMATOSIS LARÍNGEA

*Villaseñor Herrero Alfonso*[1*], *Andrade Bonilla C. Margarita*[1*], *Vallejo Ruiz Verónica*[2], *Mendoza García Aurelio V.*[3], *Gómez Conde Eduardo*[4].

[1]Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional "Gral. Div. Manuel Ávila Camacho", IMSS Puebla; Departamento de Otorrinolaringología.
[2]Centro de Investigación Biomédica de Oriente, IMSS, Metepec, Puebla.
[3]Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional "Gral. Div. Manuel Ávila Camacho", IMSS Puebla; Jefatura de Departamento de Anatomía Patológica.
[4]Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional "Gral. Div. Manuel Ávila Camacho", IMSS Puebla; División de Investigación en Salud.
Correspondencia: alfonso.vihe@gmail.com

**INTRODUCCIÓN:** La papilomatosis laríngea recurrente es causada por el virus del papiloma humano y es la neoplasia laríngea benigna más frecuente. Aunque raramente fatal, a menudo requiere un extenso tratamiento médico y quirúrgico durante un largo período de tiempo, lo que a su vez causa sufrimiento físico y emocional en los pacientes afectados.

**OBJETIVO:** Determinar el genotipo del virus del papiloma humano en pacientes adultos con papilomatosis laríngea recurrente.

**MATERIAL Y METODOS:** Se realizó un estudio descriptivo, observacional, transversal, ambispectivo, ambilectivo y unicéntrico. Llevado a cabo en el HESP MAC durante el periodo de julio del 2015 a julio del 2017. Se incluyeron pacientes con diagnóstico de papilomatosis laríngea, confirmado histopatológicamente, de cualquier sexo y mayores a 18 años. Se eliminaron aquellos pacientes de los que no se encontraron los bloques de parafina en el servicio de patología. La muestra se conformó de 50 pacientes, elegidos de manera no probabilística. Se revisaron los expedientes clínicos, se extrajeron las muestras contenidas en bloques de parafina y fueron sometidas a PCR.

**RESULTADOS:** El VPH 6 representó el 62%, el VPH 11 se presentó en el 34%, y los VPH 16 y 18 representaron el 4%.

**CONCLUSIÓN:** Se concluye que el VPH 6 es el más prevalente, sin embargo, el VPH 11 fue el que se presentó en más ubicaciones anatómicas, un cuadro clínico más complejo, un mayor número de intervenciones quirúrgicas y un tiempo de evolución menor; por lo tanto, en este estudio el VPH tipo 11 muestra una mayor virulencia respecto al VPH tipo 6.

# INDICE


1.1 GENERALES ..... 6
1.1.1 INTRODUCCIÓN ..... 6
1.1.2 EPIDEMIOLOGIA ..... 6
1.1.3 IMPACTO EN LA ECONOMIA ..... 7
1.1.4 PRESENTACIÓN CLÍNICA ..... 7
1.1.5 DIAGNÓSTICO ..... 8
1.1.6 TRATAMIENTO ..... 9
1.1.7 VIROLOGÍA ..... 10
1.2 ESPECÍFICOS ..... 15
2. JUSTIFICACIÓN ..... 16
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA ..... 17
4. PREGUNTA CIENTÍFICA ..... 18
5. OBJETIVOS ..... 18
5.1 GENERAL ..... 18
5.2 ESPECÍFICOS ..... 18
6. MATERIAL Y MÉTODOS ..... 19
6.1 DISEÑO DEL ESTUDIO ..... 19
6.2 UBICACIÓN ESPACIO – TEMPORAL Y UNIVERSO DE TRABAJO ..... 19
6.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN ..... 19
6.3.1 De Inclusión: ..... 19
6.3.2 De Exclusión: ..... 19
6.3.3 De eliminación: ..... 20
6.4 ESTRATEGIA DE MUESTREO ..... 20
6.5 MARCO MUESTRAL ..... 20
6.6 CLASIFICACIÓN DE VARIABLES ..... 21
Tabla 1. Variables de población ..... 21
Tabla 2. Variables del estudio ..... 21
6.7 DEFINICIÓN DE VARIABLES ..... 23
6.8 MÉTODOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS ..... 24
6.9 TÉCNICA Y PROCEDIMIENTO ..... 24

6.9.1 EXTRACCIÓN DE DNA ..... 24
6.9.2 ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA ..... 25
6.9.3 DETECCIÓN Y TIPIFICACIÓN DEL VPH POR LA PCR ..... 25
6.9.4 ANÁLISIS DE DATOS ..... 26
6.10 LOGÍSTICA ..... 26
6.10.1 RECURSOS HUMANOS ..... 26
6.10.2 RECURSOS MATERIALES ..... 27
Expedientes clínicos ..... 27
Material bibliográfico recopilado ..... 27
Hojas de recolección de datos ..... 27
Kit de extracción de DNA ..... 27
Polimerasa comercial ..... 27
Buffer y amortiguador ..... 27
Oligonucleótidos comerciales ..... 27
Tubos de ensayo de 0.2 ml ..... 27
Termociclador ..... 27
Papelería, computadora, impresora ..... 27
6.10.3 RECURSOS FINANCIEROS ..... 27
6.11 CONSIDERACIONES ÉTICAS ..... 27
**7 RESULTADOS** ..... 28
8. DISCUSIÓN ..... 41
9. CONCLUSIONES ..... 46
10. PERSPECTIVAS DEL ESTUDIO ..... 47
11. ANEXOS ..... 48
11.1 Cronograma ..... 48
11.2 Flujograma ..... 49
11.3 Carta de consentimiento informado ..... 50
11.4 Hoja de recolección de datos. ..... 51
**12. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS** ..... 52

# 1. ANTECEDENTES

## 1.1 GENERALES

### 1.1.1 INTRODUCCIÓN

La papilomatosis respiratoria recurrente es un término utilizado para describir la infección persistente del tracto aero- digestivo por el virus del papiloma humano (VPH) tipos 6, 11, 16 y 18. Se caracteriza por la proliferación recurrente de papilomas escamosos benignos (1, 2).

Aunque los papilomas pueden presentarse en cualquier sitio del tracto respiratorio, la laringe es el sitio más común de localización, de ahí el nombre de papilomatosis laríngea recurrente. Típicamente tiene un patrón de presentación bimodal, con dos picos de presentación: uno en la edad adulta y otro en la infancia (forma juvenil). Esta última forma de presentación tiene un curso marcadamente más agresivo y con mayor tendencia a la recurrencia que la forma adulta (3). Definiéndose de acuerdo a la edad de presentación, en forma adulta cuando son mayores de 18 años, y forma juvenil en menores de 18 años (1).

El paciente más joven en debutar con la enfermedad que se ha reportado, es de un día de vida extrauterina y el de mayor edad de 84 años (2).

### 1.1.2 EPIDEMIOLOGIA

La transmisión de la PRR aún no es clara (2), se cree que ocurre de forma vertical de madre a hijo, ya sea en la vida intrauterina o al momento del nacimiento, por contacto directo en el canal del parto. En adultos la transmisión puede ocurrir durante la práctica de sexo oral, o por reactivación de una infección latente adquirida en la infancia (1).

El incremento en la prevalencia de infección cervical por VPH en las mujeres, ha sido imitado por el incremento en casos de papilomatosis respiratoria recurrente. Es difícil establecer la incidencia de papilomatosis respiratoria recurrente juvenil, en Estados Unidos se estima hasta 4.3

casos por cada 100,000 habitantes, estando asociada con mayor frecuencia a los estatus socioeconómicos bajos (3).

### 1.1.3 IMPACTO EN LA ECONOMIA

Hasta la fecha no existe cura para la papilomatosis laríngea recurrente, por lo cual el tratamiento está encaminado a prevenir el compromiso de la vía aérea superior y mejorar la función vocal mediante la preservación de estructuras laríngeas. Debido a la naturaleza infecto-proliferativa de esta patología, los pacientes afectados están expuestos a sufrir múltiples recurrencias y por lo tanto múltiples procedimientos quirúrgicos, no sólo afectando su calidad de vida, sino también teniendo un impacto económico importante tanto en la familia como en la sociedad en general.

Se estima que un paciente pediátrico requiere cerca de 20 procedimientos quirúrgicos a lo largo de su vida, la mayoría de los cuales serían necesarios en los primeros años de la infancia, con una frecuencia de hasta 4 eventos por año.

El 19% de los niños requerirá hasta un total de 40 procedimientos quirúrgicos a lo largo de su vida. El costo promedio para tratar a un paciente a lo largo de su vida en los Estados Unidos se estima entre 60,000 y 470,000 dólares (3).

Y un costo de hasta 150 millones de dólares anuales al sistema de salud de los Estados Unidos (2).

### 1.1.4 PRESENTACIÓN CLÍNICA

La presentación clínica de la PRR dependerá del sitio afectado, debido a que el principal sitio de lesión son las cuerdas vocales, el primer síntoma que aparece con más frecuencia es la disfonía, desafortunadamente en los niños más pequeños, este puede pasar desapercibido fácilmente. El segundo síntoma con más freceuncia es el estridor, inicialmente inspiratorio, y posteriormente bifásicos. Siendo el menos común la tos crónica, neumonía recurrente, disnea, disfagia o distres respiratorio agudo, especialmente en niños con infección de vía aérea superior aguda.

La historia natural de la PRR es muy variable e impredecible. La enfermedad puede remitir de forma espontánea, persistir de manera estable requiriendo únicamente tratamiento quirúrgico periódico, o puede tener un curso más agresivo, requiriendo tratamiento quirúrgico cada semana e inclusive tratamiento médico adyuvante.

Cuando la PPR se presenta a manera de distres respiratorio, secundario a obstrucción de vía aérea, se debe realizar traqueotomía generalmente.

Sin embargo se ha sugerido que la traqueotomía puede activar o contribuir a diseminar la enfermedad en el tracto respiratorio bajo; en una serie de estudios, se desarrolló papilomatosis traqueal en la mitad de los pacientes con PPR y traqueotomía (2). Es por eso que la mayoría de los autores, acuerdan que se debe evitar realizar la traqueotomía, a menos que sea absolutamente necesaria, y cuando la traqueotomía es inevitable, se debe considerar de-canular a los pacientes en cuanto la enfermedad haya sido manejada efectivamente (2).

Los niños con displasia broncopulmonar que requieren intubación endotraqueal prolongada, también presentan un riesgo elevado de diseminación de la PRR por la pérdida de continuidad de la mucosa traqueal (2).

Los sitios extra laríngeos de diseminación son en orden decreciente: cavidad oral, tráquea, bronquios y esófago. Con una incidencia de 16% en adultos y de hasta 30% en niños (2).

### 1.1.5 DIAGNÓSTICO

El diagnóstico se realiza mediante la observación directa de los papilomas en la laringe, ya sea mediante endoscopia laríngea o mediante laringoscopia directa o indirecta.

Actualmente no existe un sistema de estadificación que sea aceptado, se han propuesto varios sistemas, sin embargo han causado mayor confusión en la comunicación médico a médico y en la literatura (2).

Sin embargo una clasificación útil es la propuesta recientemente por Omland et al, clasificando como enfermedad agresiva cuando presenta diseminación distal, que haya requerido traqueotomía, 4 procedimientos quirúrgicos anualmente o más de 10 cirugías en total. Y no agresiva cuando no cumple estos criterios (1).

Histológicamente, los papilomas típicos están compuestos por muchas proyecciones, "semejantes a hojas" o digitiformes, con un núcleo fibrovascular central y un epitelio estratificado (4). Cuando los papilomas exhiben un patrón de crecimiento exofitico, tienen proyecciones en forma de coliflor. Todos los papilomas presentan una maduración tardía del epitelio, que ocasionan un engrosamiento significativo de la capa basal y la aparición de células nucleadas en las capas superficiales (5).

### 1.1.6 TRATAMIENTO

#### 1.1.6.1 CIRUGIA

Los objetivos de la cirugía son:

1. Eliminación de la obstrucción de las vías aéreas producida por la proliferación de los papilomas.
2. Mejoría de la voz y la capacidad de comunicación del paciente.

La prevención de las complicaciones relacionadas con la intervención quirúrgica que aparecen después de las múltiples operaciones necesarias para tratar las recurrencias ocasiona membranas, estenosis, fibrosis de las cuerdas vocales (6).

### 1.1.6.2 TIPOS DE CIRUGÍA

Micro laringoscopia por suspensión y extirpación con pinza de biopsia, permite la extirpación de los papilomas sin lesionar tejido macroscópicamente no comprometido, preservando la comisura anterior y posterior. La complicación más importante es el sangrado. (7)

La microlaringoscopia con exéresis con láser de CO2, se ha convertido en la técnica quirúrgica estándar, que emplea la mayoría de los cirujanos. El láser de CO2 emite energía que es absorbida por el agua intracelular, lo que permite una vaporización efectiva de las células, el tejido que rodea a las células incididas recibe escasa cantidad de calor. El haz de láser puede concentrarse en un punto de menos de 1mm. Sus desventajas se relacionan con la seguridad del personal del quirófano, el paciente y el cirujano. El láser se puede reflejar en instrumental metálico y lesionar los ojos o la piel del operador. Un error cometido durante el disparo también puede lesionar áreas del paciente que no estén protegidas por un campo húmedo que pueda absorber la energía. Además se sabe que el humo o "pluma" del láser contiene ADN viral activo y esta sería una fuente potencial de infección, por lo que es necesario emplear evacuadores del humo. Puesto que el láser produce calor, lo más importante es evitar que el tubo endotraqueal se incendie en caso de recibir un disparo inadvertido de láser. En el ambiente rico en oxígeno y de los gases anestésicos esta situación puede provocar una explosión o incendio de la vía aérea (7).

## 1.1.7 VIROLOGÍA

### 1.1.7.1 ESTRUCTURA Y CLASIFICACIÓN

El nombre de virus papiloma humano (VPH) comprende un grupo de virus de tamaño pequeño, no encapsulado, con una estructura icosaédrica y un ADN circular de doble cadena de 7,500 a 8,000 pares de bases. Estos virus pertenecen a la familia *Papillomaviridae*, género *Papilomavirus.* Son parásitos especie-específicos, ampliamente distribuidos en la naturaleza e

infectan aves, reptiles y mamíferos. Usualmente, el resultado de la infección es la formación de un crecimiento benigno, verruga, o papiloma, ubicado en cualquier lugar del cuerpo. Existe un gran interés en los VPH como causa de malignidad. Alrededor de 200 genotipos diferentes VPH han sido identificados usando técnicas moleculares, estableciendo su relación con tipos particulares de tumores, de los cuales alrededor de 40 infectan el epitelio anogenital. Estos virus se han clasificado de acuerdo a su asociación con tumores malignos o lesiones premalignas en virus de alto riesgo (AR) y bajo riesgo (BR). Dentro de los de alto riesgo los más prevalentes son los tipos 16, 18 y 31; dentro del grupo de bajo riesgo los más frecuentes son los tipos 6 y 11 (4).

La replicación de los virus papiloma depende del grado de diferenciación de los queratinocitos; las partículas virales maduras sólo se detectan en los núcleos de los estratos granuloso y córneo. Los efectos citopáticos que se observan en el epitelio, tales como la presencia de inclusiones intra-citoplasmáticas o nucleares, o la vacuolización peri-nuclear que caracteriza a las células coilocíticas, son secundarios a la interferencia ocasionada por el virus en la diferenciación de la célula huésped. Aún no se conoce cómo este virus tiene la capacidad de penetrar la piel intacta; se sospecha que los microtraumas facilitan su acceso a las capas más profundas de piel y mucosas (4).

El VPH, a diferencia de otros virus, no crece en cultivos celulares, de una manera que permita la realización de ensayos antivirales adecuados. Por otro lado, en contraste a los herpes virus, que codifican 72 proteínas virales, el VPH codifica sólo 9 a 10 tipos de proteínas, carece de proteasas, ADN polimerasa o de enzimas involucradas en el metabolismo de los nucleótidos. Todo esto ha impedido el desarrollo de terapias específicas contra el VPH. La organización del genoma es la misma para los diferentes tipos de VPH y consiste en tres regiones:

• E (*early*-temprana*)*: contiene genes para la codificación de proteínas reguladoras, transformadoras y replicadoras.

• L (*late*-tardía): contiene genes para la codificación de proteínas estructurales de la cápside.

• Regiones no codificantes: Contiene sitios de unión a factores de transcripción celulares y a proteínas virales que regularán la replicación del genoma viral y/o la expresión delos genes virales

La clasificación vigente del VPH se basa en forma exclusiva en la caracterización del genoma; se considera que se trata de un nuevo tipo si la región L1 –la parte menos variable del genoma del VPH- presenta una identidad de secuencia menor de 90% con otros tipos conocidos de VPH. Cuando la homología se sitúa en el rango de 90 a 98% indica un subtipo, y cuando es mayor de 98%, se considera que es una variante. Los tipos son designados por números y los subtipos con letras, siguiendo un orden cronológico con respecto a su descripción (4).

### 1.1.7.2 PATOGENIA DE LA INFECCIÓN POR VPH

El ciclo vital del VPH se inicia con la infección de la capa basal de las células epiteliales, donde el virus expresa las proteínas E1 y E2 asociadas a la replicación y transcripción del ADN viral. Las proteínas E5, E6 y E7 son capaces de inducir la proliferación de las células basales y para-basales, provocando la hiperplasia epitelial. En las capas más superficiales de la epidermis se expresan las proteínas L1 y L2 que codifican la cápside y posterior ensamblaje de las partículas virales.

La inmunidad celular y la inmunidad innata son probablemente los factores más importantes en la resistencia del huésped, lo que es sugerido por el infiltrado de células T y la necrosis celular que se observa en el sitio de regresión de las verrugas, así como la participación de las células presentadores de antígenos y la secreción de citoquinas pro-inflamatorias. El receptor celular

para el VPH parece ser una integrina del tipo α6β4, presente en la superficie de los queratinocitos de la capa basal. La respuesta innata está manifestada por la presencia de los receptores Toll (Toll-like receptors), definidos como 10 receptores de reconocimiento de patógenos existentes en las células presentadores de antígenos, activados por distintas proteínas microbianas y partículas virales, permitiendo una rápida respuesta a la infección por medio de la secreción de citoquinas pro-inflamatorias. Nuevos fármacos inmunomoduladores (imiquimod y resiquimod) son capaces de activar estos receptores. La inmunidad humoral está descrita con la presencia de anticuerpos anti-cápside del VPH, y la transferencia pasiva de inmunidad ya fue demostrada.

Las proteínas virales E6 y E7 participan en el proceso de oncogénesis. La proteína E6 de los tipos 16 y 18 de VPH tiene la capacidad de interactuar con proteínas celulares de la regulación del ciclo celular. Dentro de las proteínas que son degradadas, destaca la proteína p53, cuya misión es proteger la integridad del genoma durante el ciclo celular, impidiendo que se propaguen mutaciones a las células hijas que pueden evolucionar hacia una neoplasia. La proteína E7 coopera con la proteína E6 en la inmortalización de los queratinocitos, interactuando con proteínas reguladoras del crecimiento celular como p107 y p130, relacionadas con el gen pRB, ciclina A y los factores de transcripción de la familia AP1 (4).

### 1.1.7.3 DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR VPH

Entre los métodos que se han desarrollado para el diagnóstico de las infecciones por VPH destacan:

• Ensayo con base en la reacción de polimerasa en cadena *(PCR-based assay*- Amplicor VPH;

Roche Diagnostic, Basel, Switzerland), disponible actualmente en Europa. Identifica a 30 genotipos, incluyendo 13 de alto riesgo u oncogénicos.

• Reacción de polimerasa en cadena y ADN/ARN viral mediante la prueba de captura de híbridos 2 (Hybrid capture® 2-HC2; Digene, Gathesburg, MD, E.U.A.). Prueba rápida en lote (menos de 2 horas) para detectar por lo menos 13 genotipos oncogénicos (4).

## 1.2 ESPECÍFICOS

Después de una larga y detallada búsqueda en Pubmed, se encontraron dos estudios similares en el contexto de la infección del VPH en papilomatosis laríngea recurrente.

En 1988 G. Corbitt et al, en el laboratorio viral regional del norte de Manchester, en el departamento de microbiología del laboratorio de Paterson y el departamento de otorrinolaringología del hospital Christie, Manchester, se tomaron especímenes para biopsia de 14 pacientes, tratados de papilomatosis laríngea, y fueron procesadas con técnicas dot blot y southern transfer, demostrando que 10 casos eran portadores del genoma de VPH tipo 6, 3 casos fueron portadores del tipo de VPH 11, y en un caso no se demostró genoma de VPH (8).

En un estudio llevado a cabo de enero de 2010 a diciembre del 2012 en el servicio de otorrinolaringología del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre del ISSSTE por García et al., se analizó el genotipo del VPH en un grupo de 35 varones adultos con un diagnóstico de papilomatosis laríngea recurrente. Todas las muestras eran VPH positivas, siendo el HPV-6 y el HPV-11 los más frecuentes. El VPH-16 estaba presente en un solo paciente. El genotipo VPH-6 fue el más común (80%) (9).

# 2. JUSTIFICACIÓN

Sin duda, las neoplasias son una patología que cada vez adquiere mayor importancia en nuestro medio, ya sean de naturaleza benigna o maligna, por la repercusión tan grande que tienen sobre los pacientes, desde una mala calidad de vida hasta provocar la muerte, en el peor de los casos.

Una de las causas de ciertos tipos de cáncer que ha cobrado mucha importancia actualmente es la infección con ciertos tipos del virus del papiloma humano, ya que estos se presentan cada vez con mayor frecuencia, y además, se asocian con progresión de lesiones benignas a malignas.

La papilomatosis laríngea se ha caracterizado por ser una neoplasia de origen benigno, sin embargo, su etiología asociada con el virus del papiloma humano, le confiera la capacidad de malignización de acuerdo al tipo de VPH.

Es por lo anterior que es útil la investigación acerca de los genotipos de VPH que se asociación a dicha patología en la población del servicio de ORL del HES Puebla además, no hay artículos en México sobre la tipificación del VPH, en papilomatosis laríngea, por lo que es necesario realizar más estudios acerca del tema.

# 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En nuestro país no contamos con los estudios suficientes que nos permitan conocer más profundamente esta patología, haciéndose aún más difícil su investigación.

La papilomatosis laríngea cada vez cobra mayor importancia por el aumento en su incidencia, además de que tiende a la recidiva, por lo que es necesario investigar más acerca de esta neoplasia.

Es importante recordar además la importancia de las patologías de carácter infeccioso en nuestro país, reportándose la infección por virus del papiloma humano como una de las infecciones más frecuentes, cobrando de esta manera una enorme relevancia por ser una de las causas principales de desarrollo de cáncer en nuestro medio.

# 4. PREGUNTA CIENTÍFICA

¿Cuáles son los genotipos del virus del papiloma humano relacionado con la papilomatosis laríngea recurrente en la población del CMN MAC?

# 5. OBJETIVOS

## 5.1 GENERAL

Tipificar los genotipos del virus del papiloma humano en los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente.

## 5.2 ESPECÍFICOS

Determinar si algún genotipo de VPH se asocia con recidiva de la papilomatosis laríngea.

Identificar la prevalencia de los factores de riesgo para el desarrollo de papilomatosis laríngea.

Identificar los factores de riesgo asociados con la recidiva de la enfermedad.

# 6. MATERIAL Y MÉTODOS

## 6.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Tipo de estudio: Descriptivo

Características del estudio:

- Observacional
- Transversal
- Ambispectivo
- Ambilectivo
- Unicéntrico

## 6.2 UBICACIÓN ESPACIO – TEMPORAL Y UNIVERSO DE TRABAJO

El presente estudio se llevó a cabo en el servicio de Otorrinolaringología del Hospital de Especialidades de Puebla del Centro Médico Nacional Gral. De División "Manuel Ávila Camacho", UMAE Puebla en el periodo de tiempo comprendido de julio del 2015 a julio del 2017 en pacientes con papilomatosis laríngea recurrente, sometidos a toma de biopsia o resección total.

## 6.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN

### 6.3.1 De Inclusión:

Pacientes con diagnóstico de papilomatosis laríngea, confirmado histopatológicamente, en el periodo comprendido de julio del 2015 a julio del 2017.

Pacientes de cualquier sexo

Pacientes mayores a 18 años

### 6.3.2 De Exclusión:

Pacientes con diagnóstico de papilomatosis laríngea antes de julio del 2015.

Pacientes en los que se haya descartado el diagnóstico de papilomatosis laríngea a través del análisis histopatológico

Pacientes con expedientes incompletos

Pacientes menores a 18 años

### 6.3.3 De eliminación:

Pacientes de los que no se encontraron los bloques de parafina en el servicio de patología.

## 6.4 ESTRATEGIA DE MUESTREO

El tipo de muestreo fue no probabilístico, ya que no intervino el azar para la selección de la muestra; los pacientes fueron elegidos de manera consecutiva uno tras otro sin ceguedad dado que la población de pacientes con papilomatosis laríngea es muy pequeña. Estando la muestra constituida por 50 pacientes

## 6.5 MARCO MUESTRAL

Población fuente: En este estudio participaron los pacientes derechohabientes del Instituto Mexicano del Seguro Social, en el Centro Médico Nacional General de División Manuel Ávila Camacho, Puebla, en el periodo comprendido de julio del 2015 a julio del 2017.

Población elegible: Para realizar este estudio se eligieron a los pacientes del Centro Médico Nacional General de División Manuel Ávila Camacho, con diagnóstico de papilomatosis laríngea, con confirmación histopatológica, durante el periodo de julio del 2015 a julio del 2017.

## 6.6 CLASIFICACIÓN DE VARIABLES

**Tabla 1. Variables de población**

| VARIABLE | TIPO | ESCALA | UNIDAD DE MEDICIÓN | EQUIPO |
|---|---|---|---|---|
| Género | Cualitativa | Nominal<br>Binaria | Femenino<br>Masculino | Evaluador |
| Edad | Cuantitativa | Discreta | Años | Evaluador |

**Tabla 2. Variables del estudio**

| **VARIABLE** | **TIPO** | **ESCALA** | **UNIDAD DE MEDICIÓN** | **EQUIPO** |
|---|---|---|---|---|
| Virus del Papiloma Humano en biopsia | Cualitativa | Nominal binaria | Presente<br>Ausente | Prueba de reacción en cadena de la polimerasa |
| Genotipo de Virus de papiloma humano | Cualitativa | Nominal<br>No binaria | Presente o ausente para: Tipo 6<br>Tipo 11<br>Tipo 16<br>Tipo 18 | Prueba específica de reacción en cadena de la polimerasas |

**Tabla 3. Variables confusoras**

| VARIABLE | TIPO | ESCALA | UNIDAD DE MEDICIÓN | EQUIPO |
|---|---|---|---|---|
| Tiempo de evolución | Cuantitativa | Discreta | Años | Evaluador |
| Diabetes mellitus | Cualitativa | Nominal<br>Binaria | Presente<br>Ausente | Evaluador |
| Tabaquismo | Cualitativa | Nominal | Presente | Evaluador |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Binaria | Ausente | |
| Modo de nacimiento | Cualitativa | Nominal Binaria | Vaginal Cesárea | Evaluador |
| Cuadro clínico | Cualitativa | Nominal No Binaria | Ronquera Estridor Dificultad respiratoria | Evaluador |
| Número de intervenciones previas | Cuantitativa | Discreta | 0,1,2,3, etc. | Evaluador |
| Localización | Cualitativa | Nominal No Binaria | Subglotis, glotis, supraglotis | Evaluador |
| Edad de inicio de vida sexual | Cuantitativa | Discreta | Años | Evaluador |
| Número de parejas sexuales | Cuantitativa | Discreta | 1,2,3, etc. | Evaluador |
| Práctica de sexo oral | Cualitativa | Nominal Binaria | Ausente Presente | Evaluador |

## 6.7 DEFINICIÓN DE VARIABLES

Variable independiente: Pacientes con diagnóstico de papilomatosis laríngea.

Variable dependiente: Pacientes con papilomatosis laríngea confirmado histopatológicamente, cuyas muestras fueron sometidas a PCR para tipificar genotipos de virus de papiloma humano.

a) GÉNERO: Expectativas de índole cultural respecto de los roles y comportamientos de hombres y mujeres. El término distingue los aspectos atribuidos a hombres y mujeres desde un punto de vista social de los determinados biológicamente.
b) EDAD: Definición conceptual: Cantidad de años, meses y días cumplidos a la fecha de aplicación del estudio.
c) PAPILOMATOSIS RESPIRATORIA (LARINGEA): la infección persistente del tracto Aero- digestivo (laringe) por el virus del papiloma humano (VPH) tipos 6, 11, 16 y 18. Se caracteriza por la proliferación recurrente de papilomas escamosos benignos.
d) VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO: virus de tamaño pequeño, no encapsulado, con una estructura icosaédrica y un genoma de ADN circular de doble de 7,500 a 8,000 pares de bases. Estos virus pertenecen a la familia de los *Papillomaviridae* y género Papilomavirus.
e) GENOTIPO DE VPH: Categoría en la que se clasifica al virus del papiloma humano según la identidad de secuencia del gen L1.
f) TIEMPO DE EVOLUCIÓN: periodo de tiempo transcurrido desde el momento en realizar el diagnostico por primera vez.
g) DIABETES MELLITUS: Conjunto de trastornos metabólicos, cuya característica común principal es la presencia de concentraciones elevadas de glucosa en la sangre de manera persistente o crónica. Su presencia se asocia a inmunosupresión
h) CUADRO CLÍNICO: Lista de todos los síntomas y signos clínicos del paciente.

i) NÚMERO DE INTERVENCIONES PREVIAS: Intervenciones quirúrgicas realizadas desde el momento del diagnóstico.

j) LOCALIZACIÓN: Región anatómica donde se localiza la lesión papilomatosa en el tracto respiratorio.

k) EDAD DE INICIO DE VIDA SEXUAL: Edad a la que se tiene la primera relación sexual.

l) NÚMERO DE PAREJAS SEXUALES: Parejas con las que el paciente tuvo relaciones sexuales.

m) PRÁCTICA DE SEXO ORAL: Contacto oro-genital.

## 6.8 MÉTODOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Se llenaron las hojas de recolección de datos.

## 6.9 TÉCNICA Y PROCEDIMIENTO

Se identificaron a los pacientes con papilomatosis laríngea confirmado histopatológicamente a través del análisis de biopsia de la tumoración laríngea, y se realizó a estas muestras análisis de reacción en cadena de la polimerasa, para identificación del virus del papiloma humano, y las que resultaron positivas para dicho virus, se prosiguió a tipificar el genotipo utilizando iniciadores específicos para VPH 16, -18, -6 y -11.

### 6.9.1 EXTRACCIÓN DE DNA

La extracción del DNA se hizo a partir de las biopsias empleando el kit de DNeasy Blood & Tissue (Qiagen) siguiendo las recomendaciones de la casa comercial, este kit permite la disrupción del tejido empleando la enzima proteinasa K. El DNA extraído se almacenó a -20oC hasta su uso.

### 6.9.2 ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA

La integridad del DNA extraído se verificó mediante electroforesis en geles de agarosa al 1% (solución amortiguadora TBE al 0.5 %, Bromuro de etidio 10 mg/ml).

Las muestras de DNA fueron sometidas a electroforesis durante 40 min a 80 volts, transcurrido este tiempo el gel se visualizó en un transiluminador de luz UV y fue fotografiado.

### 6.9.3 DETECCIÓN Y TIPIFICACIÓN DEL VPH POR LA PCR

Primero se realizó una reacción de PCR con los iniciadores generales (GP5 y GP6 (Tabla I) que permiten identificar la presencia del genoma viral. Como control interno se amplificó un fragmento del gen de ciclofilina, además en cada reacción de amplificación se incluyó un control negativo para excluir posibles contaminaciones.

A las muestras que resultaron positivas al VPH se les realizó la detección de los genotipos de VPH 6, 11, 16, y 18 usando oligonucleótidos iniciadores tipo específicos (Tabla I). Las reacciones de amplificación se realizaron con el kit PCR Master Mix (Promega, Madison, WI), se utilizó una concentración de 0.2 µM de cada oligonucleótido iniciador y 10.5 µl de cada muestra de DNA, toda las reacciones se llevaron a un volumen final de 25µl. Los programas de amplificación se llevaron a 40 ciclos de 95ºC por 1 minuto, 55ºC por 1 minuto (para los VPHs tipo 16 y 18) y 60ºC por 1 minuto para los VPHs tipo 6, y 11 y 72 ºC por 1 minuto. Todos los ensayos se realizaron en un termociclador PCT 200, MJ Research, Watertown, MA. Del producto de amplificación se tomaron 15 µl y se sometieron a electroforesis en un gel de agarosa al 1.5%. Los geles se tiñeron con bromuro de etidio (1µg/ml) y se observaron en un transiluminador UV y las fotos se tomaron con una cámara digital (DC290, Kodak Rochester, NY).

Tabla 1. Iniciadores que se utilizaron para detección y la identificación de los VPH. Se muestra el VPH que identifica, la secuencia sentido y antisentido del iniciador, la longitud del fragmento en pares de bases.

| VPH | Secuencia sentido | Secuencia antisentido | Longitud |
|---|---|---|---|
| VPH6 | TAGTGGGCCTATGGCTCGTC | TCCATTAGCCTCCACGGGTG | 276 pb |
| VPH11 | GGAATACATGCGCCATGTGG | CGAGCAGACGTCCGTCCTCG | 359 pb |
| VPH16 | GGTCGGTGGACCGGTCGATG | GCAATGTAGGTGTATCTCCA | 150 pb |
| VPH18 | CCTTGGACGTAAATTTTTGG | CACGCACACGCTTGGCAGGT | 216 pb |
| GP5/GP6 | TTTGTTACTGTGGTAGATAC | GAAAAATAAACTGTAAATCA | 150 pb |
| CICLOFILINA | ATGGTCAACCCCACCGTGTT | CGTGTGAAGTCACCACCC | 206 pb |

### 6.9.4 ANÁLISIS DE DATOS

Se utilizó estadística descriptiva para los datos generales de la población en estudio. Para las variables cualitativas se realizó el cálculo de porcentajes y proporciones. Para las variables cuantitativas se utilizó el cálculo de media como medida de tendencia central y la desviación estándar como medida de dispersión.

## 6.10 LOGÍSTICA

### 6.10.1 RECURSOS HUMANOS

Investigador principal

Asesores expertos

### 6.10.2 RECURSOS MATERIALES

Expedientes clínicos

Material bibliográfico recopilado

Hojas de recolección de datos

Kit de extracción de DNA

Polimerasa comercial

Buffer y amortiguador

Oligonucleótidos comerciales

Tubos de ensayo de 0.2 ml

Termociclador

Papelería, computadora, impresora

### 6.10.3 RECURSOS FINANCIEROS

Se sometió a concurso financiero para financiamiento en convocatorias internas del IMSS.

## 6.11 CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente protocolo de ajusta a los lineamientos de la ley general de salud de México promulgada en 1984, última modificación en 2014 y a la declaración de Helsinki adoptada en 1964 y modificada por séptima vez en el 2013, siendo esta ultima la versión oficial, respecto a la confidencialidad de los participantes en el estudio.

# 7 RESULTADOS

El estudio se llevó a cabo en el servicio de Otorrinolaringología del Hospital de Especialidades de Puebla del Centro Médico Nacional Gral. De División "Manuel Ávila Camacho", UMAE Puebla en el periodo de tiempo comprendido de julio del 2015 a julio del 2017 en pacientes con papilomatosis laríngea recurrente, sometidos a toma de biopsia o resección total.

## 1. Características demográficas de los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente

Las variables de población incluidas en el estudio fueron: género y edad

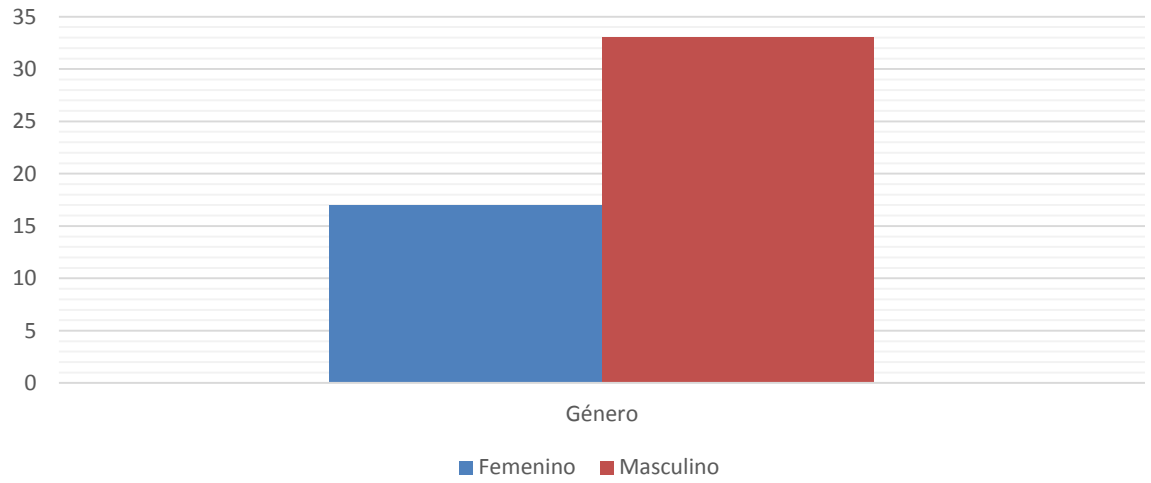
### *1.1 Género de los pacientes*

En la población incluida en el estudio encontramos un mayor porcentaje de hombres con papilomatosis laríngea (66%) (Cuadro 1 y Gráfica 1). Nos interesó evaluar la frecuencia de los genotipos virales en relación al género.

Cuadro 1: Género de los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente

| Población general | Frecuencia | Proporción | Porcentaje | Razón | Tasa | Error muestral | IC 95% |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Femenino | 17 | 0.34 | 34.00 | 0.5 | 50 | 6.70 | 34±13.13 |
| Masculino | 33 | 0.66 | 66.00 | 1.9 | 19 | 6.70 | 66±13.13 |

Gráfica 1: Género de los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente



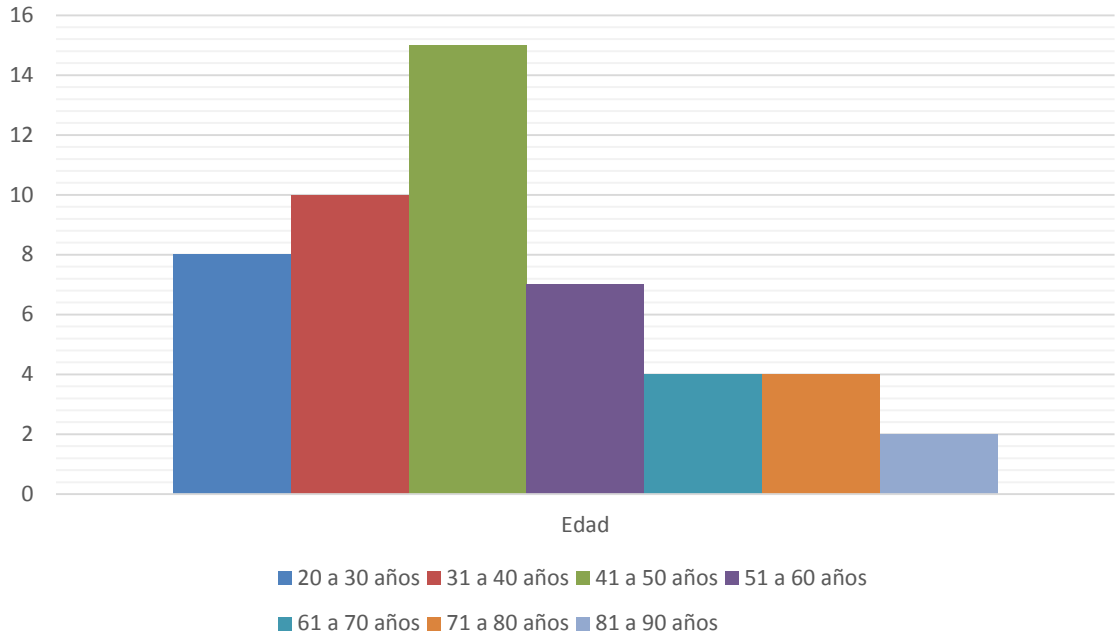
### *1.2 Edad de los pacientes*

De los 50 pacientes del estudio, el promedio de edad fue de 47.46 con una desviación estándar de 16.34. (Cuadro 2 y gráfica 2)

Cuadro 2: Edad de los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente

| Número de pacientes | Media | Mediana | Moda | Varianza | Coeficiente de variación | Desviación estándar | Error típico |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 50 | 47.46 | 45 | 41 | 267.27 | 0.63 | 16.34 | 2.31 |

Gráfica 2: Edad de los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente



## 2. Determinación del genotipo del VPH de los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente

Se realizó la determinación del genotipo de VPH en los pacientes con papilomatosis laríngea.

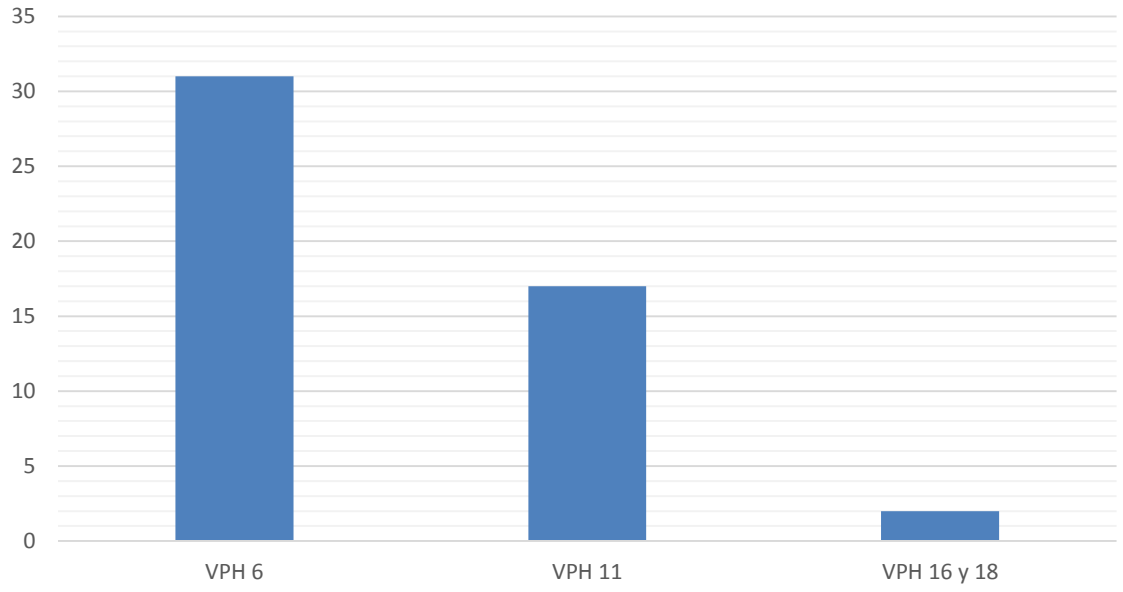
### *2.1 Genotipo de los pacientes con papilomatosis laríngea*

Se realizó un análisis para determinar el genotipo de VPH más frecuente, encontrándose al VPH-6 como el más prevalente. (Cuadro 3 y Gráfica 3)

Cuadro 3: Frecuencia de genotipos de VPH identificados en los pacientes con papilomatosis laríngea

| Genotipos de VPH | Frecuencia | Proporción | Porcentaje | Razón | Tasa | Error muestral | IC 95% |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| VPH 6 | 31 | 0.62 | 62.00 | 1.8 | 18 | 6.86 | 62±13.45 |
| VPH 11 | 17 | 0.34 | 34.00 | 8.5 | 85 | 6.70 | 34±13.13 |
| VPH 16 y 18 | 2 | 0.04 | 4.00 | 0.1 | 1 | 2.77 | 4±5.43 |

Gráfica 3: Frecuencia de genotipos de VPH identificados en los pacientes con papilomatosis laríngea



# 3. Variables clínicas de los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente

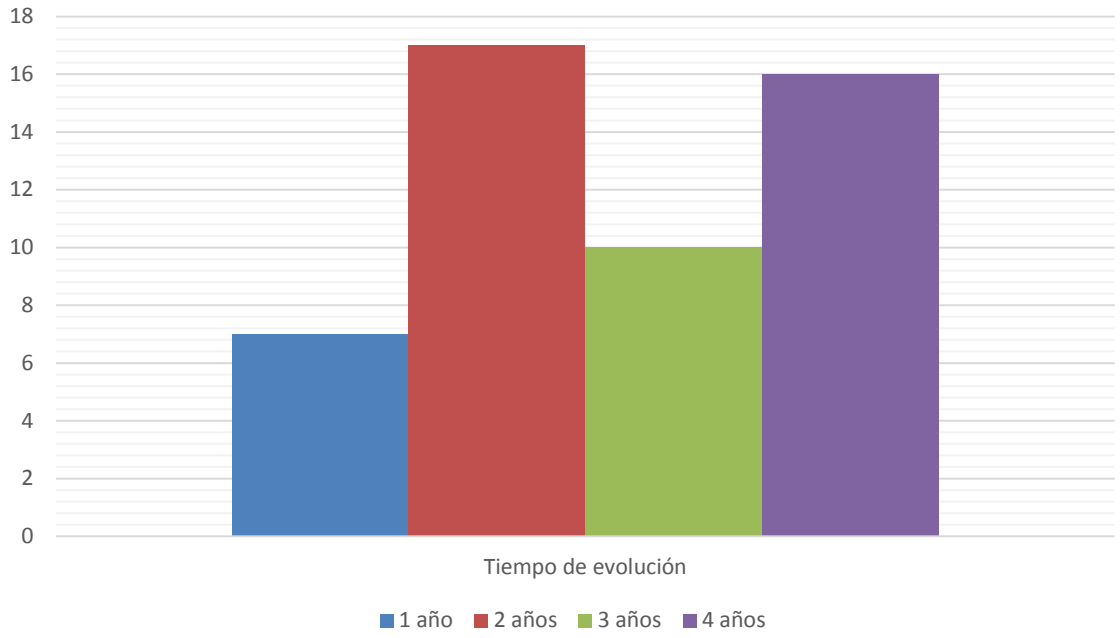
### *3.1 Tiempo de evolución de los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente*

De los 50 pacientes del estudio, la media del tiempo de evolución fue de 2.7 años con una desviación estándar de 1.07. (Cuadro 4 y gráfica 4)

Cuadro 4: Tiempo de evolución de los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente

| Número de pacientes | Media | Mediana | Moda | Varianza | Coeficiente de variación | Desviación estándar | Error típico |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 50 | 2.7 | 3 | 2 | 1.15 | -0.08 | 1.07 | 0.15 |

Gráfica 4: Tiempo de evolución de los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente



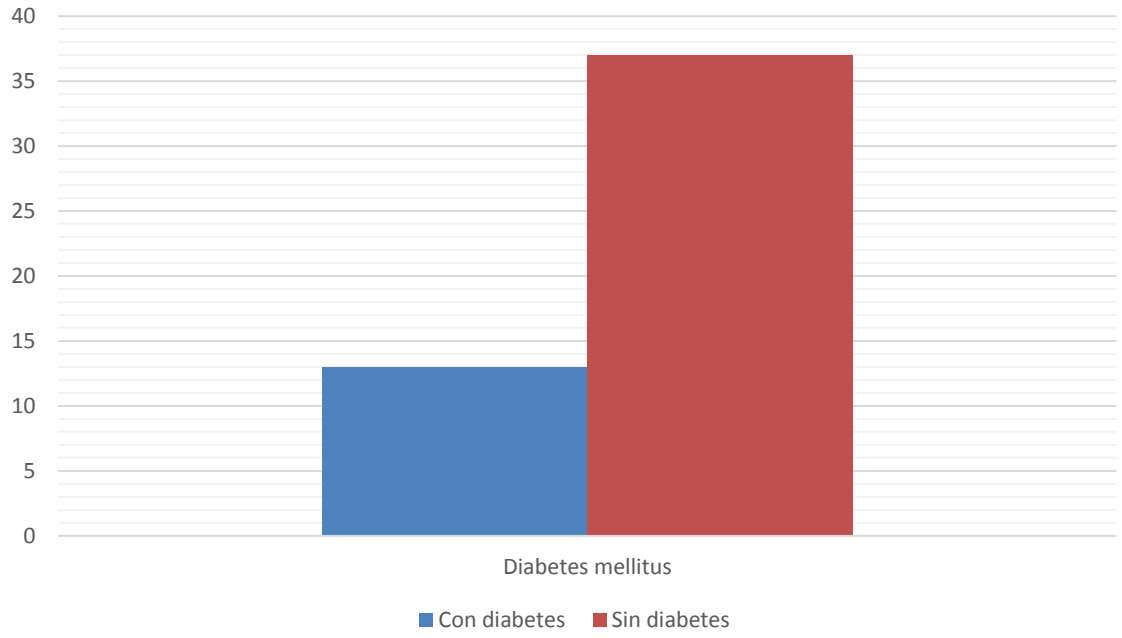
### *3.2 Diabetes mellitus en los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente*

En la población estudiada hallamos que el 26% de pacientes fueron diagnosticados con diabetes mellitus. (Cuadro 5 y Gráfica 5). Nos interesó estudiar la presencia de diabetes como un indicador de posible inmunosupresión y que podría condicionar una mayor frecuencia de papilomatosis laríngea.

Cuadro 5: Diabetes en pacientes con papilomatosis laríngea recurrente.

| | Frecuencia | Proporción | Porcentaje | Razón | Tasa | Error muestral | IC 95% |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Con diabetes | 13 | 0.26 | 26.00 | 0.4 | 4 | 6.20 | 26±12.16 |
| Sin diabetes | 37 | 0.74 | 74.00 | 2.8 | 28 | 6.20 | 74±12.16 |

Gráfica 5: Diabetes en pacientes con papilomatosis laríngea recurrente



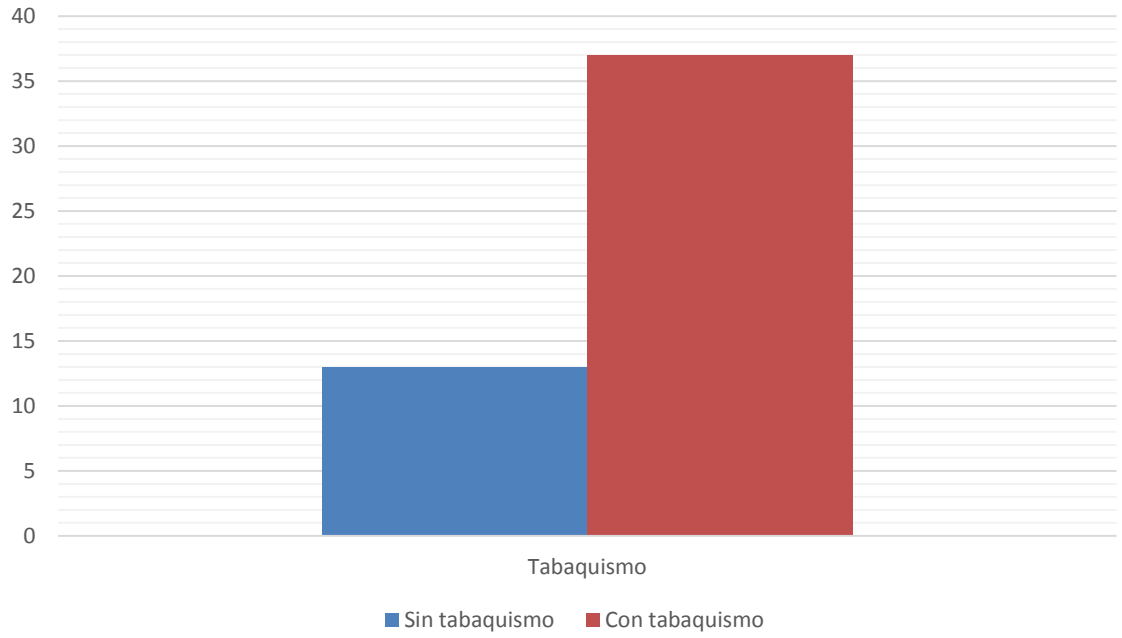
### *3.3 Tabaquismo en los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente*

Se estudió también la presencia o ausencia del hábito de tabaquismo, hallándose tabaquismo en el 74% (Cuadro 6 y gráfica 6). La importancia de evaluar el tabaquismo radicó en el hecho que el tabaco produce una alteración en la liberación de citoquinas que influyen en el crecimiento celular anormal.

Cuadro 6: Tabaquismo en pacientes con papilomatosis laríngea recurrente

| | Frecuencia | Proporción | Porcentaje | Razón | Tasa | Error muestral | IC 95% |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Con tabaquismo | 37 | 0.74 | 74.00 | 2.8 | 28 | 6.20 | 74±12.16 |
| Sin tabaquismo | 13 | 0.26 | 26.00 | 0.4 | 4 | 6.20 | 26±12.16 |

Gráfica 6: Tabaquismo en pacientes con papilomatosis laríngea recurrente



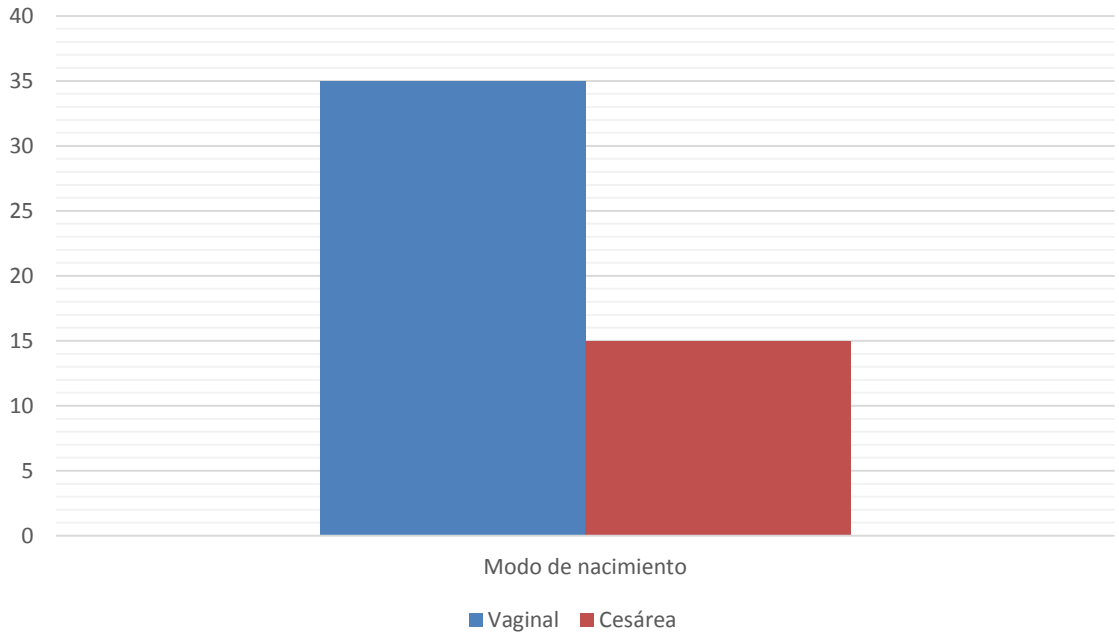
### *3.4 Modo de nacimiento en los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente*

Se estudió el modo de nacimiento, hallándose que el 70% tuvo nacimiento vaginal (Cuadro 7 y gráfica 7). La importancia de estudiar el modo de nacimiento radica en que se ha descrito que el mecanismo más asociado a la transmisión del VPH materno-fetal es a través de contacto directo en el canal de parto, esto para la forma temprana de la enfermedad.

Cuadro 7: Modo de nacimiento en pacientes con papilomatosis laríngea recurrente

| | Frecuencia | Proporción | Porcentaje | Razón | Tasa | Error muestral | IC 95% |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Vaginal | 35 | 0.70 | 70.00 | 2.3 | 23 | 6.48 | 70±12.70 |
| Cesárea | 15 | 0.30 | 30.00 | 0.4 | 4 | 6.48 | 30±12.70 |

Gráfica 7: Modo de nacimiento en pacientes con papilomatosis laríngea recurrente



### *3.5 Cuadro clínico en los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente*

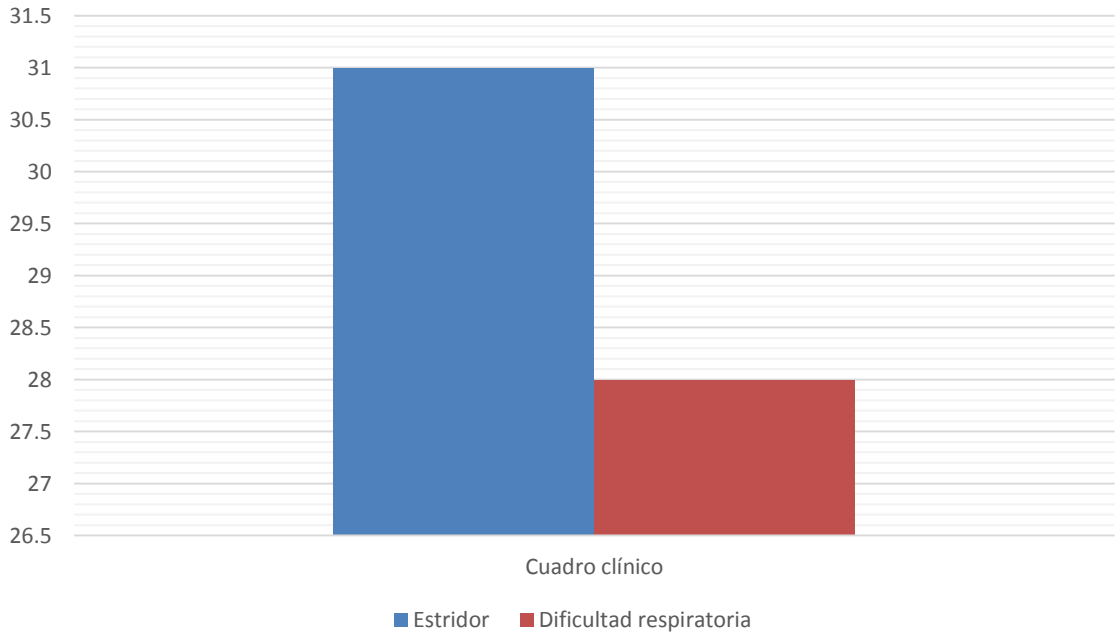
En la población estudiada se encontró presente el estridor en el 62% del grupo de estudio (Cuadro 8 y gráfica 8). Esta variable es de interés de estudio dado que indica un cuadro clínico severo debido a la obstrucción parcial de la vía aérea por el crecimiento de los papilomas.

El siguiente hallazgo clínico fue la dificultad respiratoria en el 56% (Cuadro 8 y gráfica 8). Consideramos el estudio de esta variable clínica dado que su presencia indica una enfermedad de severidad muy alta y que incluso, compromete la vida del paciente.

Cuadro 8: Cuadro clínico en pacientes con papilomatosis laríngea recurrente

| | Frecuencia | Proporción | Porcentaje | Razón | Tasa | Error muestral | IC 95% |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Estridor | 31 | 0.62 | 62.00 | 1.1 | 11 | 6.86 | 62±13.45 |
| Dificultad respiratoria | 28 | 0.56 | 56.00 | 0.9 | 9 | 7.02 | 56±13.76 |

Gráfica 8: Cuadro clínico en pacientes con papilomatosis laríngea recurrente



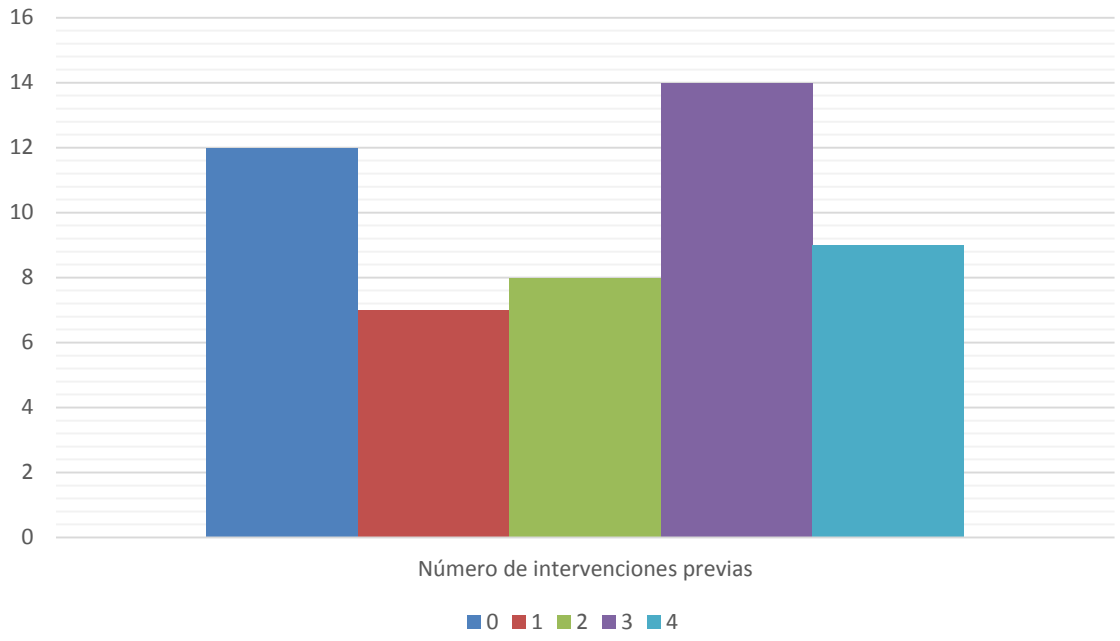
### *3.6 Número de intervenciones previas en los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente*

De los 50 pacientes del estudio, la media del número de intervenciones previas fue de 2.02 con una desviación estándar de 1.46. (Cuadro 9 y gráfica 9)

Cuadro 9: Número de intervenciones previas de los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente

| Número de pacientes | Media | Mediana | Moda | Varianza | Coeficiente de variación | Desviación estándar | Error típico |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 50 | 2.02 | 2 | 3 | 2.14 | -0.15 | 1.46 | 0.20 |

Gráfica 9: Número de intervenciones previas de los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente



### *3.7 Localización anatómica de las lesiones en los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente*

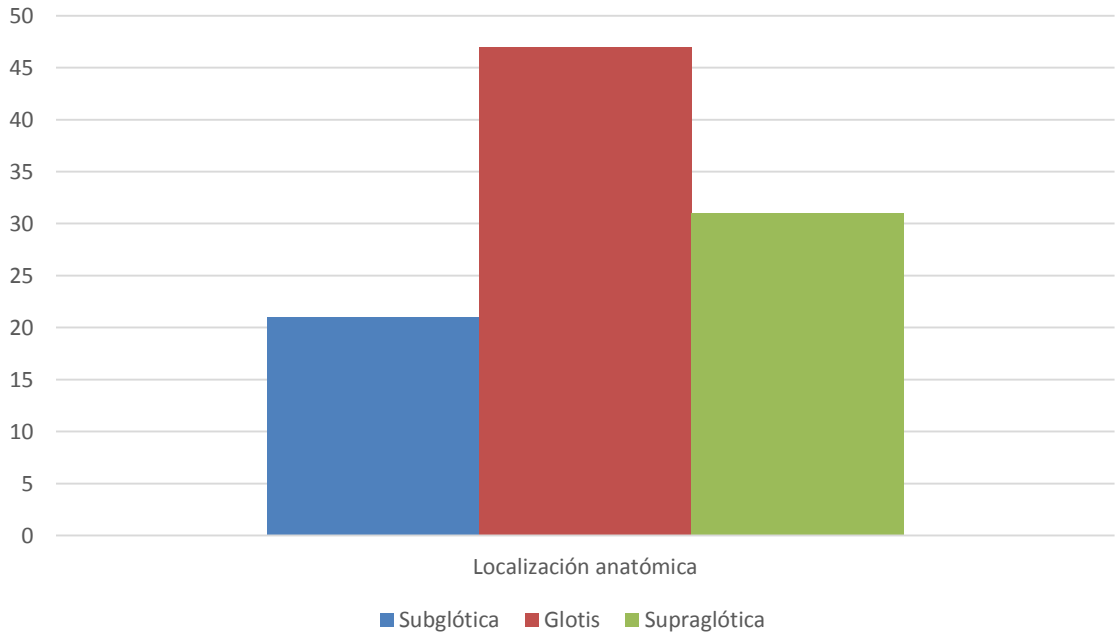
Para evaluar la localización anatómica de las lesiones, se agruparon en tres grandes grupos: lesiones subglóticas, en glotis y supraglóticas. La importancia de hacer esta división es que, al tratarse de una infección de adquisición por vía oral, una localización más baja respecto a la boca es un indicativo de mayor virulencia y mayor invasividad del virus.

La localización anatómica más frecuente fue en la glotis con el 94% (Cuadro 10 y gráfica 10). Un indicativo de invasividad media.

Cuadro 10: Localización anatómica en pacientes con papilomatosis laríngea recurrente

| | Frecuencia | Proporción | Porcentaje | Razón | Tasa | Error muestral | IC 95% |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Subglótica | 21 | 0.42 | 42.00 | 0.4 | 4 | 6.98 | 42±13.68 |
| Glotis | 47 | 0.94 | 94.00 | 2.2 | 22 | 3.36 | 94±6.58 |
| Supraglótica | 31 | 0.62 | 62.00 | 0.7 | 7 | 6.86 | 62±13.45 |

Gráfica 10: Localización anatómica en pacientes con papilomatosis laríngea recurrente



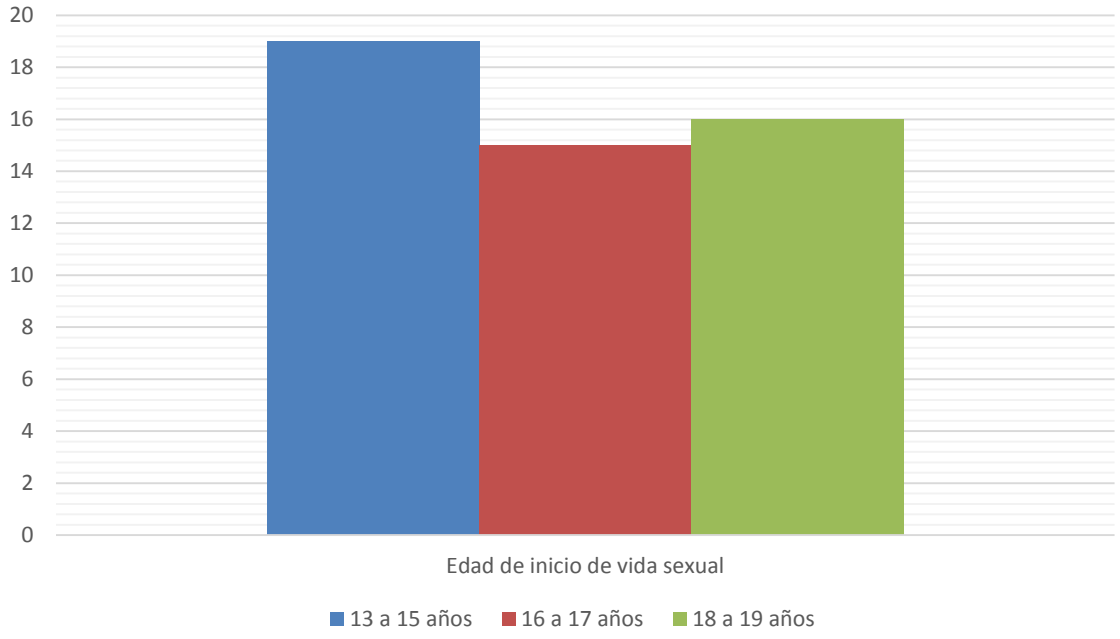
### *3.8 Edad de inicio de vida sexual en los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente*

De los 50 pacientes del estudio, la media de la edad de inicio de vida sexual fue de 16.12 años con una desviación estándar de 2.06. (Cuadro 11 y gráfica 11)

Cuadro 11: Edad de inicio de vida sexual de los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente

| Número de pacientes | Media | Mediana | Moda | Varianza | Coeficiente de variación | Desviación estándar | Error típico |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 50 | 16.12 | 17 | 17 | 4.27 | -0.26 | 2.06 | 0.29 |

Gráfica 11: Edad de inicio de vida sexual de los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente



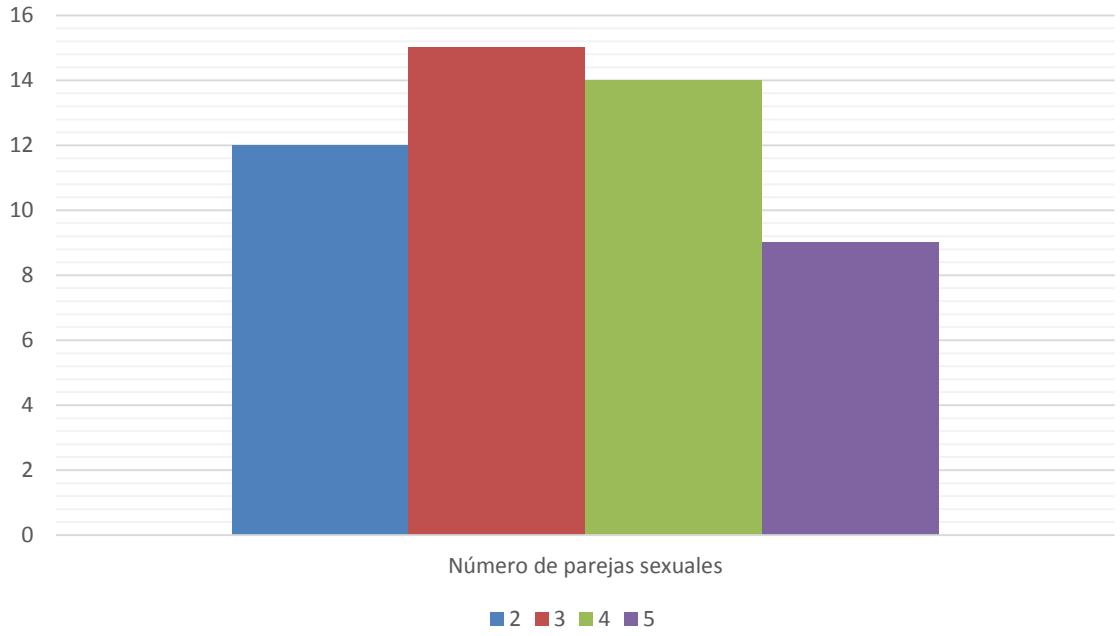
### *3.9 Número de parejas sexuales en los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente*

De los 50 pacientes del estudio, la media del número de parejas sexuales fue de 3.4 con una desviación estándar de 1.04. (Cuadro 12 y gráfica 12)

Cuadro 12: Número de parejas sexuales de los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente

| Número de pacientes | Media | Mediana | Moda | Varianza | Coeficiente de variación | Desviación estándar | Error típico |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 50 | 3.4 | 3 | 3 | 1.10 | 0.11 | 1.04 | 0.14 |

Gráfica 12: Número de parejas sexuales de los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente



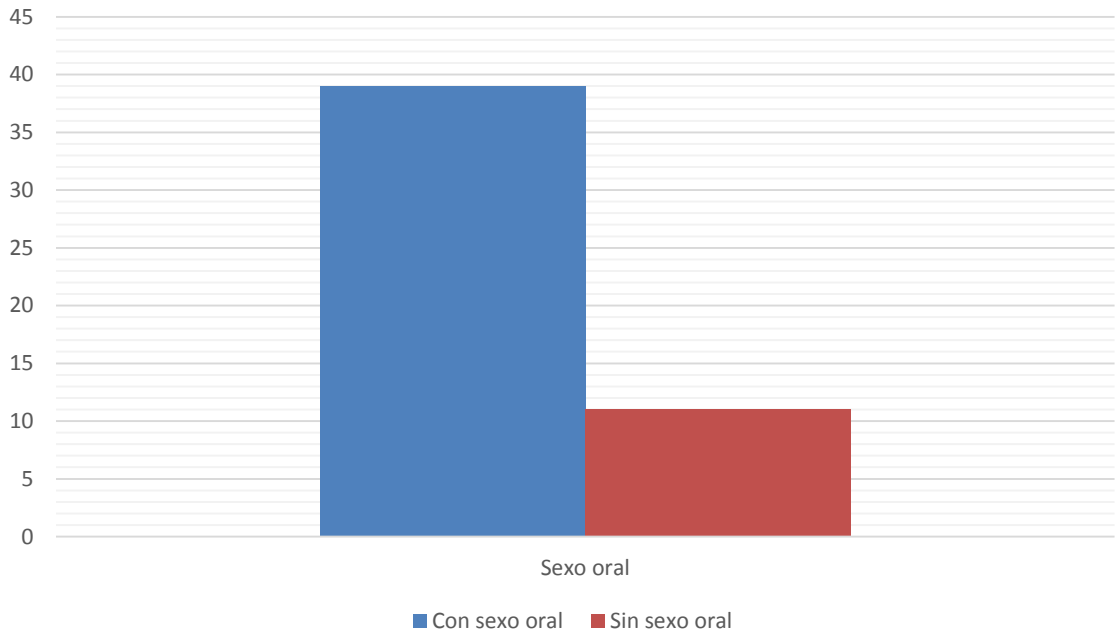
### *3.10 Práctica de sexo oral en los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente*

Se estudió el antecedente de práctica de sexo oral, describiéndose este en el 22% de pacientes con papilomatosis recurrente (Cuadro 13 y gráfica 13). Esta variable es de importancia dado que la forma tardía de papilomatosis laríngea se ha asociado con el contacto oro-genital.

Cuadro 13: Práctica de sexo oral en los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente

| | Frecuencia | Proporción | Porcentaje | Razón | Tasa | Error muestral | IC 95% |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Con sexo oral | 39 | 0.78 | 78.00 | 3.5 | 35 | 5.86 | 78±11.48 |
| Sin sexo oral | 11 | 0.22 | 22.00 | 0.3 | 3 | 5.86 | 22±11.48 |

Gráfica 13: Práctica de sexo oral en los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente



# 8. DISCUSIÓN

Los VPH que afecta a los tractos de la mucosa respiratoria pueden dividirse ampliamente en tipos de riesgo alto y bajo, basados en su capacidad para causar la transformación maligna de las células epiteliales. Los tipos de alto riesgo HPV-16 y HPV-18 se asocian más comúnmente con cánceres cervicales, así como con un subconjunto de carcinomas orofaríngeos. HPV-6 y HPV-11 representan la mayoría de los casos de papilomatosis laríngea recurrente y se consideran subtipos de bajo riesgo, típicamente no asociados con malignidad.

En papilomatosis laríngea recurrente, la infección por HPV-11 ocurre con mayor frecuencia y la enfermedad presenta un curso clínico agresivo, seguido por HPV-6. Raramente, la papilomatosis laríngea recurrente es causada por los tipos 16, 18, 31 y 33 del VPH. (10)

Posterior al análisis de los resultados hallamos que el género masculino estuvo representado con un mayor número de casos (33 pacientes) que representaron el 66%, lo que sugiere que la enfermedad puede tener mayor prevalencia en hombres que en mujeres. Con respecto a esto, algunos estudios reportan mayor frecuencia de papilomatosis laríngea en el género masculino. La mayoría de los casos (115/189, 60.8%) descritos por Cuello et al. fueron masculinos, especialmente en adultos (11). Estas diferencias de género pueden deberse a las mayores libertades en nuestra cultura en las prácticas sexuales del género masculino.

La edad media hallada fue de 47.46 años con una desviación estándar de 16.34. La menor edad de inicio se ha descrito como un predictor importante para un peor curso clínico. La edad media descrita por Tjon et al. fue de 34 años, con un rango de 21 a 44 años. (12) San Giorgi et al. la distribución de edad de presentación tiene tres picos. Estos picos de incidencia se sitúan alrededor de la edad de 7, 35 y 64 años. La mayoría de los pacientes, independientemente del sexo, adquirirán la enfermedad alrededor de la edad media (35 años). (13) Cuello et al. reportan que la edad / DE media en el diagnóstico de estos casos fue de 31.5 / 23.5 años (rango: <1-77 años) (11). Este incremento en nuestro estudio con respecto a la edad puede ser debido a que culturalmente la población en general no acude a los primeros síntomas a buscar ayuda médica, y la busca hasta que la enfermedad está avanzada.

El análisis de los resultados mostró que el VPH tipo 6 representó el 62%, el VPH tipo 11 se presentó en el 34%, y el VPH tipos 16 y 18 representaron el 4% de la muestra estudiada. Sadat et al. refieren a la papilomatosis respiratoria recurrente, como una enfermedad similar a una verruga, en la que identificaron a los tipos VPH 6 y 11 en el 80-100% de los casos. En un estudio

de Izadi et al., del 2012 en pacientes iraníes, citado por Sadat et al., reportaron que el 45% (13/29) de los pacientes presentaron infección por VPH 6 y 55% (16/29) por VPH 11. El estudio de Intakorn y Sonsuwan del 2014 en 15 pacientes tailandeses, citado por Sadat et al., mostró que en pacientes con papilomatosis respiratoria recurrente, el 40% (6/15) tenían VPH 6 y el 60% (9/15) tenían VPH 11 y no fue reportada co-infección (14). Todos los pacientes VPH positivos que fueron estudiados por Omland et al. fueron infectados por HPV 6 o HPV 11, lo que está en línea con estudios similares con la prevalencia de HPV 6 o infección por HPV 11 en el rango de 70-98% (6). Fujs et al. reportaron al VPH tipo 6 como el genotipo más prevalente (15). En un estudio realizado en México, citado por Sanchez et al., se detectó al VPH en el 100% de las muestras, el 74% mostró coinfección con 2 o más tipos virales, identificando al VPH 16 en el 83% de los casos. El VPH 6 y el VPH 11 fueron identificados en sólo el 70% de estos casos y en todos excepto una sola muestra, estos genotipos fueron identificados junto con los tipos 16, 31, 33, 35 y 39 que corresponden a genotipos de alto riesgo (16). La prevalencia reportada por Lupu et al. en la literatura científica es de alrededor de un cuarto para el VPH 6, alrededor de dos tercios para el VPH 11, y cerca de un séptimo para infecciones combinadas de VPH 6 y 11 (17). La observación hecha por Kocjan et al. de que la variante genómica del VPH 6 o VPH 11 detectada en los papilomas recurrentes permaneció genéticamente idéntica en el 95% de los pacientes con papilomatosis respiratoria recurrente investigados, sugiere que la reinfección es endógena y probablemente representa la reactivación de un virus latente presente en el epitelio laríngeo circundante clínicamente normal. El VPH presente en el tejido aparentemente normal que rodea los papilomas abiertos, así como en los tejidos más distantes de la vía aérea, puede servir como un reservorio viral responsable del crecimiento repetido de papilomas. Los desencadenantes de la reactivación viral son actualmente desconocidos. Se ha sugerido que el proceso de cicatrización de heridas después de la eliminación de los papilomas, que se caracteriza por una proliferación celular aumentada, posiblemente puede promover la replicación de virus latentes presentes en los márgenes quirúrgicos o en tejidos escamosos cercanos (18).

La diabetes mellitus estuvo presente en el 26% de los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente. Los resultados de Lee et al. no apoyan la hipótesis de que la diabetes mellitus está presente como una condición comórbida en pacientes con papilomatosis laríngea recurrente con más frecuencia de lo que cabría esperar. Además, no parece que el diagnóstico de diabetes mellitus en pacientes con papilomatosis laríngea recurrente conduzca a una enfermedad más

grave. Se necesita una mayor comprensión de las susceptibilidades individuales del paciente, ya sea a través de la desregulación inmune intrínseca o la presencia de otras enfermedades comórbidas. (19) El objetivo de este estudio no fue establecer factores de riesgo, y en su característica descriptiva, solo se limita a recoger el antecedente de diabetes, que dicho lo anterior, al ser recogida de expediente clínico no se pueden establecer los parámetros establecidos para determinarla clínicamente o si solo fue referida por el paciente; lo que es un sesgo importante en la determinación de esta variable.

El modo de nacimiento fue vaginal en el 70%. Kashima et al citado por Intakorn et al. encontraron que los pacientes con papilomatosis respiratoria recurrente tenían más probabilidades de ser el primer nacido y por parto vaginal que los pacientes de control de edad similar (20). Es difícil establecer en nuestro estudio si existe una relación entre el parto vía vaginal y la presencia de papilomatosis laríngea recurrente; aunque exista similitud con los reportes de la literatura clínica.

La dificultad respiratoria se reportó en el 56% y el estridor en el 62%. Intakorn et al describen que el signo y síntoma más común de papilomatosis respiratoria recurrente fue la ronquera (n = 12, 80%). El segundo y tercer signos y síntomas más comunes fueron trastorno de estridor y dificultad respiratoria, reportados en 10 (66.7%) y 9 pacientes (60%), respectivamente (20). La mayoría de los casos reportados por García et al. presentaron dificultad respiratoria (~62%), infecciones recurrentes de la garganta (~77%) y cambios en la voz (~91%). Con menos frecuencia algunas personas sufrían de dolor de garganta (~37%), falta de aire (~34%) y estridor (~40%) (21). De manera muy parecida, Wilcox et al. refiere que el síntoma de presentación más común de la papilomatosis laríngea recurrente es la ronquera seguida de estridor lentamente progresivo. (22)

La presentación clínica coincide con las descripciones clásicas debido a la obstrucción parcial de la vía aérea; sin embargo, no se puede establecer esta relación en el presente estudio, nuevamente por la restricción metodológica del carácter descriptivo del estudio; ya que no se describe el tiempo de evolución ni las características o síntomas asociados a la obstrucción de la vía aérea.

El número de intervenciones quirúrgicas realizadas fue de 2.02 como media y con desviación estándar de 1.46. Izadi et al refiere que los pacientes que fueron infectados con VPH-11 tuvieron intervenciones quirúrgicas más frecuentes, intervalos quirúrgicos más cortos y mayor necesidad de terapia adyuvante en comparación con el VPH-6 (23). No se pudo hallar descripciones donde

se especificara una cifra de intervenciones previas; lo que nos limita en la comparación con el estudio de Izadi et al. por lo que no se puede operacionalizar las "intervenciones quirúrgicas más frecuentes" que describe. Mas, sin embargo, el haber tenido intervenciones previas se relaciona con una enfermedad con mayor virulencia y/o un mayor tiempo de evolución.

La localización fue subglótica en el 42%, la localización en la glotis se presentó en el 94% y la localización fue supraglótica en el 62%. Izadi et al. reportaron que dos pacientes (7%) tenían sólo localización supraglótica y cinco pacientes (17%) tenían sólo afectación glótica. Sin embargo, siete pacientes (24%) tuvieron compromiso supraglótico y glótico y dos pacientes (7%) presentaron afectación tanto glótica y subglótica. Curiosamente, trece pacientes (45%) tuvieron afectación simultánea supraglótica, glótica y subglótica, y ninguno de ellos tuvo una participación meramente subglótica (23). En el estudio de Benedict et al., se observó una baja prevalencia de la enfermedad en las regiones epiglótica y subglótica. Aunque anteriormente se ha descrito que la enfermedad epiglotica es infrecuente, un estudio previo detectó enfermedad subglótica en el 21% de los pacientes adultos durante el tratamiento. Aunque especulativo, es posible que esta diferencia en la prevalencia subglótica podría estar relacionada con lesiones iatrogénicas u otras lesiones a la subglotis que ocurrieron durante o después del tratamiento. Al igual que otras regiones de la laringe, el epitelio sano de la subglotis se someterá a una metaplasia escamosa tras trauma, abrasión o exposición repetida a materiales irritantes, aumentando potencialmente la susceptibilidad locorregional a una infección prolongada por VPH. (24)

La edad media de inicio de vida sexual fue de 16.12 años con una desviación estándar de 2.06. El número de parejas sexuales tuvo una media de 3.4, con una desviación estándar de 1.04. La práctica de sexo oral fue referida por el 78%. García et al refiere algunos hábitos sexuales de pacientes afectados por papilomatosis laríngea recurrente: 85% de los individuos iniciaron actividad sexual a los ~19 años, ~54% tenían tres a cinco compañeros sexuales, ~35% informó de una a dos parejas sexuales, y sólo cinco individuos (~14%) tenían seis o más parejas sexuales. (21). Ruiz et al. refiere que el sexo oral fue practicado por el 78% de los pacientes. Se ha reportado que la segunda vía plausible de transmisión es a través del contacto sexual. Otras enfermedades asociadas con el VPH de la cabeza y el cuello, como el cáncer orofaríngeo, se han asociado con un mayor número de parejas sexuales vaginales de por vida y parejas sexuales orales de por vida y con la infección oral por VPH. (25) Las prácticas sexuales consideradas

como “promiscuas” incluyen en nuestra cultura un inicio de vida sexual activa a edad menor, un mayor número de parejas sexuales y la práctica de actividad sexual diferente a la vaginal. Estas actitudes “promiscuas” habitualmente no son reportadas por los pacientes debido a la pena que representa externar estas prácticas, por lo que se considera que hay un sub registro de estas actividades y constituye un importante sesgo para la investigación

# 9. CONCLUSIONES

1. El genotipo VPH-6 fue el mayormente hallado en nuestros pacientes, sin embargo, el VPH-11 fue el que presentó mayor invasividad, un cuadro clínico más complejo, un mayor número de intervenciones quirúrgicas y un tiempo de evolución menor; por lo tanto, en este estudio el VPH - 11 muestra una mayor virulencia respecto al VPH-6.
2. El género masculino es el mayormente afectado de papilomatosis laríngea recurrente
3. Predominó la edad de 41 a 50 años como la más afectada por papilomatosis laríngea recurrente
4. En lo que refiere al tiempo de evolución, 2 años fue lo más frecuente en los pacientes
5. La diabetes estuvo ausente en la mayoría de pacientes con papilomatosis
6. El tabaquismo estuvo presente en la mayoría de pacientes con papilomatosis
7. El modo de nacimiento vaginal fue el que más se presentó en los pacientes
8. El cuadro clínico de los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente estuvo compuesto por estridor y dificultad respiratoria
9. El número de intervenciones previas fue de en la mayor parte de pacientes con papilomatosis laríngea recurrente
10. La localización de las lesiones papilomatosas más habitual fue en glotis
11. Los pacientes con papilomatosis iniciaron su vida sexual tempranamente, de 13 a 15 años
12. El número de parejas sexuales mayormente fue de 3 en los pacientes estudiados
13. El sexo oral fue una práctica común en los pacientes con papilomatosis laríngea recurrente
14. Por lo tanto, se recomienda que ante un cuadro de sintomatología de dificultad respiratoria, e intervenciones quirúrgicas frecuentes, se debe sospechar un genotipo de VPH-11, que es más invasivo y clínicamente más agresivo.

# 10. PERSPECTIVAS DEL ESTUDIO

La tipificación del VPH es una práctica no tan extendida en el manejo del paciente con afecciones laríngeas; especialmente dado el sub registro existente, debido a un infra diagnóstico, a una falta de búsqueda de asistencia médica por parte del paciente y la falta de seguimiento.

Esto quedó de manifiesto dado el pequeño tamaño de la muestra que puede condicionar sesgos tanto de selección como la existencia de errores en los cálculos. Además, la naturaleza retrospectiva del estudio condiciona un sesgo en la recolección de datos del expediente clínico que no pueden corroborarse en la exploración del paciente por parte del investigador.

Ha sido enfatizado anteriormente que la papilomatosis laríngea es una afección que debe, de manera forzosa, ser manejada de acuerdo a un protocolo establecido y llevado a cabo desde la atención de primer contacto con el paciente.

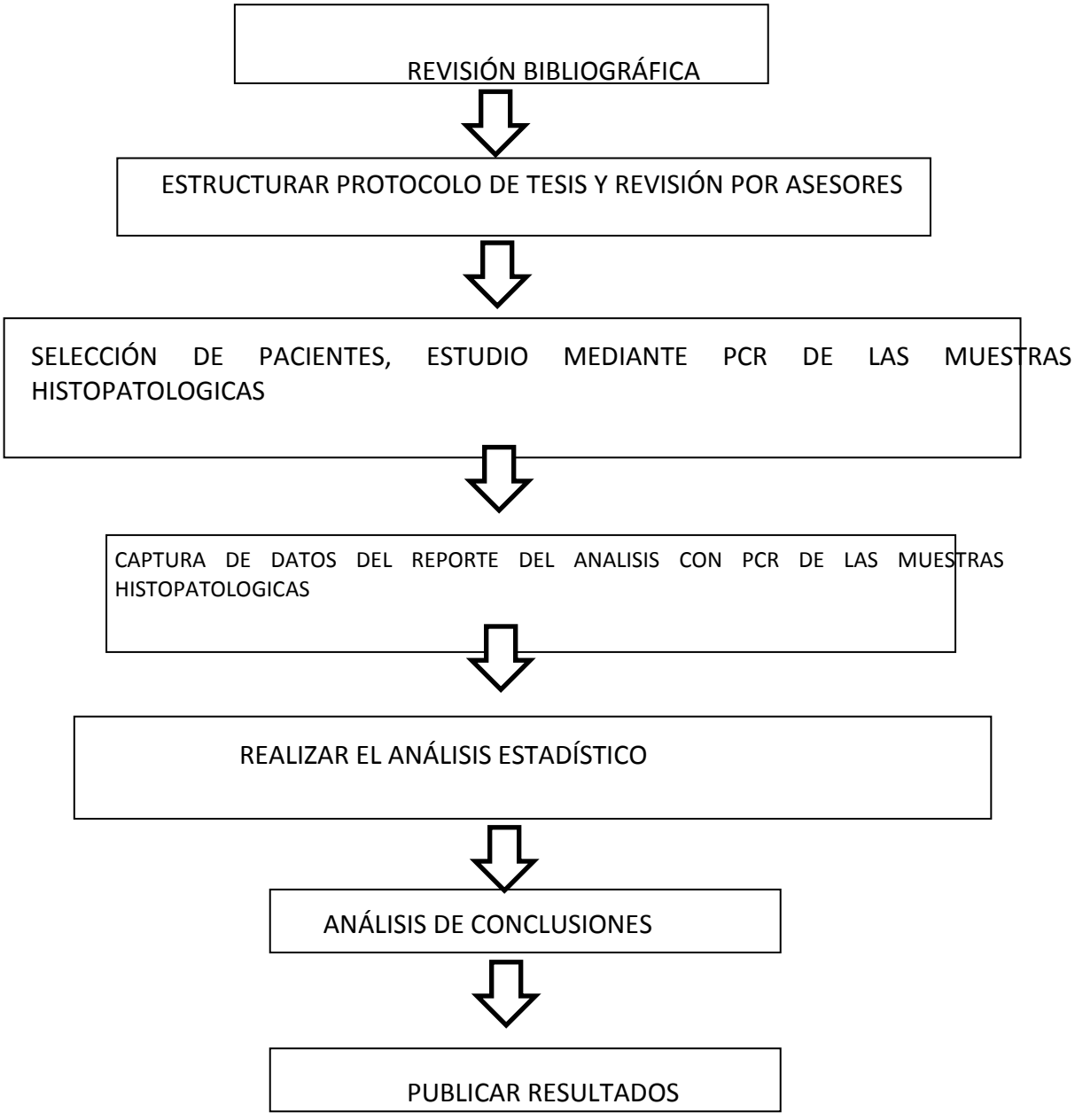
Se recomienda la tipificación rutinaria de las lesiones laríngeas, en especial de aquellos pacientes con sintomatología de obstrucción parcial de la vía aérea, con lesiones recurrentes ya que podría mostrar una evolución complicada con incremento en la virulencia del virus y un mayor número de intervenciones quirúrgicas.

# 11. ANEXOS

## 11.1 Cronograma

| | Jul a Dic 2014 | | Enero 2015 | Feb a Abril 2015 | | Mayo 2015 a Junio 2016 | | Jul – Agosto 2017 | Sept – Oct 2017 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Recopilación Bibliográfica | ⟷ | ⟷ | | | | | | | |
| Elaboración del Proyecto | | | ⟷ | ⟷ | ⟷ | | | | |
| Desarrollo de Investigación | | | | | ⟷ | | | | |
| Captura de Información | | | | | | ⟷ | ⟷ | | |
| Análisis de datos | | | | | | | ⟷ | ⟷ | |
| Redacción de conclusiones | | | | | | | | ⟷ | |
| Redacción de Tesis | | | | | | | | | ⟷ |

## 11.2 Flujograma



## 11.3 Carta de consentimiento informado.

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**
**UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN**
**Y POLITICAS DE SALUD**
**COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD**

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**
**(ADULTOS)**

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN

Nombre del estudio: _____

Patrocinador externo (si aplica): _____

Lugar y fecha: _____

Número de registro: _____

Justificación y objetivo del estudio: NO APLICA

Procedimientos: _____

Posibles riesgos y molestias: _____

Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio: _____

Información sobre resultados y alternativas de tratamiento: _____

Participación o retiro: _____

Privacidad y confidencialidad: _____

En caso de colección de material biológico (si aplica):

- ☐ No autoriza que se tome la muestra.
- ☐ Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.
- ☐ Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.

Disponibilidad de tratamiento médico en derechohabientes (si aplica): _____

Beneficios al término del estudio: _____

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a:
Investigador Responsable: _____
Colaboradores: _____

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comision.etica@imss.gob.mx

| | |
|---|---|
| _____ Nombre y firma del sujeto | _____ Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento |
| Testigo 1 | Testigo 2 |
| _____ Nombre, dirección, relación y firma | _____ Nombre, dirección, relación y firma |

Este formato constituye una guía que deberá completarse de acuerdo con las características propias de cada protocolo de investigación, sin omitir información relevante del estudio

**Clave: 2810-009-013**

## 11.4 Hoja de recolección de datos.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Folio interno: | | | |
| | Sexo: Masc - Fem | Edad: años | | |
| | | | | |
| | | | | |
| //////////////////////////////////////////////////////////////////////////////////////////////// | | | | |
| | | | | |
| PAPILOMATOSIS LARINGEA | PRESENTE | | AUSENTE | |
| VIRUS DE PAPILOMA HUMANO | PRESENTE | | AUSENTE | |
| GENOTIPO DEL VPH | 6 | | 16 | |
| | 11 | | 18 | |
| Tiempo de evolución: años | | | Diabetes: Si No | |
| Cuadro clínico: | | | | |
| Intervenciones previas: | | | | |
| Localización: Subglótica | Glotis: | | Supraglótica | |
| Edad de inicio de vida sexual: años | | | | |
| Número de parejas sexuales: | | | | |
| Práctica de sexo oral: Si No | | | | |

## 12. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS


(1) Omland T, Akre H, Lie KA, et al. Risk Factors for aggressive recurrent respiratory papillomatosis in adults and juveniles. Plos ONE; 2014.

(2) Derkay C, Wiatrak B. Recurrent Respiratory Papillomatosis: a review. The Laryngoscope 2008; 118:1236-1247.

(3) Venkatesan N, Pine H, Underbrink M. Recurrent respiratory papillomatosis. Otolaryngol Clinics of North America 2012; 45:671-694

(4) Abramson AL, Steinberg BM, Winkler B. Laryngeal papillomatosis. Clinical, histopathologic and molecular studies, Laryngoscope 1987; 97:678-685.

(5) Steinberg BM, Meade R, Kalinowski S, et al. Abnormal differentiation of human papillomavirus-induced laryngeal papillomas. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1990; 116:1167-1171.

(6) Omland T, Lie KA, Akre H, et al. Recurrent respiratory papillomatosis: HPV Genotypes and risk of high-grade laryngeal neoplasia. Plos ONE; 2014.

(7) Andrea M, Dias O, Santos A. Contact endoscopy during microlaryngeal surgery; a new technique for endoscopic examination of the larynx. Ann otol rhino laryngol 1995;104:333-9

(8) Corbitt G, Zarod AP, Arrand JR, et al. Human papillomavirus genotypes associated with laryngeal papilloma. J Clin Pathol 1998; 41:284-288.

(9) García C, Akaki M, et al. Molecular subtypification of human papillomavirus in male adult individuals with recurrent respiratory papillomatosis. Auris Nasus Larynx 2015; 42:385-389.

(10) Carifi M, Napolitano D, et al. Recurrent respiratory papillomatosis: current and future perspectives. Therapeutics and Clinical Risk Management 2015; 11:731–738

(11) Cuello G, Sánchez G, et al. Clinical characteristics and HPV type in recurrent respiratory papillomatosis in Colombia. Salud Publica Mex 2013; 55:416-420

(12) Tjon R, San Giorgi M, et al. Clinical course of recurrent respiratory papillomatosis: Comparison between aggressiveness of human papillomavirus-6 and human papillomavirus-11. Head Neck 2015; 37:1625–1632

(13) San Giorgi M, van den Heuvel E, et al. Age of onset of recurrent respiratory papillomatosis: a distribution analysis. Clin. Otolaryngol. 2015; 00:00-00

(14) Sadat N, Karbalaie M, et al. Human Papillomavirus (HPV) Genotype Distribution in Patients with Recurrent Respiratory Papillomatosis (RRP) in Iran. Asian Pac J Cancer Prev 2017; 18:1973-1976

(15) Fujs K, Kocjan B, et al. Tumor-Specific and Gender-Specific PreVaccination Distribution of Human Papillomavirus Types 6 and 11 in Anogenital Warts and Laryngeal Papillomas: A Study on 574 Tissue Specimens. Journal of Medical Virology 2012; 84:1233–1241

(16) Sanchez G, Jaramillo R, et al. Human papillomavirus genotype detection in recurrent respiratory papillomatosis (RRP) in Colombia. HEAD & NECK 2012; 10.1002/hed.22953

(17) Lupu I, Sarafoleanu C. The relationship between human papilloma virus genotyping and antiviral treatment in recurrent respiratory papillomatosis. Romanian Journal of Rhinology 2013; 3:95-102

(18) Kocjan B, Gale N, et al. Identical Human Papillomavirus (HPV) Genomic Variants Persist in Recurrent Respiratory Papillomatosis for up to 22 Years. The Journal of Infectious Diseases 2013; 207:583–587

(19) Lee C, Allen C, et al. Prevalence of Diabetes Mellitus and Its Impact on Disease Severity in Adult Recurrent Respiratory Papillomatosis. Otolaryngology—Head and Neck Surgery Foundation 2013; xx:1-5

(20) Intakorn P, Sonsuwan N. Human Papillomatosis Genotyping and Severity in Patients with Recurrent Respiratory Papillomatosis. J Med Assoc Thai 2014; 97:S136-S141

(21) García C, Akaki M, et al. Molecular subtypification of human papillomavirus in male adult individuals with recurrent respiratory papillomatosis. Auris Nasus Larynx 2015; 10.1016/j.anl.2015.03.006

(22) Wilcox L, Hull B, et al. Diagnosis and Management of Recurrent Respiratory Papillomatosis. The Pediatric Infectious Disease Journal 2014; 33:1283-1284

(23) Izadi F, Hamkar R, et al. The role of Human papilloma virus (HPV) genotyping in recurrent respiratory papillomatosis in Rasoul Akram Hospital. Medical Journal of Islamic Republic of Iran 2012; 26:90-93

(24) Benedict P, Ruiz R, et al. Laryngeal Distribution of Recurrent Respiratory Papillomatosis in a Previously Untreated Cohort. Laryngoscope 2017; 00:000–000

(25) Ruiz R, Achlatis S, et al. Risk Factors for Adult-Onset Recurrent Respiratory Papillomatosis. Laryngoscope 2014; 124:2338–2344

MÉXICO

Dirección de Prestaciones Médicas
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud
Coordinación de Investigación en Salud

IMSS

**Dictamen de Autorizado**

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud **2101** con número de registro **14 CI 21 114 059** ante COFEPRIS
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CENTRO MEDICO NACIONAL GRAL. DIV. MANUEL AVILA CAMACHO, PUEBLA

FECHA **27/05/2016**

**DRA. CLOTILDE MARGARITA ANDRADE BONILLA**

**P R E S E N T E**

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

**DETERMINACIÓN DEL GENOTIPO DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN PACIENTES ADULTOS CON PAPILOMATOSIS LARÍNGEA.**

que sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de Ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

| Núm. de Registro |
| --- |
| R-2016-2101-32 |

ATENTAMENTE

**DR.(A). EDUARDO RAMÓN MORALES HERNÁNDEZ**
Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 2101

IMSS
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL