



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
VICERRECTORIA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO
DIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO DEL ÁREA DE SALUD



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
COORDINACIÓN DE UMAES
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
CENTRO MÉDICO NACIONAL
GRAL. DE DIV. MANUEL ÁVILA CAMACHO

TÍTULO DE LA TESIS

TIPIFICACIÓN DE LOS GENOTIPOS DE VIRUS DE PAPILOMA HUMANO
EN LOS PACIENTES CON PAPILOMA NASAL INVERTIDO

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA ESPECIALIDAD EN

OTORRINOLARINGOLOGÍA Y CIRUGÍA DE CABEZA Y CUELLO

PRESENTA

DRA. GISELA GALÁN VILLEGAS

DIRECTORES

DRA. C. MARGARITA ANDRADE BONILLA
MÉDICO OTORRINOLARINGÓLOGO Y CIRUJANO DE CABEZA Y CUELLO
SUBESPECIALISTA EN NEUROOTOLOGÍA

DRA. VERÓNICA VALLEJO RUIZ
DOCTORA EN CIENCIAS DE LA VIDA Y LA SALUD

DR. JORGE MIGUEL GARCÍA SALAZAR
MÉDICO ANATOMOPATÓLOGO

DR. EDUARDO GÓMEZ CONDE
DOCTOR EN CIENCIAS

AUTORIZACIÓN DE LA TESIS

Los Doctores C. Margarita Andrade Bonilla, Verónica Vallejo Ruiz, Jorge Miguel García Salazar y Eduardo Gómez Conde, directores de la tesis titulada: Tipificación de los genotipos de Virus de papiloma humano en los pacientes con papiloma nasal invertido, autoría de la Dra. Gisela Galán Villegas, 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, Puebla a 30 de Septiembre del 2014

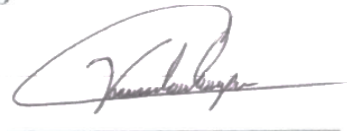
DIRECTORES DE LA TESIS

Dra. Margarita Andrade Bonilla

OTORRINOLARINGOLOGÍA
CED. PROF. 2348512
IMSS MAT. 0339795

Dra. C. Margarita Andrade Bonilla

Dr. Jorge Miguel García Salazar



Dra. Verónica Vallejo Ruiz



Dr. Eduardo Gómez Conde

DEDICATORIAS

Con mi más sincero agradecimiento a todas esas importantes personas que han hecho posible que llegara hasta éste momento de mi vida profesional:

A MIS PADRES: A TI MAMÁ, por ser en mi vida lo que eres, mi origen, mi camino y mi inspiración para seguir adelante hasta en los momentos más difíciles. Por el amor que me has demostrado corrigiendo mis faltas y celebrando mis triunfos. Por todo el esfuerzo y sacrificio para brindarme siempre apoyo incondicional en cada momento de mi vida y que me han permitido llegar hasta donde estoy. Por todo lo que significas para mí y que no podría resumir en un solo párrafo..... gracias mami. A TI PAPÁ: Aunque ya no estés, gracias por haber estado conmigo en mi formación, por preocuparte por mi futuro y por no haberme negado el apoyo para lograr mis metas profesionales; parte de lo que soy es por ti.

A TI JOSÉ, mi esposo, el amor de mi vida, has sido el impulso durante toda mi residencia y pilar para la culminación de la misma, con tu apoyo constante y amor incondicional has sido mi amigo y compañero inseparable, fuente de calma y consejo siempre, hasta en los momentos más difíciles; no sé si bastará un simple gracias por todo lo que has hecho por mí. Has sido el motor de mi lucha por seguir adelante, aun cuando todo se complica. A tu lado, cada instante de mi día, es un gran momento en mi vida.

A MIS HERMANOS: Vero, Luis y Aro, por brindarme su cariño y apoyo en todo momento, los tres han sido para mí un ejemplo de trabajo y perseverancia, gracias por preocuparse por su hermana menor como lo han hecho siempre. Aunque la distancia nos ha separado, siempre los llevo en mi corazón.

A MIS SUEGROS, JOSÉ Y MARGARITA, porque me brindaron su apoyo incondicional desde que tuve la fortuna de conocerlos y por hacerme sentir como una hija.

A MIS AMIGOS y compañeros de residencia, Ari, Viri, Ishu y Os. Gracias por ser como una segunda familia para mí, por los momentos tan divertidos e inolvidables que hemos pasado, por compartirme sus experiencias, por ser mis confidentes, por sus consejos y apoyo. Afortunadamente tuve la dicha de contar con ustedes, el mejor grupo de compañeros de residencia, y ahora, grandes amigos.

A MIS MAESTROS, que me han orientado, apoyado y corregido en mi labor profesional con interés y entrega. Creo que no podré pagarles con nada todas sus enseñanzas y todo el tiempo que me dedicaron.

A MIS DIRECTORES DE TESIS, que se tomaron el tiempo para guiarme y por las facilidades que me otorgaron para la realización de esta tesis, sin su apoyo hubiera sido imposible.

TIPIFICACIÓN DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN PACIENTES CON PAPILOMA NASAL INVERTIDO

Galán Villegas Gisela^{1*}, Andrade Bonilla C. Margarita^{1*}, Vallejo Ruiz Verónica², García Salazar Jorge Miguel³, Gómez Conde Eduardo⁴.

¹Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional "Gral. Div. Manuel Ávila Camacho", IMSS Puebla; Departamento de Otorrinolaringología.

²Centro de Investigación Biomédica de Oriente, IMSS, Metepec, Puebla.

³Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional "Gral. Div. Manuel Ávila Camacho", IMSS Puebla; Departamento de Anatomía Patológica.

⁴Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional "Gral. Div. Manuel Ávila Camacho", IMSS Puebla; Dirección de Educación e Investigación en Salud.

*Correspondencia: gimones_25@hotmail.com, dramaggie2001@hotmail.com

OBJETIVO: Tipificar los genotipos de virus del papiloma humano en los pacientes con Papiloma nasal invertido.

MATERIAL Y MÉTODOS: Estudio descriptivo, observacional, ambispectivo. Se tipificaron los genotipos de virus de papiloma humano (VPH) en pacientes con papiloma nasal invertido, del Hospital de Especialidades, IMSS Puebla, de Enero de 2009 a Junio de 2014, por Reacción en cadena de polimerasa. Se incluyeron pacientes con diagnóstico de papiloma nasal invertido (PNI), confirmado histopatológicamente, de cualquier edad y sexo, sometidos o no a resección. Se excluyeron pacientes en quienes se descartó PNI histopatológicamente. Se aplicó estadística descriptiva para variables cualitativas.

RESULTADOS: Se estudiaron 16 pacientes, 10 hombres (62.5%) y 6 mujeres (37.5%). La edad fue de 37 a 60 años, con promedio de 49.3. De acuerdo a la clasificación de Krause, 3 casos (18.75%) se presentaron en estadio I, 5 (31.25%) en estadio II y 8 (50%) en estadio III, en ningún caso hubo malignización. Se identificó VPH en 2 pacientes (12.5%), en 1 (6.25%) genotipo 11 y en el otro paciente el genotipo no fue tipificable.

CONCLUSIONES: Esta patología se presentó más en hombres. La edad de presentación no se relaciona con la presencia de VPH. La presencia de VPH en los casos con PNI reportada en los diferentes estudios ha sido variable; en este estudio una cuarta parte. Se demuestra nuevamente la relación que tiene el VPH con el PNI. La identificación y tipificación del VPH y sus genotipos deben ser parte del protocolo de estudio en los pacientes con papiloma nasal invertido.

ÍNDICE

1. ANTECEDENTES	
1.1 ANTECEDENTES GENERALES.....	8
1.1.1 Papiloma nasal invertido.....	8
Etiología.....	9
Sitio de origen.....	10
Presentación clínica.....	10
Diagnóstico.....	12
Tratamiento.....	15
1.1.2 Virus del papiloma humano.....	16
Estructura y clasificación.....	16
Patogenia de la infección por VPH.....	18
Diagnóstico.....	19
1.2 ANTECEDENTES ESPECÍFICOS.....	21
2. JUSTIFICACIÓN.....	23
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	24
4. PREGUNTA CIENTÍFICA.....	24
5. OBJETIVOS.....	25
5.1 OBJETIVO GENERAL.....	25
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	26
6.1. DISEÑO DEL PROYECTO.....	26
6.1.1. Tipo de estudio.....	26
6.1.2. Características de estudio.....	26
6.2. UBICACIÓN ESPACIO TEMPORAL Y UNIVERSO DE TRABAJO.....	26
6.3. ESTRATEGIA DE TRABAJO.....	27
6.4. MARCO MUESTRAL.....	27

6.4.1. Población fuente.....	27
6.4.2. Población elegible.....	27
6.5. CRITERIOS DE SELECCIÓN.....	28
6.5.1. Criterios de Inclusión.....	28
6.5.2. Criterios de Exclusión.....	28
6.5.3. Criterios de Eliminación.....	29
6.6. MÉTODOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	29
6.7. TÉCNICA Y PROCEDIMIENTO.....	29
6.8. ANÁLISIS DE DATOS.....	31
7. LOGÍSTICA.....	32
7.1. RECURSOS HUMANOS.....	32
7.2. RECURSOS MATERIALES.....	32
7.3. RECURSOS FINANCIEROS.....	32
8. CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	33
9. CLASIFICACIÓN DE VARIABLES.....	33
9.1. Variables de población.....	33
9.2. Variables del estudio.....	34
10. DEFINICIÓN DE VARIABLES.....	34
11. RESULTADOS.....	36
11.1. Datos demográficos de los pacientes con papiloma nasal invertido.....	36
11.1.1 Distribución por género de los pacientes con papiloma nasal invertido.....	36
11.1.2 Edades de los pacientes con papiloma nasal invertido....	37
11.2 Datos de estadificación de los pacientes con papiloma nasal invertido.....	38
11.3 Datos de identificación de virus de papiloma humano en los pacientes con papiloma nasal invertido.....	39

11.4 Datos de tipificación de los genotipos de virus de papiloma humano en los pacientes con papiloma nasal invertido.....	39
12. DISCUSIÓN.....	41
13. CONCLUSIONES.....	46
14. BIBLIOGRAFÍA.....	47
15. ANEXOS.....	50
15.1 Diagrama de Flujo.....	50
15.2. Hoja de recolección de datos.....	51
15.3. Carta de consentimiento informado.....	52
15.4. Cronograma de actividades.....	53

1. ANTECEDENTES

1.1 ANTECEDENTES GENERALES

PAPILOMA NASAL INVERTIDO

La Organización Mundial de la Salud define al papiloma nasal invertido como un tumor epitelial benigno, compuesto de epitelio respiratorio columnar o ciliado, bien diferenciado, teniendo diferenciación escamosa variable. Embriológicamente, el epitelio derivado de este tumor se origina de la mucosa Schneideriana nasal. Fue descrito hace aproximadamente 150 años. En 1954 fue descrito por Ward, dando el nombre de papiloma Schneideriano, en honor a Víctor Schneider, quien identificó el origen ectodérmico de la mucosa nasal en el siglo XVII. En 1938 Ringertz acuñó el término Papiloma Invertido, basado en los hallazgos histológicos, que demostraron la inversión del epitelio por debajo del estroma (1).

Los papilomas nasales invertidos son tumores de la cavidad nasal relativamente infrecuentes, ocupando aproximadamente 0.5 a 4% de todos los tumores primarios de la nariz. Tiene una incidencia de 0.75 a 1.5 por cada 100,000 individuos por año. Se ha observado una presentación más frecuente en hombres que en mujeres, con una relación de 3:1, afectando más a la raza caucásica (2). La mayoría de los pacientes son diagnosticados entre la quinta y la séptima década de la vida, observándose como edad pico aproximadamente los 53 años. Aunque se trata de una neoplasia benigna, puede ser localmente

muy agresiva, teniendo una alta posibilidad de recurrencia y un alto riesgo de asociación tanto a neoplasia malignas sincrónicas como metacrónicas.

ETIOLOGÍA

Su etiología exacta aún es incierta. Varios estudios que ha utilizado PCR han detectado el genoma del virus del papiloma humano (VPH) en aproximadamente el 86% de los casos de papiloma nasal invertido, predominando los genotipos 6, 11, 16 y 18 (2). La presencia del DNA de VPH se ha asociado a una mayor tasa de recurrencia de esta neoplasia. Algunos otros estudios han reportado asociación con virus de Epstein-Barr, sin embargo, otros la han descartado. Existen otros factores que han sido relacionados con esta neoplasia, como tabaquismo, exposición a ciertos químicos y procesos alérgicos e inflamatorios crónicos, pero su relación no ha sido demostrada.

Se ha utilizado la inmunohistoquímica para evaluar la expresión de la metaloproteínasa 2 y 9 (MMP-2 y MMP-9) en los papilomas invertidos (3). La MMP son enzimas involucradas en la remodelación tisular que deprime estructuras proteicas como la elastina y el colágeno. En pacientes con papiloma nasal invertido se ha demostrado un aumento significativo de la MMP-9 en células inflamatorias en la lámina propia adyacentes al epitelio neoplásico, sugiriendo que esas células están involucradas en la fisiopatología del papiloma invertido. También se ha analizado la expresión del factor de crecimiento del hepatocito (HGF) y su receptor, C.Met, en pacientes con

papiloma invertido, sugiriendo que estos marcadores están aumentados en relación con la proliferación de papiloma invertido (3).

La relación que existe del papiloma invertido y el carcinoma escamocelular no ha sido bien entendida hasta ahora. La actividad de proliferación con estudios de Ki-67, moléculas relacionadas con la apoptosis como la p53, Bc1, Bax y Fax, se ha encontrado aumentada en el papiloma nasal invertido, papiloma invertido con displasia, papiloma invertido con carcinoma escamocelular y carcinoma escamocelular. Se ha visto un aumento significativo del p53 en papilomas con displasia, papiloma invertido con carcinoma escamocelular y carcinoma escamocelular directamente proporcional a los índices de ki-67. La apoptosis por lo tanto está disminuida en el papiloma invertido y carcinoma escamocelular, por lo tanto, la inhibición de apoptosis podría ser un signo temprano de malignización del papiloma nasal invertido (3).

SITIO DE ORIGEN

El sitio más común donde se origina el papiloma nasal invertido es la pared lateral de la nariz y la pared medial del seno maxilar. Es menos común que se origine del seno etmoidal, esfenoidal y frontal (4). Se han reportado casos aislados del seno esfenoidal en varios estudios. Además del origen en la cavidad nasal y en los senos paranasales, también se han reportado casos cuyo origen es del saco lagrimal y el hueso temporal.

PRESENTACIÓN CLÍNICA

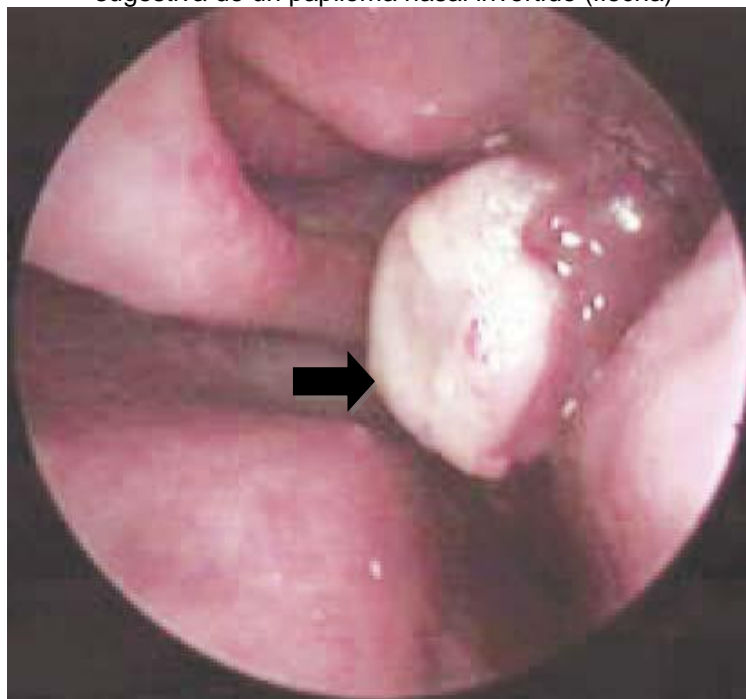
La presentación clínica del papiloma nasal invertido depende del sitio de origen y de las estructuras involucradas. Sin embargo, el síntoma más común es la obstrucción nasal unilateral y progresiva (5). Otras de las manifestaciones

clínicas son escurrimiento nasal con rastros de sangre, cefalea, dolor facial, disminución o pérdida de la olfacción, epífora y otros síntomas sugestivos de sinusitis. Se ha reportado incluso casos de extensión intracraneal.

El papiloma nasal invertido se presenta generalmente de manera unilateral, sin embargo, en aproximadamente 1 a 9% de los casos lo hace bilateralmente. Como se ha comentado antes, las manifestaciones clínicas de esta patología dependerán también de la extensión del tumor.

Durante la exploración física se puede observar una masa de coloración rosada, lisa o lobulada, con superficie papilar localizada lateralmente al cornete (Figura 1). El septum puede encontrarse desplazado hacia el lado contrario. Sin embargo, durante el examen clínico es difícil hacer el diagnóstico de papiloma nasal invertido, pudiendo ser indistinguible de otras neoplasias de la cavidad nasal

Figura 1. Vista endoscópica de fosa nasal derecha, donde se observa una tumoración rosada, lisa y de bordes bien definidos, proveniente de la pared lateral nasal, sugestiva de un papiloma nasal invertido (flecha)



DIAGNÓSTICO

El diagnóstico se realiza mediante examen físico con una adecuada rinoscopia anterior y una endoscopia. La tomografía axial computarizada de senos paranasales y resonancia magnética de cráneo son de elección en el examen diagnóstico (6). Se deben buscar intencionadamente zonas de hiperostosis, sobre todo en las paredes de los senos maxilares, ya que estas zonas señalan el lugar de origen del papiloma nasal invertido (Figura 2).

Otros de los hallazgos encontrados en los pacientes con esta patología son calcificaciones intratumorales, adelgazamiento y erosión. La imagen de una masa en la cavidad nasal, unilateral y con superficie lobulada, sugiere fuertemente papiloma nasal invertido (Figura 3). En algunos casos no será posible diferenciar al papiloma nasal invertido de otras lesiones de tejidos blandos, por lo que será necesaria una Imagen de Resonancia magnética nuclear, en la que la imagen sugerente de esta patología será una masa de aspecto cerebriforme, hiperintensa en T2. Para estadificar el tumor. Se debe realizar radiografía de tórax en pacientes con carcinoma escamocelular asociado.

Figura 2. TAC simple de Nariz y SPN corte coronal, donde se observa densidad similar a tejidos blandos en las celdillas etmoidales posteriores derechas, además de hiperostosis flecha blanca) de la pared superior de las celdillas etmoidales posteriores.

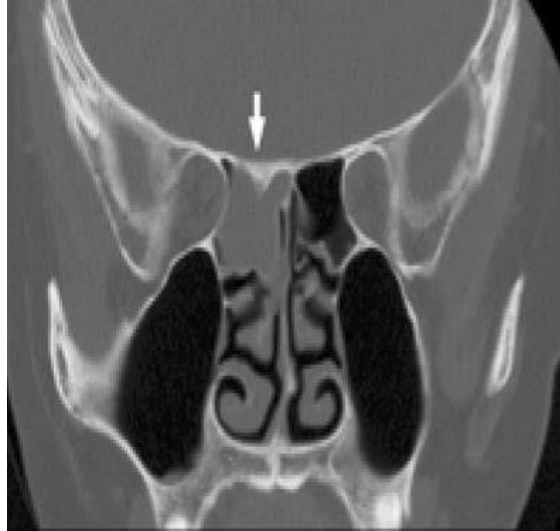


Figura 3. TAC simple de Nariz y SPN corte coronal, donde se observa masa lobulada en el seno maxilar izquierdo, que involucra fosa nasal izquierda (flechas)



La estadificación del papiloma invertido está debatida. Existen varias clasificaciones utilizadas para la estadificación de éste tumor, como la de Krause y la de Hans (Cuadro 1 y 2).

Cuadro 1. SISTEMA DE CLASIFICACIÓN DE KRAUSE (2000)

ESTADIO	DEFINICIÓN
I	Limitado a la cavidad nasal, pared lateral nasal, porción medial del seno maxilar, seno etmoidal y esfenoidal
II	Extensión a la pared lateral y medial del seno maxilar con o sin características del grupo I
III	Extensión hacia el seno frontal
IV	Extensión fuera de los senos paranasales

Cuadro 2. SISTEMA DE ESTADIFICACIÓN DE HANS (2001)

ESTADIO	DEFINICIÓN
I	Limitado a la cavidad nasal
II	Extensión a la celdillas etmoidales o porción medial y superior del seno maxilar
III	Extensión hacia lateral e inferior del seno maxilar o extensión al seno esfenoidal o frontal
IV	Extensión más allá de la cavidad nasal o paranasal y asociada a malignidad

Histológicamente se observa proliferación papilomatosa del epitelio escamoso, en lugar de producir un crecimiento exofítico, como el de los papilomas septales y cilíndricos, lo hace de manera endofítica. Se observa además extensión hacia la mucosa, es decir, esta invertida.

TRATAMIENTO

El tratamiento ideal del papiloma invertido es la escisión amplia que incluye abordaje endoscópico solo o asociado a un abordaje abierto, dependiendo de la extensión tumoral, para disminuir las probabilidades de recurrencia del tumor. Desde 1980 la cirugía endoscópica para la resección de este tumor ha sido ampliamente usada, ya que elimina la complicación de una cicatriz facial, que sería consecuencia del abordaje nasal lateral, además de tener la ventaja de que se amplía la visión de una cavidad pequeña. Cuando se trata de tumores con extensión amplia, puede ser un método adecuado para la resección. Se ha visto que la cirugía endoscópica además reduce la tasa de recurrencia, presentándose en un 3 a 17% de los casos, comparada con una tasa de recurrencia del 18 al 24% con los abordajes externos (7). Las contraindicaciones para realizar resección del papiloma nasal invertido por medio de cirugía endoscópica son: Carcinoma de células escamosas concomitante, erosión masiva de la base del cráneo, extensión intracraneal o intraorbitaria o extensión masiva con gran afección del seno frontal.

Se ha descrito una nueva técnica quirúrgica para la resección del papiloma nasal invertido extenso con afección del seno maxilar, llamada Cirugía Endoscópica Segmental y Secuencial, en la que se realiza la resección de grandes tumores en varios segmentos, usualmente 4: primero los de la cavidad nasal, después del meato medio, incluyendo las porciones del complejo osteomeatal, posteriormente el antro del seno maxilar y por último en el seno frontal o esfenoidal.

La radioterapia es usada en algunos casos de resección incompleta o en papilomas invertidos asociados a carcinoma escamocelular (8). Las dosis de radioterapia y sus técnicas son las mismas usadas para carcinomas de la cavidad nasal y senos paranasales. Los pacientes son tratados diariamente con dosis de 1.2 Gy por fracción de 64.8 y 74.4 Gy con un intervalo de interfacción mínima de 6 horas. En pacientes con enfermedad extensa o márgenes microscópicos positivos, se recomiendan 74.4 Gy sin importar que tengan carcinoma escamocelular asociado. Los ganglios son igualmente radiados cuando en presencia de un carcinoma escamocelular sincrónico.

VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

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 una doble cadena de ADN circular de 7.500 a 8.000 pares de bases. Estos virus pertenecen a la familia *Papillomaviridae*, género *Papillomavirus*. 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. Más de 100 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

pre malignas 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.

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.

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 herpesvirus, 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.

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 homología 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 la identidad 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.

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 $\alpha 6\beta 4$, 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 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.

DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR VPH

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

- Ensayo en base a 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.

1.2 ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

Desde hace algunos años, se ha realizado varios estudios que sugieren que el virus del papiloma humano juega un papel importante en el desarrollo del papiloma nasal invertido.

En 1995, en la Universidad de Michigan, se estudiaron 39 muestras histopatológicas de pacientes con papiloma nasal invertido, recolectadas en un periodo de 14 años, las cuales fueron sometidas a PCR, de las cuales 17 fueron positivas para virus del papiloma humano: 12 de ellas fueron histopatológicamente clasificadas como papiloma nasa invertido sin malignidad, y de estas, los tipos identificados fueron 6 y 11. De 7 de las muestras con displasia, 5 fueron positivas para VPH, en 3 de ellas de identificó el tipo 6, en otra el 11 y en la última el 18. 3 de las muestras evidenciaron carcinoma escamoso y todas ellas fueron positivas para VPH, siendo identificados los tipos 6, 11 y 16 (9).

En 1998 Chan Seung sometió las muestras histopatológicas de 42 pacientes con papiloma nasal invertido a reacción en cadena de la polimerasa para identificar la presencia del virus del papiloma humano, buscando específicamente los tipos 6, 11, 16, 18 y 33. De los pacientes con papiloma nasal invertido benigno, 2 fueron positivos para el tipo 11y el 6. En 5 casos el papiloma nasal invertido malignizó, y en 2 de estos casos se aisló el tipo16. Se encontró además que en 2 de los 3 pacientes con papiloma nasal invertido recidivante, al virus del papiloma humano, sin señalar qué tipos fueron aislados (10).

Se realizó otro estudio en el Centro Médico de la Universidad de Pennsylvania, Philadelphia, Estados Unidos, en el que se identificó la proteína p53 y al virus del papiloma humano en pacientes con papiloma nasal invertido. En este estudio se incluyeron las muestras histopatológicas de 30 pacientes, de los cuales en 9 se identificó la presencia de p53. El virus del papiloma humano se detectó en 6 de las muestras. En los pacientes que desarrollaron carcinoma epidermoide, 20% fueron positivos para el VPH. Se observó además que en presencia de VPH, es más común la identificación de p53 (11).

Los papilomas nasales son tumores benignos epiteliales, originados en la mucosa respiratoria nasal. Como se ha comentado antes, es una patología con predominio en el sexo masculino, entre la quinta y séptima décadas de la vida, cuya etiología se relaciona con el virus del papiloma humano tipos 11 y 6 b. Aproximadamente, entre el 10 y el 15% de los papilomas nasales sufren transformación maligna; mientras que cerca del 44% de estas lesiones recurren a pesar del tratamiento.

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.

El Papiloma nasal invertido se ha caracterizado por ser una neoplasia de origen benigno, cuya etiología exacta aún no es del todo conocida, sin embargo, se ha buscado asociación con el Virus del papiloma humano, lo que probablemente le confiera la capacidad de malignización.

Es por lo anterior que es útil la investigación acerca de la relación que guarda dicho virus con el papiloma nasal invertido, además, no hay artículos en México sobre la presencia y tipificación del VPH, relacionado con el papiloma nasal invertido, por lo que es necesario realizar más estudios acerca del tema.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El papiloma nasal invertido es una patología de la cual aún no se conoce la etiología exacta. A pesar de los grandes esfuerzos que se realizan, sólo puede postularse su asociación a la infección con ciertos tipos de virus del papiloma humano, a agentes externos o alérgicos.

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

Si bien el papiloma nasal invertido no representa una patología que se presente frecuentemente, este tumor cobra importancia debido a la capacidad de convertirse en una neoplasia de carácter maligno, 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 una de las causas principales de desarrollo de cáncer en nuestro medio.

4. PREGUNTA CIENTÍFICA

¿Cuáles son los genotipos del virus del papiloma humano relacionados con el papiloma nasal invertido?

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

- Tipificar los genotipos del virus del papiloma humano en los pacientes con papiloma nasal invertido.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Demostrar la presencia del virus del papiloma humano en los pacientes con papiloma nasal invertido
- Tipificar los genotipos de VPH asociados a la recidiva del Papiloma nasal invertido.
- Identificar los factores de riesgo asociados a la recidiva del Papiloma nasal invertido después del tratamiento quirúrgico.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

6.1.1. Tipo de estudio: Descriptivo

6.1.2 Características del estudio:

- Observacional
- Transversal
- Ambispectivo
- Ambilectivo
- Unicéntrico

6.2 UBICACIÓN ESPACIO – TEMPORAL Y UNIVERSO DE TRABAJO

El presente estudio se llevará 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 un periodo de tiempo de enero de 2009 a junio del 2014 en pacientes con papiloma nasal invertido, sometidos a toma de biopsia o resección total del tumor.

6.3 **ESTRATEGIA DE TRABAJO**

A los pacientes escogidos por conveniencia con diagnóstico de papiloma nasal invertido en el periodo de tiempo establecido en el Hospital de especialidades Puebla, se recabarán números de afiliación y se identificarán y revisarán los expedientes clínicos, previo a la resección del tumor, se tomara biopsia del tumor. Posteriormente se realizará tratamiento individualizado a cada tipo de paciente, decidiendo si se realizará resección completa o toma de biopsia incisional. Se enviará la muestra al servicio de patología para confirmación histopatológica de papiloma nasal invertido y las muestras que sean positivas, serán sometidas a PCR para identificación del virus de papiloma humano y sus serotipos. Se recopilarán los datos en las hojas de recolección.

- Se analizarán los resultados mediante estadística descriptiva, se evaluarán los resultados y se publicarán las conclusiones.

6.4 **MARCO MUESTRAL**

6.4.1 Población fuente: En este estudio podrán participar 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 enero de 2009 a junio de 2014.

6.4.2 Población elegible: Para realizar este estudio se elegirán a los pacientes del Centro Médico Nacional General de División

Manuel Ávila Camacho, con diagnóstico de Papiloma nasal invertido, con o sin tratamiento quirúrgico, durante el periodo de Enero de 2009 a Junio de 2014.

6.5 **CRITERIOS DE SELECCIÓN**

6.5.1 Criterios de Inclusión:

- Pacientes con diagnóstico de Papiloma nasal invertido, confirmado histopatológicamente, en el periodo comprendido de enero de 2009 a junio de 2014
- Pacientes de cualquier edad y sexo
- Pacientes que hayan sido sometidos o no a tratamiento quirúrgico, en el periodo comprendido de Enero de 2009 a Junio de 2014.

6.5.2 Criterios de Exclusión:

- Pacientes con diagnóstico de Papiloma nasal invertido antes de Enero de 2009
- Pacientes en los que se haya descartado el diagnóstico de Papiloma nasal invertido a través del análisis histopatológico
- Pacientes con expedientes incompletos
- Pacientes que no deseen participar

6.5.3 Criterios de eliminación:

- Pacientes que sufran complicaciones por comorbilidades preexistentes (desarrollo de cáncer nasosinusal o en otro sitio del cuerpo)
- Pacientes que cuenten con muestra insuficiente para realizar tipificación

6.6 **MÉTODOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

Llenado de hoja de recolección de datos.

6.7 **TÉCNICA Y PROCEDIMIENTO**

Se identificará a los pacientes con papiloma nasal invertido confirmado histopatológicamente a través del análisis de biopsia de la tumoración nasal, y se realizará a estas muestras análisis de reacción en cadena de la polimerasa, para identificación del virus del papiloma humano, y de las que resulten positivas para dicho virus, se tipificará el genotipo.

Extracción de DNA

La extracción del DNA se hará 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 será almacenado e -20°C hasta su uso.

Electroforesis en gel de agarosa

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

Las muestras de DNA serán sometidas a electroforesis durante 40 min a 80 volts, transcurrido este tiempo el gel será visualizado en un transiluminador de luz UV y será fotografiado.

Detección y tipificación del VPH por la PCR

Primero se realizará 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 amplificará un fragmento del gen de ciclofilina además en cada sesión de amplificación se incluirá un control negativo para excluir posible contaminaciones.

En las muestras que resulten positivas al VPH se realizará la detección de los genotipos de VPH 6, 11, 16, y 18 usando oligonucleótidos iniciadores tipo específicos (Tabla I). Las reacciones de amplificación se realizarán con el kit PCR Master Mix (Promega, Madison, WI), se utilizará una concentración de 0.2 μ M de cada oligonucleótido iniciador y 10.5 μ l de cada muestra de DNA, toda las reacciones se llevarán a un volumen final de 25 μ l. Los programas de amplificación se llevarán a 40 ciclos de 95°C por 1 minuto, 55°C por 1 minuto (para los VPHs tipo 16 y

18) y 60°C por 1 minuto para los VPHs tipo 6, y 11 y 72 °C por 1 minuto. Todos los ensayos se realizarán en un termociclador PCT 200, MJ Research, Watertown, MA. Del producto de amplificación se tomarán 15 µl y se someterán a electroforesis en un gel de agarosa al 1.5%. Los geles serán teñidos con bromuro de etidio (1µg/ml) y se observarán en un transiluminador UV y las fotos se tomarán con una cámara digital (DC290, Kodak Rochester, NY).

Tabla 1. Iniciadores que se utilizarán para 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	CCTTGGACGTAATTTTTGG	CACGCACACGCTTGGCAGGT	216 pb
GP5/GP6	TTTGTTACTGTGGTAGATAC	GAAAATAAACTGTAAATCA	150 pb
CICLOFILINA	ATGGTCAACCCACCGTGTT	CGTGTGAAGTCACCACCC	206 pb

6.8 ANÁLISIS DE DATOS

Se utilizará estadística descriptiva para los datos generales de la población en estudio. Para las variables cualitativas se realizará el cálculo de porcentajes y proporciones.

7 LOGÍSTICA

7.1 Recursos humanos

- Investigador principal
- Asesores expertos

7.2 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

7.3 Recursos financieros

- Recursos propios de investigador principal
- Recursos del CMN “Gral. de División Manuel Ávila Camacho”
Hospital de Especialidades Puebla

8 CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente protocolo de ajusta a los lineamientos de la ley general de salud de México promulgada en 1986 y al código de Helsinki de 1975 y modificado en 1989, respecto a la confidencialidad de los participantes en el estudio, por lo que se solicitará consentimiento informado por escrito y firmado

9. CLASIFICACIÓN DE VARIABLES

9.1 TABLA DE VARIABLES DE POBLACIÓN

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

9.2 TABLA DE VARIABLES DEL ESTUDIO

VARIABLE	TIPO	ESCALA	UNIDAD DE MEDICIÓN
Papiloma nasal invertido	Cualitativa	Nominal Binaria	Presente Ausente
Virus de Papiloma Humano	Cualitativa	Nominal Binaria	Presente Ausente
Genotipo de Virus de Papiloma Humano	Cualitativa	Nominal No Binaria	Tipo 6 Tipo 11 Tipo 16 Tipo 18
Localización del tumor	Cualitativa	Nominal No Binaria	Pared lateral nasal Septum Senos paranasales
Malignización del tumor	Cualitativa	Nominal Binaria	Presente Ausente

10. DEFINICIÓN DE VARIABLES

Variable independiente: Pacientes con diagnóstico de papiloma nasal invertido.

Variable dependiente: Pacientes con papiloma nasal invertido confirmado histopatológicamente, cuyas muestras sean 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) PAPILOMA NASAL INVERTIDO: Neoplasia papilomatosa nasal, que se presenta con mayor frecuencia entre la quinta y séptima década de la vida, predominando en hombres, de carácter benigno, con tendencia a la recidiva y potencial de malignización.
- d) VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO: virus de tamaño pequeño, no encapsulado, con una estructura icosaédrica y una doble cadena de ADN circular 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 similitud de secuencia del gen L1.
- f) LOCALIZACIÓN DEL TUMOR: Determinación del lugar en donde se halla el papiloma nasal invertido.
- g) MALIGNIZACIÓN DEL TUMOR: Adquisición de carácter neoplásico maligno del papiloma nasal invertido

11. RESULTADOS

11.1 DATOS DEMOGRÁFICOS DE LOS PACIENTES CON PAPILOMA NASAL INVERTIDO

11.1.1 Distribución por género de los pacientes con papiloma nasal invertido

Se estudiaron 16 pacientes, de los cuales 10 fueron hombres, representando un 62.5% del total, con una proporción de 0.62. 6 pacientes fueron mujeres, representando un 37.5%, con una proporción de 0.37 (Fig. 1).

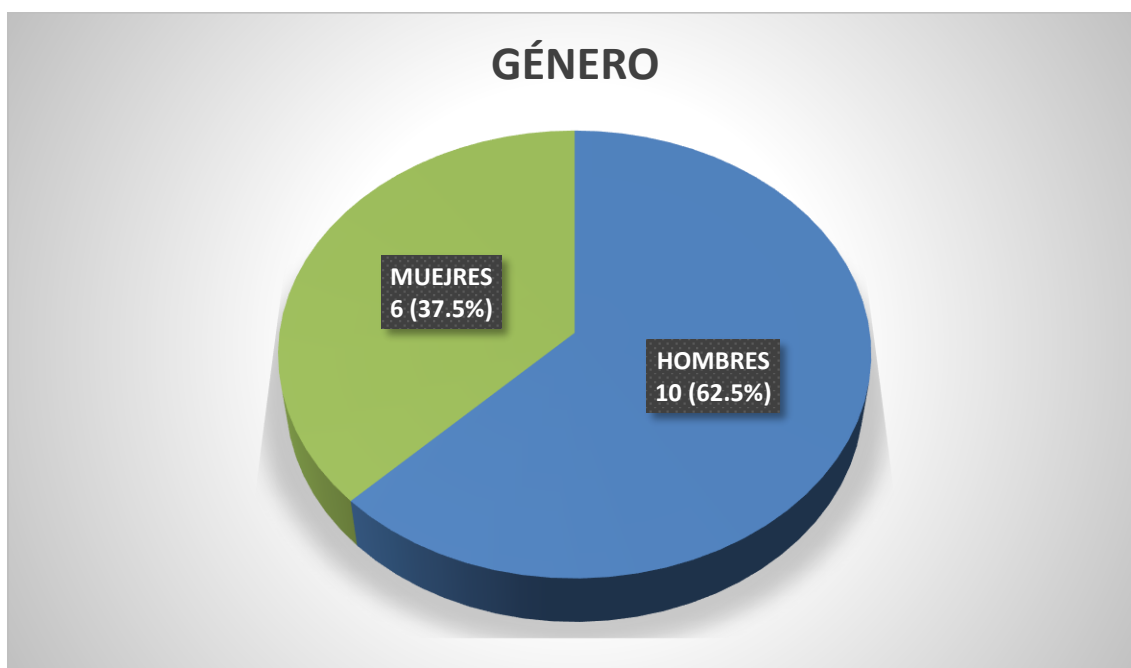


Fig. 1. Porcentaje del género de los pacientes con papiloma nasal invertido.

La razón de mujeres respecto a los hombres fue de 0.6; la razón de hombres respecto a las mujeres fue de 1.66, lo que significa que hay 0.6 mujeres por cada hombre, y viceversa, que hay 1.66 hombres por cada mujer. Si utilizamos la tasa, obtenemos 6 mujeres por cada 10 hombres.

El error muestral para el género femenino es de 12.1.

El intervalo de confianza al 95% es de 38.79<62.5<86.2

11.1.2 Edades de los pacientes con papiloma nasal invertido

La edad de los pacientes incluidos en el estudio fue desde los 37 hasta los 60 años (37, 39, 40, 42, 45, 45, 48, 51, 52, 52, 54, 54, 54, 57, 59, 60). (Tabla 1, Fig. 2)

Se encontró una edad promedio de 49.3 años. La moda fue de 54 años. La mediana fue de 51.5.

INTERVALO DE EDAD (AÑOS)	NÚMERO DE PACIENTES
35 - 39	2
40 - 44	2
45 - 49	3
50 - 54	6
55 - 59	2
60 - 64	1

Tabla 1. Edades de los pacientes con papiloma nasal invertido

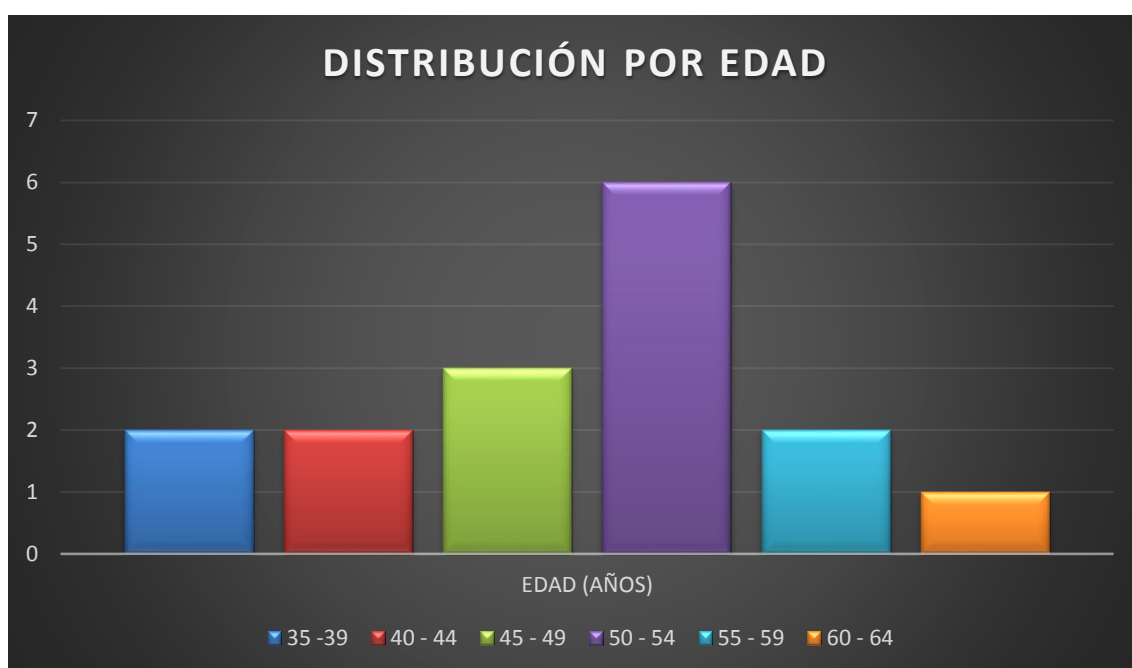


Fig. 2. Edades de los pacientes con papiloma nasal invertido

11.2 DATOS DE ESTADIFICACIÓN DE LOS PACIENTES CON

PAPILOMA NASAL INVERTIDO

De acuerdo a la clasificación de Krause, 3 pacientes se presentaron en estadio I, 5 pacientes en estadio II y 8 pacientes en estadio III. Ningún paciente se presentó en estadio IV. (Tabla 2, Fig. 3)

En cuanto a la proporción, en el estadio I se obtuvo una proporción de 0.18, en el estadio II de 0.31 y en el estadio III una proporción del 50%. Se obtuvo una razón de 0.6 entre el estadio I y II, una razón de 0.37 entre estadio I y III, en cuanto al estadio II se obtuvo una razón de 1.6 respecto al estadio I y 0.62 con el estadio III. Para el estadio III se obtuvo una razón de 2.66 con respecto al estadio I y de 1.6 respecto al estadio II.

ESTADIO	NO. DE PACIENTES	PORCENTAJE
I	3	18.75%
II	5	31.25%
III	8	50%

Tabla 2. Estadio de presentación, según la clasificación de Krause, de los pacientes con papiloma nasal invertido

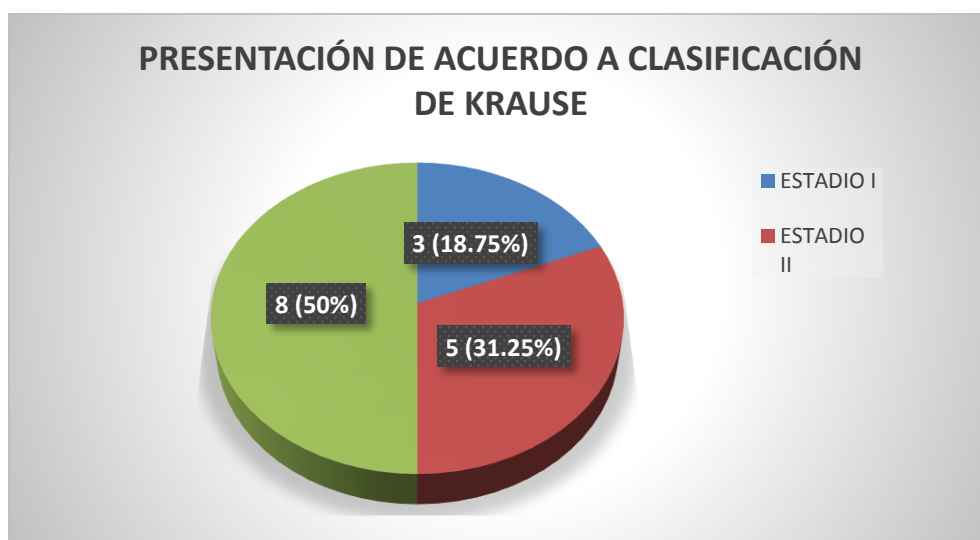


Figura 3. Estadio de presentación, según la clasificación de Krause, de los pacientes con papiloma nasal invertido

11.3 DATOS DE IDENTIFICACIÓN DE VIRUS DE PAPILOMA HUMANO EN LOS PACIENTES CON PAPILOMA NASAL INVERTIDO

En 2 pacientes se encontró la presencia de Virus de papiloma humano, representando un 12.5% con respecto al total de la muestra y una proporción del 0.12 (Fig. 4).

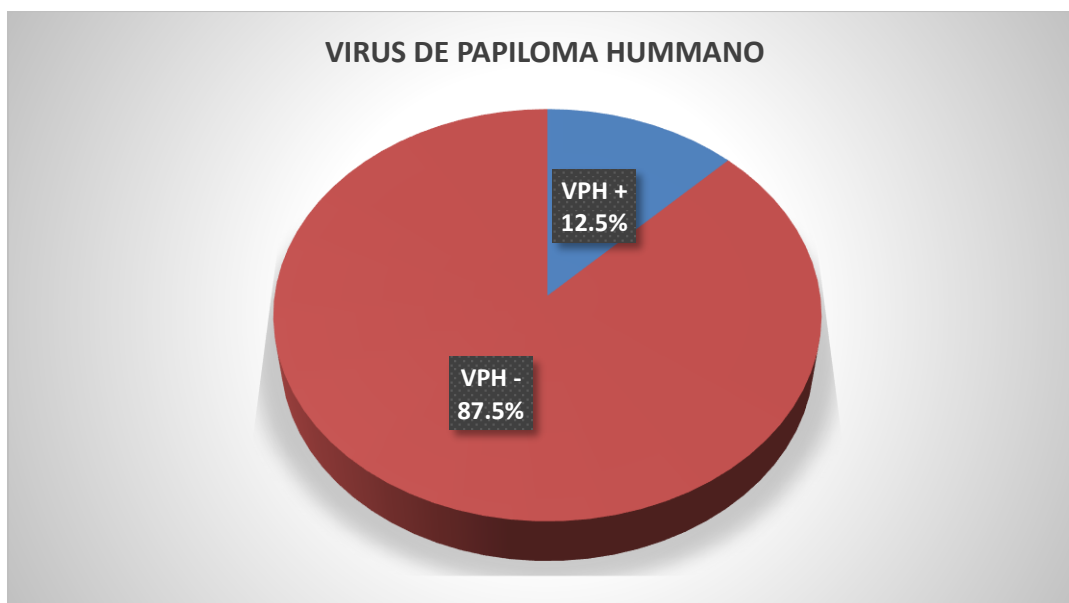


Fig. 4. Identificación de virus de papiloma humano en los pacientes con papiloma nasal invertido

11.4 DATOS DE LA TIPIFICACIÓN DE GENOTIPOS DE VIRUS DE PAPILOMA HUMANO EN LOS PACIENTES CON PAPILOMA NASAL INVERTIDO

De los 2 pacientes en los que se identificó virus de papiloma humano, sólo en uno de ellos fue posible tipificar el genotipo, encontrando el tipo 11. (Fig.5). El porcentaje que representa este paciente respecto del total de la muestra es de 6.25%, que corresponde a una proporción de 0.06, con respecto al total de los casos de papiloma nasal invertido.

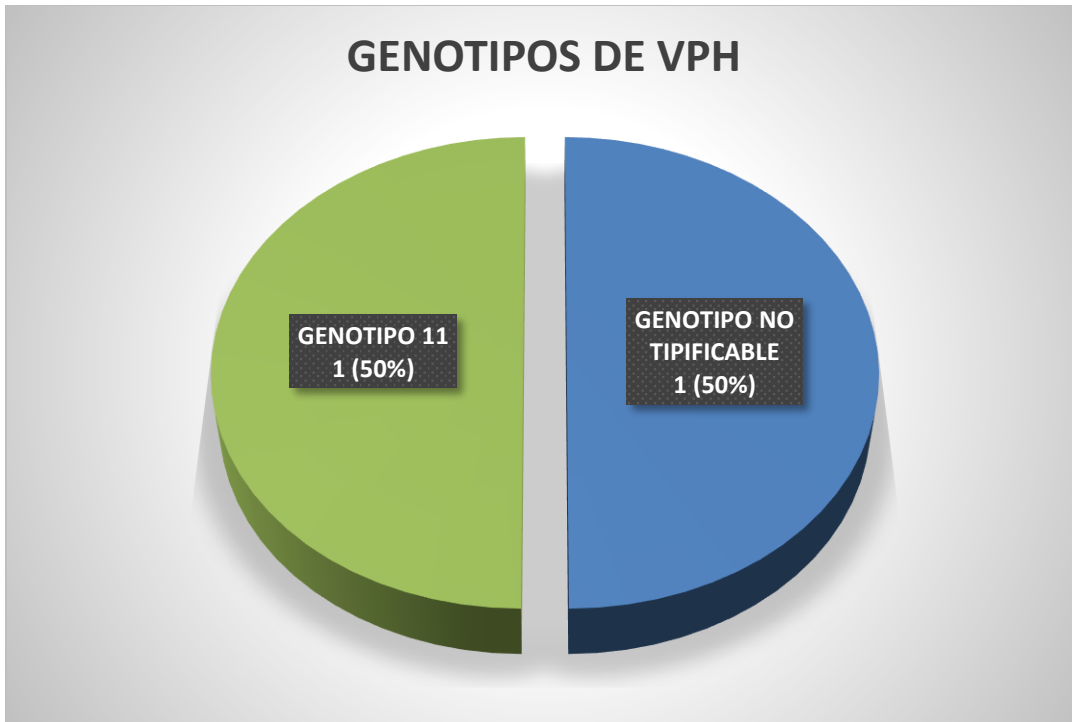


Fig. 5. Genotipos de virus de papiloma humano identificados en los pacientes con papiloma nasal invertido

La razón entre los pacientes con virus de papiloma humano con genotipo 11 y los pacientes con virus de papiloma humano fue de 0.5. Según este resultado, por cada 10 pacientes con Virus de papiloma humano y papiloma nasal invertido, 5 son portadores de VPH genotipo 11.

12. DISCUSIÓN

En este estudio se observó que la presentación más frecuente fue en el sexo masculino, representando un 62.5% de todos los casos estudiados, coincidiendo con lo descrito en la literatura mundial, lo que demuestra una vez más que no existe una influencia racial significativa aún demostrada (13). La mayoría de los casos se presentan entre la quinta y séptima década de la vida, sin embargo, han sido reportados casos desde la segunda hasta la octava décadas. En nuestro estudio la edad de presentación fue variable, sin embargo, se observó una presentación mayor en la sexta década, acorde con lo reportado en la literatura mundial (15). Es importante mencionar que de acuerdo a los estudios más recientes cada vez se está observando esta patología en pacientes más jóvenes, por lo que es conveniente realizar nuevos estudios que busquen encontrar nuevos factores de riesgo, sobre todo estudios experimentales que busquen explicar los mecanismos del desarrollo tumoral, que hasta el momento no son bien conocidos en el caso del papiloma nasal invertido.

El papiloma nasal invertido es un tumor que tiene una marcada tendencia a presentar recurrencia a pesar de un tratamiento quirúrgico radical y posee además un considerable potencial maligno. Lo anterior sugiere la participación de un agente infeccioso, lo que adquiere gran importancia tras el hallazgo del virus del papiloma humano en esta patología (14). Se ha demostrado además que este virus aumenta el riesgo y la frecuencia de las recurrencias tumorales (9).

Un 50% de los pacientes se presentaron en estadio III, es decir, con extensión hacia pared lateral e inferior del seno maxilar; en ninguno de los casos en estadio III se encontró extensión tumoral hacia senos esfenoidal ni frontal. Estos datos también coinciden con los reportados en la literatura escrita sobre papiloma nasal invertido. Esto puede explicarse porque es el estadio en el que la sintomatología, sobre todo obstructiva, produce más limitaciones en la vida cotidiana de paciente y es entonces cuando deciden solicitar atención médica. Algunos casos en estudios tempranos son subdiagnosticados por confundirlos con infecciones de vías respiratorias superiores, dando sólo tratamiento sintomático, permitiendo así el crecimiento del tumor y su extensión hacia senos paranasales.

En cuanto a la estadificación se han propuesto distintos sistemas. El más conocido y el que utilizamos en este estudio es el de Krause. Algunos sistemas están basados en el volumen de la lesión y otros en el origen de su pedículo. En algunos casos se ha buscado una clasificación que correlacione la localización de la lesión con la planificación quirúrgica (19).

La presencia del virus del papiloma humano se ha detectado solo en aproximadamente 33% de los pacientes con papiloma nasal invertido (16). Con respecto a la identificación de virus de papiloma humano, observamos una frecuencia similar de presentación de este virus en los pacientes con papiloma nasal invertido (10,11), sobre todo en estudios que incluyeron población norteamericana. Sin embargo, existen estudios donde se ha identificado el virus del papiloma humano en casi la mitad de los pacientes estudiados (9), lo que es una frecuencia de presentación mayor con respecto a lo que la mayoría de la literatura mundial reporta; cabe mencionar que las muestras estudiadas

han sido más grandes, dando así oportunidad a detectar en un mayor número de pacientes con papiloma nasal invertido al virus de papiloma humano.

Es importante mencionar que la detección del DNA viral en mucosas de pacientes sanos sugiere que la sola infección por el virus no es suficiente para la aparición de lesiones tumorales. Incluso se ha identificado una alteración en la regulación proteica por aumento de la estefina A y una disminución de la Catepsina S, que parece ser responsable de la alteración del reconocimiento viral por parte del complejo mayor de histocompatibilidad, permitiendo así la integración del DNA viral en el DNA celular, condicionando la formación del papiloma nasal invertido (18).

Existen estudios en los que se recomienda enviar la muestra del tumor congelada, ya que los métodos de fijación tienden a fragmentar el DNA en porciones de menos de 200 pares de bases, dificultando su detección (17), lo que podría condicionar una subestimación de la identificación del virus del papiloma humano en pacientes con papiloma nasal invertido.

En cuanto a la tipificación de los genotipos en los casos en que se encuentra presente el VPH en los pacientes con papiloma nasal invertido, en sólo un paciente fue posible realizar la tipificación del genotipo, siendo este el tipo 11, que como ha sido comentado anteriormente, no está asociado a malignidad. Estos resultados fueron similares a los estudios previos, notándose una clara prevalencia de los genotipos benignos sobre los que conllevan un riesgo mayor de malignización del tumor. Contrario a los estudios previos, en nuestra

población no se presentó ningún caso con carcinoma epidermoide y tampoco se identificaron genotipos de VPH asociados con malignidad.

La infección de la mucosa por VPH se ha relacionado con el potencial de malignización del papiloma nasal invertido. El riesgo de malignización se ha reportado hasta de 15%, siendo los genotipos 16 y 18 los que poseen mayor potencial de malignización frente a los genotipos 6 y 11 (20). Además se ha documentado que el carcinoma escamoso nasosinusal está más relacionado con carga viral significativamente más alta de VPH que la que se ha detectado en lesiones papilomatosas o inflamatorias (21).

El riesgo de recurrencia del papiloma nasal invertido oscila entre el 12 y el 15% (22). En ninguno de los pacientes con papiloma nasal invertido en los que se identificó virus de papiloma humano hubo recidiva tumoral. En este estudio observamos además que en los pacientes con recidiva tumoral posterior a la resección quirúrgica no había una frecuencia mayor de identificación de virus de papiloma humano, por lo tanto no consideramos que la recurrencia tumoral tenga una relación bien establecida con el virus de papiloma humano, y que más bien, esto podría estar relacionado con el tipo de técnica quirúrgica empleada para la resección, y además de la técnica quirúrgica, probablemente la experiencia que tenga el cirujano con los diferentes métodos para la resección de los tumores nasosinuales. La mayoría de los cirujanos coinciden en que el factor que determina el riesgo de recurrencia es la resección incompleta de la lesión (23).

Es interesante mencionar que observamos una mayor incidencia de papiloma nasal invertido en el transcurso del último año, con relación a los registros

obtenidos de los casos a partir del 2009 que se revisaron para este estudio, y lo más importante, que las muestras de los pacientes con papiloma nasal invertido en las que se identificó el virus del papiloma humano, fueron de pacientes captados en la consulta externa del servicio y sometidos a resección quirúrgica en el año 2014.

Como ya sabemos, el papiloma nasal invertido es una patología rara dentro de área otorrinolaringológica, sin embargo, aunque se trata de un tumor histológicamente benigno, en ocasiones puede extenderse hacia más de un seno paranasal y así ocasionar sintomatología compresiva hacia estructuras vecinas, de las más importantes la órbita y el piso del cráneo, y lo más importante, puede llegar a tener transformación maligna y convertirse en carcinoma epidermoide. Es por ello que consideramos se deben realizar más estudios acerca de esta patología sobre todo a nivel de biología molecular, ya que la literatura que existe, es en poblaciones extranjeras, lo que condiciona diferencias raciales importantes; en nuestra población prácticamente no existen. Estos estudios deben llevar seguimiento por varios años, ya que así se puede obtener una muestra grande, debido a que se trata de una patología poco frecuente, y lo más importante, se trata de un tumor que puede presentar transformación maligna y con ello traer graves repercusiones en la salud y en la vida del paciente.

13. CONCLUSIONES

1. Los genotipos de Virus de papiloma humano más frecuentemente asociados al papiloma nasal invertido con de naturaleza benigna: genotipos 6 y 11.
2. El papiloma nasal invertido es una patología rara, que se presenta con mayor frecuencia en hombres, entre la quinta y séptima década de la vida.
3. El sitio más común de inicio es en la pared nasal.
4. Existe relación entre la presencia de virus de papiloma humano y el papiloma nasal invertido.
5. Los genotipos que se asocian a transformación maligna del tumor son 16 y 18.
6. La presencia del virus del papiloma humano no es el factor principal para que exista recidiva tumoral después de la resección quirúrgica.

14. BIBLIOGRAFÍA

1. Henríquez M, Altuna X, Zulueta A, Gorostiaga F, Algaba J, y col. Papiloma invertido: Tratamiento y evolución. *Acta Otorrinolaringol Esp* 2003;54:242–248.
2. Elías, O. Papiloma invertido, presentación de 1 caso y revisión de la literatura. *Acta Otorrinolaringol Cabeza Cuello* 2010;38:15-21.
3. Choi JH, Lee SH. Expression and localization of hepatocytgrowth factor and its receptor c-Met in inverted papillomas. *Acta Otolaryngol* 2006;126:724-729.
4. Yiotakis J, Hatzakos AKandoloros D. A rare location of bilateral inverted papilloma of the nose and paranasal sinuses. *Rhinology* 2002;40:220-222.
5. Díaz Molina JP, Llorente Pendás JL, Rodrigo Tapia JP, y col. Papilomas invertidos rinosinusales, revisión de 61 casos. *Acta Otorrinolaringol Esp* 2009;60:402–408.
6. Sauter A, Matharu R, Horman K, et al. Current advances in the basic research and clinical management of sinonasal inverted papilloma. *Oncology Report* 2007;17:495-504.
7. Lueg A, Irish C, Roth Y. An objective analysis of the impact of lateral rhinotomy and medial maxillectomy on nasal airway function. *Laryngoscope* 1998;108:1320-1324.
8. Sauter A. Focal malignancy in sinonasal inverted papiloma – Is postoperative radiotherapy recomendable? *Oral Oncology* 2011

9. Beck JC, Mc Clatchey KD, Lesperance MM, et al. Human papillomavirus types important in progression of inverted papilloma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1995;113:558-563.
10. Hwang, CS; Yang, HS; Hong, MK. Detection of Human Papillomavirus (HPV) in Sinonasal Inverted Papillomas Using Polymerase Chain Reaction (PCR). *Am J Rhinol & Allergy* 1998;12:363-366.
11. Mirza N, Montone K, Sato Y, Kroger H, Kennedy DW. Identification of p53 and human papilloma virus in Schneiderian papillomas. *Laryngoscope* 1998;108:497-501.
12. Buchwald C, Franzmann M, Jacobsen G, et al. Carcinomas occurring in papillomas of the nasal septum associated with Human Papilloma Virus (HPV). *Rhinology* 1997;35:74-78.
13. Lawson W, Patel ZM. The evolution of management for inverted papilloma: an analysis of 200 cases. *Otolaryngology Head & Neck Surgery* 2009;140(3):330-335.
14. Syrjänen KJ, Pyrhönen S. Evidence suggesting human papilloma virus etiology for the squamous cell papilloma of the paranasal sinus. *Arch Geschwulstforsch* 1993;53:77-82.
15. Bhandary S et al. Sinonasal inverted papilloma in eastern part of Nepal. *Kathmandu University Medical Journal* 2006;4(4):431-435.
16. Syrjänen KJ. HPV infections in benign and malignant sinonasal lesions. *J Clin Pathol* 2003;56:174-181.
17. Karisen F et al. Modifications of human and viral deoxyribonucleic acid by formaldehyde fixation. *Lab invest.* 1994;71:604-611.

18. C.-C. Huang et al. Expression of Cathepsin S and its inhibitor stefin A in sinonasal inverted papilloma. *Rhinology* 2010;48:352-357.
19. A. Dragonetti et al. Sinonasal inverted papilloma: 84 patients detected by endoscopy and proposal for a new classification. *Rhinology* 2011;49:207-213.
20. Buchwald C et al. Human papillomavirus in sinonasal papillomas: a study of 78 cases using in situ hybridization and polymerase chain reaction. *Laryngoscope* 1995;105:66-71.
21. Masahiro H et al. Human papilloma virus load and physical status in sinonasal inverted papilloma and squamous cell carcinoma. *Rhinology* 2012;50:87-94.
22. Busquets JM, Hwang PH. Endoscopic resection of sinonasal inverted papilloma: a metaanalysis. *Otolaryngol Head and Neck Surg.* 2006;134:476-482.
23. Vrabec DP. The inverted Schneiderian papilloma: a 25-year study. *Laryngoscope* 1994;104:582-605.

15. ANEXOS

15.1 DIAGRAMA DE FLUJO



15.2 HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

NOMBRE _____ No. _____

SEXO: _____

EDAD: _____

DATOS	RESULTADOS
PAPILOMA NASAL INVERTIDO: SI/NO	
VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO: SI/NO	
GENOTIPO DE VPH	
RECURRENCIA DEL TUMOR: SI/NO	
VPH EN OTRO SITIO ANATÓMICO: SI/NO	
SITIO ANATÓMICO DE VPH	
MALIGNIZACIÓN DEL TUMOR: SI/NO	



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:	TIPIFICACIÓN DE LOS SEROTIPOS DE VIRUS DE PAPILOMA HUMANO EN PACIENTES CON PAPILOMA NASAL INVERTIDO
Patrocinador externo (si aplica):	
Lugar y fecha:	PUEBLA PUE, MAYO DEL 2014
Número de registro:	
Justificación y objetivo del estudio:	El Papiloma nasal invertido se ha caracterizado por ser una neoplasia de origen benigno, cuya etiología exacta aún no es del todo conocida, sin embargo, se ha buscado asociación con el Virus del papiloma humano, lo que probablemente le confiera la capacidad de malignización. Es por lo anterior que es útil la investigación acerca de la relación que guarda dicho virus con el papiloma nasal invertido, además, no hay artículos en México sobre la presencia y tipificación del VPH, relacionado con el papiloma nasal invertido, por lo que es necesario realizar más estudios acerca del tema. Tipificar los serotipos de Virus del Papiloma Humano en pacientes con Papiloma nasal invertido
Procedimientos:	Toma de biopsia del tumor, incisional o excisional de acuerdo a la extensión del mismo, examen histopatológico de la muestra y tipificación de los serotipos de VPH
Posibles riesgos y molestias:	SANGRADO
Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio:	IDENTIFICACIÓN ESPECIFICA DE VIRUS Y APLICACIÓN DE TRATAMIENTO ESPECIFICO
Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:	
Participación o retiro:	
Privacidad y confidencialidad:	
En caso de colección de material biológico (si aplica):	<input type="checkbox"/> No autoriza que se tome la muestra. <input type="checkbox"/> Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio. <input type="checkbox"/> 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:	MARGARITA ANDRADE BONILLA, VERÓNICA VALLEJO RUIZ, JORGE MIGUEL GARCÍA SALAZAR, EDUARDO GOMEZ CONDE
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

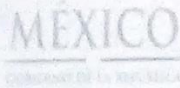
Nombre, dirección, relación y firma

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

15.4 CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ACTIVIDADES	ABRIL/ JULIO 2011	AGO/DI C 2011	ENE 2012 / ENE 2013	FEB 2013/ JUN 2014	JULIO 2014 / SEP 2014
Recopilación continua de bibliografía	X				
Elaboración de protocolo		X			
Selección de pacientes según nuestros criterios			X		
Realización de Examen Histopatológico y PCR			X		
Análisis de la información.				X	
Redacción de reporte final.					X



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



"2014, Año de Octavio Paz".

Dictamen de Autorizado

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud 2101
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CENTRO MEDICO NACIONAL GRAL. DIV. MANUEL AVILA CAMACHO, PUEBLA

FECHA 28/05/2014

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:

TIPIFICACIÓN DE LOS GENOTIPOS DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN LOS PACIENTES CON PAPILOMA NASAL INVERTIDO

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-2014-2101-45

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