

Universidad Católica de Santa María

“IN SCIENTIA ET FIDE ERIT FORTITUDO NOSTRA”

Facultad de Odontología

Programa Profesional de Odontología



Identificación molecular del Virus del Papiloma Humano y su
relación con la presencia de lesiones premalignas y malignas de
cavidad oral en pacientes del Servicio de Oncología del Hospital III
Goyeneche, Arequipa, 2013

Tesis presentada por la Bachiller:

ANY ZARELA VASQUEZ ZEA

para obtener el Título Profesional de Cirujano-Dentista.

**Arequipa - Perú
2014**

DEDICATORIA

A Dios por ser la luz, guía y fuerza en
cada momento de mi vida.

A mi Alma Mater y a los excelentes
educadores que me formaron dentro de
esta maravillosa profesión de servicio.

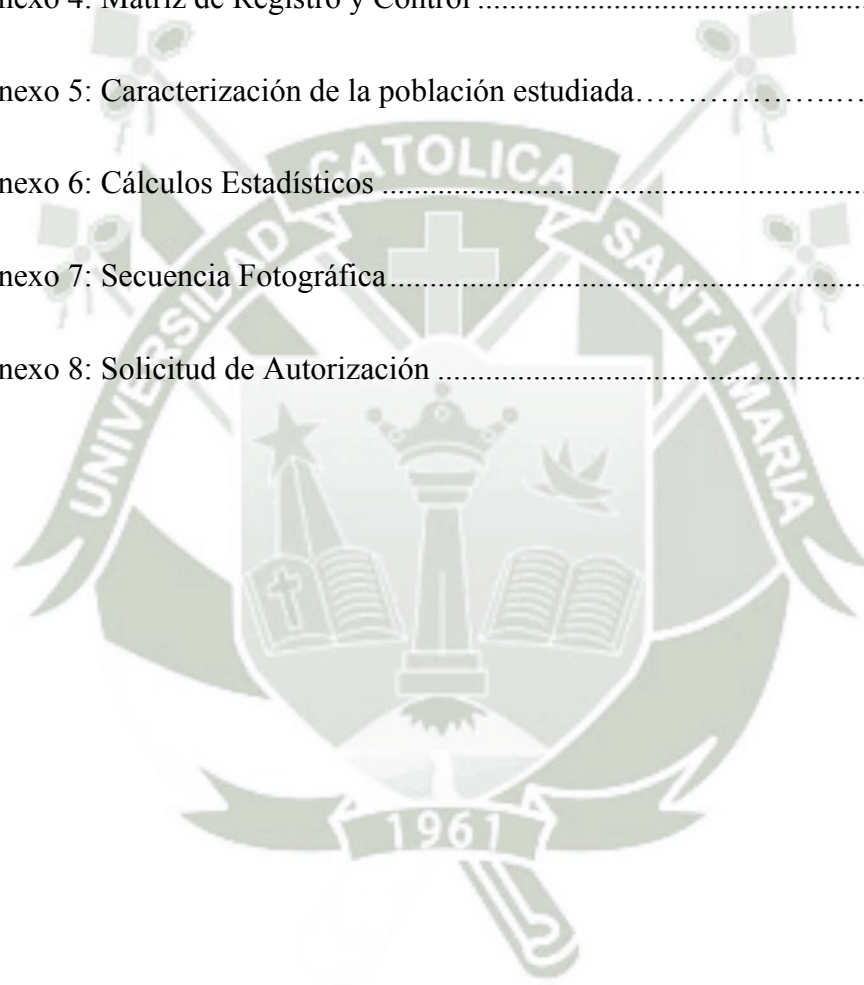
A mis amadas Madre y hermana
quienes me demostraron su amor, su
apoyo, comprensión y paciencia en la
culminación de mi Carrera.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO I :PLANTEAMIENTO TEORICO	4
1. PROBLEMA DE INVESTIGACION	
1.1 Determinacion del Problema	5
1.2 Enunciado del Problema del problema.....	5
1.3 Descripción del problema.....	5
a. Área del Conocimiento	5
b. Operacionalización de Variables	6
c. Interrogantes Básicas	6
d. Taxonomía de la Investigación.....	7
1.4 Justificación del problema	7
2. OBJETIVOS	
2.1 Objetivo general	8
2.2 Objetivo específico	9
3. MARCO TEORICO	
3.1 Marco Conceptual.....	9
3.1.1 Definición del Virus de papiloma Humano	9

3.1.2 Clasificación del Virus del Papiloma Humano	12
3.1.3 Epidemiología.....	15
3.1.4 Etiopatogenia.....	16
3.1.5 Manifestaciones Clínicas.....	20
3.1.6 Histopatología.....	23
3.2 Revisión de Antecedentes Investigativos	26
4. HIPOTESIS	29
CAPITULO II: PLANTEAMIENTO OPERACIONAL.....	30
1. TECNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACION	
1.1 Técnicas.....	31
1.2 Instrumento.....	32
1.3 Materiales.....	34
2. CAMPO DE VERIFICACION	35
3. ESTRATEGIA DE RECOLECCION DE DATOS	37
4. ESTRATEGIA PARA MANEJO DE RESULTADOS	40
CAPÍTULO III: RESULTADOS	41
CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN	61
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	67
BIBLIOGRAFÍA	70
HEMEROGRAFIA	71

INFORMATOGRAFIA	74
ANEXOS	75
Anexo 1: Ficha de Recolección de Datos	76
Anexo 2: Consentimiento informado.....	77
Anexo 3: Trifoliado informativo	78
Anexo 4: Matriz de Registro y Control	80
Anexo 5: Caracterización de la población estudiada.....	83
Anexo 6: Cálculos Estadísticos	86
Anexo 7: Secuencia Fotográfica.....	91
Anexo 8: Solicitud de Autorización	108



INDICE DE TABLAS

Tabla N° 1: Distribución según lesiones premalignas y malignas de los pacientes atendidos	42
Tabla N° 2: Distribución de lesiones malignas y premalignas según diagnóstico histopatológico.....	44
Tabla N° 3: Distribución de lesiones malignas y premalignas según características clínicas	46
Tabla N° 4: Distribución de lesiones malignas y premalignas según localización	48
Tabla N° 5: Identificación del Virus Papiloma Humano (VPH) según tipo de lesión presentada	50
Tabla N° 6: Relación entre la identificación de Virus Papiloma Humano (VPH) y el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas.....	52
Tabla N° 7: Relación entre el tipo de práctica sexual más frecuente y el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas	54
Tabla N° 8: Relación entre el consumo de tabaco y el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral.....	56
Tabla N° 9: Relación entre el consumo de alcohol y el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral.....	58
Tabla N° 10: Relación entre el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas, la presencia de Papiloma virus humano y otros factores como el consumo de tabaco y alcohol.....	60

INDICE DE GRAFICAS

Gráfico N° 1: Distribución según lesiones premalignas y malignas de los pacientes atendidos	43
Gráfico N° 2: Distribución de lesiones malignas y premalignas según diagnóstico histopatológico.....	45
Gráfico N° 3: Distribución de lesiones malignas y premalignas según características clínicas	47
Gráfico N° 4: Distribución de lesiones malignas y premalignas según localización	49
Gráfico N° 5: Identificación del Virus Papiloma Humano (VPH) según tipo de lesión presentada	51
Gráfico N° 6: Relación entre la identificación de Virus Papiloma Humano (VPH) y el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas.....	53
Gráfico N° 7: Relación entre el tipo de práctica sexual más frecuente y el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas	55
Gráfico N° 8: Relación entre el consumo de tabaco y el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral.....	57
Gráfico N° 9: Relación entre el consumo de alcohol y el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral.....	59

RESUMEN

El Virus Papiloma Humano (VPH) puede llegar a cavidad oral produciendo cambios celulares. Actualmente se estudia que su presencia puede llevar al desarrollo de lesiones malignas o premalignas.

Se estableció la relación entre la identificación del virus del papiloma humano con la presencia de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral en pacientes del Servicio de Oncología del Hospital III Goyeneche, Arequipa.

Se realizó un estudio observacional, de casos y controles. Durante los meses de Octubre y Noviembre del año 2013 se evaluaron clínicamente a los pacientes que solicitaron atención en consulta oncológica de cabeza y cuello obteniendo 19 casos (con diagnóstico de lesiones premalignas y malignas), que fueron emparejados con 19 controles de similar edad y sexo. Se confirmó el diagnóstico con el informe de anatomía patológica, se tomaron muestras obtenidas mediante un cepillado de cavidad oral y se sometieron a PCR RFLP (Reacción en Cadena de Polimerasa con Polimorfismo en el Tamaño de los Fragmentos de Restricción). Se aplicó una ficha de recolección de datos.

Las lesiones malignas y premalignas atendidas representaron el 26.76% del total de atenciones de cabeza y cuello en Consulta Externa. Las lesiones malignas fueron principalmente carcinomas (73.68%) y las lesiones premalignas fueron principalmente papilomas con focos de displasia (10.53%). La edad promedio fue de 51.82 ± 9.88 años y predominó el sexo femenino (63.16%). Las lesiones premalignas fueron elevadas y sin ulceración (15.79%), más frecuentemente localizadas en el carrillo y la lengua; las lesiones malignas tuvieron ulceraciones y se localizaron frecuentemente en el paladar y el labio. Todas las lesiones premalignas y malignas fueron múltiples. Los pacientes con lesiones premalignas presentaron Virus Papiloma Humano (VPH) en cavidad oral con mayor frecuencia (66.66%).

Consecuentemente la hipótesis de investigación quedó comprobada como verdadera, existiendo una relación entre la identificación del virus y la presentación de lesiones de cavidad oral ($p < 0.05$). Los cofactores como relaciones sexuales orales ($p < 0.05$) y consumo de tabaco ($p < 0.05$) también se relacionaron con la presentación de lesiones de cavidad oral, tanto en el análisis de asociación individual como en el análisis multivariado.

La identificación del VPH se relaciona con la presencia de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral.

PALABRAS CLAVE: Papiloma virus humano, lesiones premalignas, cáncer, cavidad oral.

ABSTRACT

The Human Papilloma Virus (VPH) can reach the oral cavity producing cellular changes . Currently studying their presence can lead to the development of malignant or premalignant lesions.

To establish the relationship between human papilloma virus with the presence of premalignant and malignant lesions of the oral cavity in patients of the Oncology Service at Hospital Goyeneche III , Arequipa .

An observational, case- control study was conducted. During the months of October and November of 2013 patients who sought care in oncology service of head and neck getting 19 cases (diagnosed with premalignant and malignant lesions) , who were matched with 19 controls of similar age and sex . Diagnosis with the pathology report was confirmed, samples obtained by brushing of oral cavity and subjected to PCR RFLP (Polymerase Chain Reaction Polymorphism with the size of the restriction fragments) were taken. Data collecting was used.

Malignant and premalignant lesions attended represented 26.76 % of all head and neck care Outpatient. Malignant lesions were mainly carcinomas (73.68 %) and premalignant lesions were mainly papillomas with foci of dysplasia (10.53 %). The mean age was 51.82 ± 9.88 years and a predominance of females (63.16 %). Premalignant lesions were elevated and without ulceration (15.79 %) , most often located in the cheek and tongue, malignant lesions had ulcerations and are often located in the palate and lip. All premalignant and malignant lesions were multiple . Patients with premalignant lesions showed Human Papilloma Virus (VPH) in oral cavity more frequently (66.66 %).

With a relationship between virus identification and presentation of oral cavity lesions ($p < 0.05$). Cofactors such as oral sex ($p < 0.05$) and consumption of tobacco ($p < 0.05$) were also associated with the presentation of oral cavity lesions , both in the analysis of individual association and multivariate analysis.

The identification of VPH is linked with the presence of premalignant and malignant lesions of oral cavity.

KEYWORDS : human papilloma virus, premalignant lesions, cancer, oral cavity.

INTRODUCCIÓN

La infección viral es un factor de riesgo reconocido de cáncer de cabeza y cuello y principalmente en las lesiones de cavidad oral¹. La asociación entre la infección por el virus de Epstein-Barr y el cáncer de nasofaringe fue reconocida por primera vez en 1966. Más recientemente, el Virus Papiloma Humano (VPH) ha atraído la atención en estudios de observación, los que parecen mostrar que este virus es un factor de riesgo importante para el desarrollo de las lesiones premalignas y malignas de cabeza y cuello, especialmente el cáncer orofaríngeo, y sugieren que la infección por el VPH, en especial la infección por el subtipo 16 (VPH-16) que es un factor reconocido².

La problemática actual de nuestra sociedad con el inicio temprano de relaciones sexuales, en la cual la infección por el VPH es una de la más frecuente de todas las enfermedades de transmisión sexual³, aunque puede manifestarse sin ningún tipo de síntoma, lo que dificulta que los pacientes tengan conocimiento de su existencia. Por otro lado, es posible que los virus patógenos lleguen a la cavidad oral por vías diferentes a la sexual. Por ello, se debe elevar el nivel de alerta para la prevención de cáncer en la cavidad oral asociadas a más de cien cepas distintas que existen de este tipo de virus ya sea por una deficiencia inmunológica o contagio directo⁴.

¹ Cong T, Markham C, Wallis M, Dolan M. Examining the Association between Oral Health and Oral HPV Infection. Disponible en <http://cancerpreventionresearch.aacrjournals.org/content/early/2013/08/20/1940-6207.CAPR-13-0081.abstract>

² Bologna R, Castañeda R, Molina N, Pérez E. Virus del papiloma humano y su asociación con cáncer bucal. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2012; 44 (2): 147-153

³ Chang F, Syrjanen S, Kellokoski J, Syrjanen K. Human papillomavirus (HPV) infections and their associations with oral disease. *J Oral Pathol Med* 2011;20:305-17

⁴ Oda D, Bigler L, Lee P, Blanton R. HPV immortalization of human oral epithelial cells: a model for carcinogenesis. *Exp Cell Res* 2009;226:164-9

Es posible que muchas de las lesiones inducidas por el virus del papiloma humano se encuentren en cavidad oral, pero son difíciles de diagnosticar mediante el examen clínico especialmente aquellas que se encuentran en las amígdalas o base de la lengua que son menos accesibles. La sensibilidad del examen clínico de la boca para detectar las lesiones precancerosas y cancerosas es aproximadamente 58% con una especificidad del 76%. Sin embargo la detección del virus (genotipos de alto riesgo) eleva la sensibilidad y especificidad por encima del 90%^{5,6}.

Por tanto, la presente investigación propone comprobar el posible potencial oncogénico del Virus del Papiloma Humano, inicialmente determinando la frecuencia de presentación de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral, determinando la frecuencia de detección de Virus del Papiloma Humano en la mucosa oral de los pacientes y luego identificando la relación entre la presencia del Virus del Papiloma Humano y el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral.

Con tal objeto la tesis ha sido organizada en cuatro capítulos. En el Capítulo I, se presenta el Planteamiento Teórico consistente en el problema, los objetivos, marco teórico e hipótesis.

En el Capítulo II se presenta el planteamiento operacional y Recolección que incluye las técnicas, instrumentos y Materiales de Verificación, Campo de Verificación Estrategias de Recolección y manejo de Resultados.

⁵ Cruz IB, Snijders PJ, Steenberg RD, Meijer CJ, Snow GB, Walboomers JM, et al. Age-dependence of human papillomavirus DNA presence in oral squamous cell carcinomas. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 2010;32B:55-62.

⁶ Dillner J, Knekt P, Schiller JT, Hakulinen T. Prospective seroepidemiological evidence that human papillomavirus type 16 infection is a risk factor for oesophageal squamous cell carcinoma. *BMJ* 2008;311:1346.

En el Capítulo III, se exponen los resultados de la investigación así como la discusión comentarios con sus respectivas conclusiones y recomendaciones de la globalidad del trabajo.

Finalmente Se presenta la Bibliografía y anexos.





CAPITULO I

PLANTEAMIENTO TEÓRICO

I. PLANTEAMIENTO TEORICO

1. PROBLEMA DE INVESTIGACION

1.1. Determinación del problema

La presente investigación fue sugerida por expertos debido a la falta de investigación del tema en nuestra realidad, dado que existen estudios realizados a nivel internacional acerca del Virus Papiloma Humano y su relación con lesiones de cavidad oral, muy escasos estudios a nivel nacional y en la región no se ha investigado aún sobre el tema.

El entendimiento del proceso de la enfermedad en general es de gran importancia para el diagnóstico temprano y el manejo exitoso de las patologías, tanto benignas como malignas en el hombre. Diversos virus pueden infectar la mucosa bucal, cada uno en la capacidad de producir un cuadro clínico patológico exclusivamente distinto. El VPH es un virus ADN que produce proliferación cutánea o mucosa, manifestándose como lesiones premalignas (papilomas) y malignas (cáncer) que derivan de epitelios de revestimiento.

1.2. Enunciado del Problema

Identificación molecular del virus del papiloma humano y su relación con la presencia de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral en pacientes del Servicio de Oncología del Hospital III Goyeneche, Arequipa, 20013

1.3. Descripción del Problema

a) Área del conocimiento

- Área general: Ciencias de la Salud
- Área específica: Odontología
- Especialidad: Neoplasias de cavidad oral
- Línea: Identificación molecular de virus para diagnóstico temprano

b) Operacionalización de Variables

Variable	Indicador	Unidad / Categoría	Escala
Variable independiente			
Identificación de VPH	Identificación molecular	Positivo Negativo	Nominal
Variable dependiente			
Presencia de lesiones en cavidad oral	Hallazgo clínico	No se observan lesiones, Lesiones premalignas, Lesiones malignas	Nominal
	Hallazgo histopatológico	Leucoplasia, displasia leve, moderada, severa, carcinoma in situ, invasor.	Nominal
Variables intervinientes			
Prácticas sexuales más frecuentes	Referido por el paciente	Sexo vaginal, sexo anal, sexo oral	Nominal
Consumo de tabaco	Referido por el paciente	Paquetes/día (≥ 1 ; < 1)	Nominal
Consumo de alcohol	Referido por el paciente	Gramos alcohol/día (≥ 40 ; < 40)	Nominal

c) Interrogantes básicas

- ¿Cuál es la frecuencia de presentación de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral en pacientes del Servicio de Oncología del Hospital III Goyeneche en el año 2013?
- ¿Cuál es la frecuencia de detección de Virus del Papiloma Humano en la mucosa oral de pacientes en el Servicio de Oncología del Hospital III Goyeneche en el año 2013?
- ¿Existe relación entre la presencia del Virus del Papiloma Humano

con la presencia de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral de pacientes en el Servicio de Oncología del Hospital III Goyeneche en el año 2013?

d) Taxonomía de la Investigación

ABORDAJE	TIPO DE ESTUDIO					DISEÑO	NIVEL
	Por a técnica de recolección	Por el tipo de dato	Por el n° de mediciones de la variables	Por el n° de muestras o Poblaciones	Por el ámbito de recolección		
Cuantitativo	Observacional	Retrospectivo /prospectivo	Transversal	Comparativo	Documental y de Campo	Descriptivo (Relación causa efecto)	Observacional retrospectivo y transversal

1.4. Justificación del problema

El presente estudio estableció la relación entre la presencia del Virus del Papiloma Humano con la presencia de alteraciones celulares en la mucosa oral en una muestra de pacientes del Servicio de Oncología del Hospital III Goyeneche. La forma en que el VPH se relaciona a la aparición de tumores en la cavidad oral lleva siendo investigada por más de 20 años, esta relación no es clara y no se han encontrado estudios que evalúen esta relación en nuestro país ni en nuestra región, por lo que el estudio es **original**.

Tiene **relevancia científica**, porque se pusieron en práctica las estrategias

moleculares de identificación de ADN viral y su relación con el desarrollo de lesiones tumorales en mucosa oral, que puede en el futuro asociarse a cáncer de la cavidad oral. Tiene **relevancia práctica, dado**, que permitió cuantificar la magnitud de esta relación para lograr el diagnóstico, tratamiento y prevención de lesiones relacionadas a virus en la cavidad oral. Tiene **relevancia social**, dado que la determinación de la presencia de ADN viral permitió beneficiar a las personas diagnosticadas, con la posibilidad de recibir tratamiento temprano de las lesiones asociadas a VPH.

El estudio es **contemporáneo**, porque la investigación viral en lesiones tumorales es un tema de investigación actual de interés en el campo de la patología oral, salud integral y pública por su alta incidencia y de salud preventiva.

El estudio fue **factible** de realizar por tratarse de un diseño prospectivo en el que se cuenta con medios diagnósticos de detección de ADN viral, que si bien cierto que es de alto costo, se contó con el apoyo financiero del Instituto de Investigación Genómica (IGENOMIC), para llegar a la consecución del trabajo.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Identificar la relación entre del virus del papiloma humano con la presencia de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral en pacientes del Servicio de Oncología del Hospital III Goyeneche, Arequipa

2.2 Objetivos Específicos

- 1) Determinar la frecuencia y características de las lesiones premalignas y malignas de cavidad oral en pacientes del Servicio de Oncología del Hospital III Goyeneche en el año 2013.
- 2) Determinar la frecuencia de detección de Virus del Papiloma Humano en la mucosa oral de pacientes en el Servicio de Oncología del Hospital III Goyeneche en el año 2013.
- 3) Identificar algunos cofactores relacionados a la presencia de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral en pacientes del Servicio de Oncología del Hospital III Goyeneche, Arequipa

3. MARCO TEORICO

3.1. MARCO CONCEPTUAL

3.1.1. DEFINICION E IMPORTANCIA VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

Los papilomavirus son virus ADN de doble cadena (ADNd), de 52-55 nm de diámetro, sin envoltura y con una cápside deicosahédrica compuesta de 72 capsómeros que envuelven el genoma. Los viriones contienen al menos dos proteínas de cápside: la proteína mayor (L1) o principal (80% del virión), de 559 KDa, y la proteína menor(L2), de 76 KDa. Las proteínas de cápside del VPH y de papilomavirus animales están muy conservadas

y tienen reactividad cruzada⁷. Ya que la proteína L1 constituye el 80% de la cápside viral y tiene alta actividad inmunogénica específica y cruzada con aquellos virus de papiloma filogenéticamente próximos.

Pocos estudios han avanzado tanto en los últimos años como aquellos relacionados al conocimiento del virus del papiloma humano (VPH). Así, en 1976 se conocían solo cuatro tipos, y en 1997, ya se habían identificado 130 tipos virales, de los que 83 estaban caracterizados de forma precisa⁸.

También se ha estudiado la organización genómica de los VPH, y se conocen varias regiones funcionales:

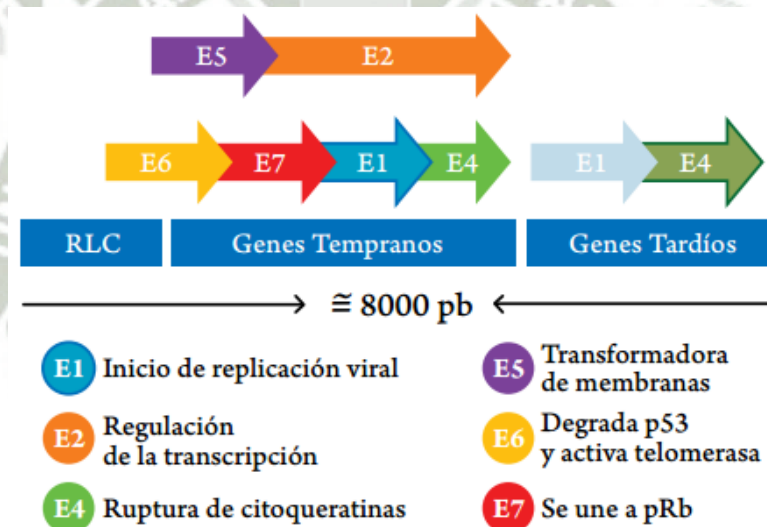
- (a) La región reguladora, denominada unidad reguladora no codificada (URR) o también unidad larga de control (LCR), de 0.4 a 1 kilobase de longitud, esencial para funciones reguladoras del genoma en la replicación, origen de replicación del ADN y potencializadora de la transcripción viral, promotores de síntesis del ARN.
- (b) Zonas de lectura abierta (ORF) con dos regiones denominadas E (early) o de expresión precoz (segunda región) y las L (late) o de expresión tardía (tercera región). Las regiones E están formadas por varias secuencias (E1-E7) que codifican proteínas responsables de las funciones de transformación celular, replicación y de la persistencia del ADN integrado en las células a las que infecta.

⁷ de la Hoz F, Alvis N, Narvárez J, Chocontá L. Evaluación de la Carga de Enfermedad por el Virus del Papiloma Humano en Bogotá Rev. salud pública. 11 (3): 454-467, 2009.

⁸ Chung CH, Bagheri A, D'Souza G. Epidemiology of oral human papillomavirus infection. Oral Oncol. 2013 Sep 27. pii: S1368-8375(13)00685-4. doi: 10.1016/j.oraloncology. 2013.09.003.

(c) Destacan las proteínas que intervienen en la replicación viral (E1,E2), su control (E1,E4) y sobre todo las que intervienen en los procesos de transformación celular (E5,E6,E7).

Especial interés tiene las regiones E6/E7m que poseen un importante papel en los mecanismos de transformación celular. Las proteínas codificadas por estos genes virales se unen a los genes supresores de tumores p53 y Rb105, inactivando su función, mecanismo que puede explicar en parte la intervención de los VPH en el proceso de oncogénesis⁹.



Se ha demostrado que la clase de virus del papiloma humano es muy grande (más de 100 subtipos) y que, individualmente, estos virus están asociados con muchas condiciones de epitelio escamoso. Por ejemplo, subtipos de VPH 2 y 4 se han demostrado dentro de verrugas cutáneas mediante técnicas de

⁹ Gourronc FA, Rockey WM, Thiel WH, Giangrande PH, Klingelhutz AJ. identification of RNA aptamers that internalize into HPV- 16 E6/E7 transformed tonsillar epithelial cells. Virology. 2013 Nov;446(1-2):325-33. doi: 10.1016/j.virol.2013.08.015. Epub 2013 Sep 8.

hibridación de ADN; las verrugas planas de la piel se han asociado con subtipos de VPH 3 y 10. El subtipo VPH 11 se ha encontrado dentro de papilomas del tracto nasosinusal y la cavidad oral. Los subtipos de VPH 16 y 18 se han relacionado con cambios neoplásicos en el epitelio escamoso de cuello uterino, ano, pene y nasofaringe¹⁰.

3.1.2. CLASIFICACIÓN DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

Los VPH son específicos de especie y los tipos concretos se asocian a manifestaciones clínicas específicas. Reguezi menciona especificidad de sitio de tejido o latencia del VPH en algunas lesiones epiteliales bucales que se asocian con el VPH. Además los diferentes tipos de VPH no solo se diferencian por la morfología de las lesiones que producen, sino también por su posible potencial oncogénico.

Es por ello que se los ha clasificado en tres grupos de acuerdo a su potencial oncogénico y al tipo de lesión que producen basándose en neoplasias intraepiteliales cervicales. Bonnez y varios autores los agrupan en los de mayor riesgo VPH tipos 16 y 18, los de riesgo intermedio VPH tipos 31, 33, 35, 39, 45, 51 y 52 y los de menor riesgo los tipos 6, 11, 42 y otros.

El papel que juegan determinados tipos de dicho virus en la oncogénesis está bien establecido en las lesiones genitales, no así en otras localizaciones, como la cavidad bucal. Es de aquí que surge el interés por

¹⁰Reina J, Muñoz N, Sánchez G. El estado del arte en las infecciones producidas por el virus del papiloma humano Colombia Médica Vol. 39 N° 2, 2008 (Abril-Junio). Consultado en <http://bibliotecadigital.univalle.edu.co/bitstream/10893/4236/1/arte.pdf>

identificar en lesiones bucales malignas cual o cuales de estos tipos son los más frecuentemente implicados.

La presencia viral ha sido detectada en lesiones precursoras utilizando técnicas de inmunohistoquímica (Peroxidasa – antiperoxidasa) entre otras. Como así también en neoplasias benignas y malignas de la cavidad bucal en muchos trabajos realizados por numerosos grupos de investigadores.

Un tipo de VPH se diferencia de otro en que los aminoácidos estructurales de uno de sus fragmentos, el llamado L1, presenta una diferencia en la secuencia de sus aminoácidos o proteínas que lo forman, superior al 10%¹¹.

El VPH es específico de huésped, y cada tipo esta, en gran parte, asociado con distintos procesos histopatológicos. Aunque en la mayoría de casos el VPH produce lesiones benignas, algunos pueden llevar al desarrollo de cáncer. En función de esta posibilidad, se clasifican en virus de alto riesgo, bajo riesgo, y riesgo indeterminado¹².

(a) Virus del papiloma humano de alto riesgo

De estos tipos, los VPH 16 y 18 son los más importantes y frecuentes, ya que son responsables de un 70% de los cánceres cervicales. Los tipos de alto riesgo causan además la mayoría de los cánceres de vagina y ano (70-90%), un 40% de los cánceres de vulva y pene, un 20% de los cánceres de orofaringe y un 10% de los cánceres de la cavidad oral¹³; siendo las neoplasias de cabeza y cuello las que se

¹¹Lizano et al, Infección por virus del Papiloma Humano: Epidemiología, Historia Natural y Carcinogénesis. *Cancerología* 4 (2009): 205-216

¹²Sanabria J. Virus del Papiloma humano. *Rev Ciencias Médicas* [revista en la Internet]. 2009 Dic [citado 2013 Oct 07]; 13(4): 168-187.

¹³ Ibid

estima están creciendo rápidamente^{14, 15}.

Enfermedad	Tipo VPH
Verruga común	2, 7
Verruga plantar	1, 2, 4
Verruga cutánea chata	3, 10
Verruga genital anal	6, 11, 42, 43, 44, 55
Verruga conjuntival	11
Malignidades genitales	<ul style="list-style-type: none"> • riesgo muy alto: 16, 18, 31, 45 • otros de alto riesgo: 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59 • probables de alto riesgo: 26, 53, 66, 68, 73, 82
Epidermodisplasia verruciforme	más de 15 tipos
Enfermedades específicas de la cavidad oral	
Hiperplasia focal epitelial	13, 32
Papilomas orales	2, 6, 7, 11, 16, 32, 57
Verruga displásica (en HIV)	16, 18, otros
Carcinoma verrucoso	16, 18
Papiloma laríngeo	11

(b) Virus del papiloma humano de bajo riesgo

Provocan verrugas genitales o condilomas acuminados o crestas de gallo, y papilomas laríngeos (papilomatosis respiratoria recurrente) en niños y jóvenes¹⁶.

3.1.3. EPIDEMIOLOGIA

14 Panwar A, Batra R, Lydiatt WM, Ganti AK. Human papilloma virus positive oropharyngeal squamous cell carcinoma: A growing epidemic. Cancer Treat Rev. 2013 Sep 14. pii: S0305-7372(13)00195-3. doi: 10.1016/j.ctrv.2013.09.006.

15 Nelke KH, Lysenko L, Leszczyszyn J, Gerber H. Human papillomavirus and its influence on head and neck cancer predisposition. Postepy Hig Med Dosw (Online). 2013 Jul 15;67(0):610-6.

16 Chung CH, Bagheri A, D'Souza G. Op. Cit

La infección por VPH de la cavidad oral tiene más alta prevalencia en hombres, lo que soporta la teoría de la transmisión sexual hacia la boca mediante el sexo oral.

La forma de infección más frecuente es aquella que no es evidente más que con pruebas complementarias (infección subclínica) o latente y solo puede diagnosticarse mediante técnicas de biología molecular. También pueden presentarse sintomáticas y éstas últimas, son generalmente las infecciones causadas por el VPH de bajo riesgo (condilomas y papilomatosis)¹⁷.

Los casos en los que la detección de ADN viral es persistente constituyen el grupo de alto riesgo para la progresión neoplásica. Los determinantes conocidos de la progresión son: el tipo viral, la persistencia de la infección en exámenes repetidos y, probablemente, la carga viral por unidad celular. Las infecciones por el virus de la inmunodeficiencia humana constituyen un factor de riesgo para la infección y para la progresión neoplásica, en particular, de los periodos que cursan con inmunosupresión.

El tabaco, el consumo de alcohol, un inicio temprano de relaciones sexuales que permiten el contacto con el virus temprano son factores que influyen a favor de la adquisición de la enfermedad en la cavidad oral¹⁸.

3.1.4. ETIOPATOGENIA

Los VPH son virus epidermotróficos con afinidad y capacidad de infectar

¹⁷García et al. VPH y los Carcinomas de Cavidad Bucal y Bucofaríngea. *Cancerología* 4 (2009): 181-191

¹⁸Howard M. El cáncer bucal y su asociación con el virus del papiloma humano. *Revisión Bibliográfica. Rev. Cient. Odontol.* 2010, (6) 1:73-81

cualquier tipo de epitelio escamoso. Desde el momento de la infección, que sucede a partir de pequeñas soluciones de continuidad en la superficie cutáneo-mucosa, se establece un periodo de incubación variable que oscila entre 6 semanas y 2 años, aunque este aspecto no está totalmente aclarado.

La célula diana es el queratinocito, situado en la lámina basal. En estas células basales se produce la transcripción de los genes tempranos. La secuencia final, que incluye la expresión de los genes tardíos (L1,L2) y la síntesis y ensamblaje de la cápside, tiene lugar en las células más diferenciadas o queratinizadas del estrato espinoso. La secuencia L1 es la proteína principal de la cápside. Es la responsable de la adherencia específica del virus a la célula, además de ser el antígeno frente al cual se produce la respuesta humoral y celular. El hecho de que este fragmento este muy conservado y permita una reactividad cruzada entre los distintos genotipos de VPH condiciona su interés estratégico en las vacunas profilácticas aplicables a la población¹⁹.

En las lesiones benignas, el ADN viral se localiza en posición extracromosómica del núcleo celular. Por el contrario, en las lesiones displásicas y en los cánceres, el ADN viral se encuentra integrado al genoma celular (ADN nuclear) y se inserta rompiendo la región E2. Esta circunstancia puede explicar la malignización de la lesión, ya que la expresión de la proteína E2 regula la expresión de las proteínas E6 y E7 cuyos productos interfieren con las proteínas supresores de tumores, la p53 y el oncogen del retinoblastoma. Esta actividad transformadora es mayor

¹⁹García et al. Op cit.

en los genotipos de VPH que consideramos de alto riesgo (VPH16)^{20,21}. Pero no sólo el VPH 16 fue identificado en lesiones malignas bucales, otros tipos también tienen gran incidencia como ser el VPH 18. Varias investigaciones realizadas en los últimos años concluyen que tanto el VPH 16 como el 18 constituyen un factor de riesgo en la carcinogénesis de cabeza y cuello, especialmente en orofaringe y laringe.

La relación causa – efecto del virus del papiloma humano en el cáncer bucal todavía está siendo estudiada, pudiendo desempeñar un activo papel en su iniciación. Se han identificado virus de alto riesgo que codifican oncoproteínas que comprometen el crecimiento celular fisiológico a través de la unión con los productos de los genes supresores tumorales y posiblemente el efecto oncogénico de estos virus sea la consecuencia, al menos en parte, de estas interacciones. Se ha postulado también que pueden actuar sinérgicamente con otros co-factores como el tabaco y el alcohol en el desarrollo de un carcinoma.

El VPH como factor de riesgo asociado a cáncer de la cavidad bucal ha sido demostrado por datos epidemiológicos que señalan una diferencia entre los casos de con cáncer VPH positivos y negativos. Estos estudios han demostrado que los carcinomas con VPH negativos se encuentran asociados con el consumo de tabaco y alcohol.

Además de la asociación entre tabaco, alcohol y conducta sexual, también

²⁰Andrews E, Seaman WT, Webster-Cyriaque J. Oropharyngeal carcinoma in non-smokers and nondrinkers: a role for HPV. *Oral Oncol.* 2009, 45: 486-491

²¹Ha PK, Califano JA. The role of human papillomavirus in oral carcinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2011, 15: 188-196

se ha encontrado asociación con el uso de marihuana, junto con la presencia de VPH-16 positivo, mientras que tabaco, alcohol y una deficiente higiene oral se asoció con VPH negativo²².

La calidad de la respuesta inmunitaria puede justificar tanto la ocasional regresión de las lesiones en un lapso aproximado de un año, como su progresión hacia formas clínicas aparatosas o con mayor tendencia a la transformación celular, como sucede en casos de inmunodepresión²³.

Los virus provocan diferentes efectos sobre las células que infectan aún cuando no se repliquen, alterando numerosos procesos esenciales para la célula. El sistema inmune utiliza tanto elementos de la inmunidad natural como respuestas mediadas por linfocitos T y B para hacer frente a las infecciones virales. Los principales componentes de la inmunidad innata son la producción de interferones tipo I y la activación de las células natural killer (NK). Mientras los principales efectores de la inmunidad adaptativa, son la producción de anticuerpos, fundamentalmente inmunoglobulina A (IgA) a nivel de mucosas, y de respuestas celulares citotóxicas.

El papilomavirus humano utiliza varios mecanismos para evitar esta respuesta antiviral. El propio ciclo vital de los VPH constituye por sí mismo un mecanismo de evasión. El VPH infecta y se multiplica en los queratinocitos en forma episomal, y sólo consiguen la expresión de las

²²Mellin H, Dahlgren L, Munck-Wikland E, Lindholm J, Rabbani H, Kalantari M, Dalianis T. Human papilloma virus type 16 isepisomal and a high viral load may be correlated to better prognosis in tonsillar cancer. *Int J Cancer*. 2012, 102: 152-158

²³Chung CH, Bagheri A, D'Souza G. Op. Cit

proteínas estructurales en los estratos celulares más distales, lejos del contacto con las células inmunológicas. Cabe destacar que dado que la etapa final de la diferenciación de los queratinocitos, conlleva la muerte celular de forma natural, no se producen señales de alarma o estrés celular suficientes. El papilomavirus no tiene efectos citopáticos, durante su replicación, por este motivo tampoco, las señales de inflamación son insuficientes, no se produce viremia, y tampoco un transporte importante de partículas virales por las células de Langerhan's a los nódulos linfáticos regionales. En una situación normal, tras la infección de la mucosa, las células de Langerhan's deberían, una vez que se produce el reconocimiento por los receptores de patrones moleculares, activarse, madurar y migrar a los órganos linfoides. La cápside de VPH lejos de producir estos efectos, inhibe la migración y maduración de las células de Langerhan's.

Sin embargo, aún en ausencia de citólisis y activación de células de Langerhan's, los VPH que entran en la célula deberían de despertar una respuesta en producción de interferones (IFNs) de tipo I, importante para impedir la extensión de la infección. La producción de este tipo de IFNs no sólo desencadenaría un potente efecto antiviral, al inhibirse la síntesis proteica, sino que se produciría también un efecto anti-angiogénico y de estímulo de respuestas específicas o adaptativas. Sin embargo, los VPH pueden suprimir la expresión de los genes de interferón tipo I a través de las proteínas E6 y E7. Finalmente algunas proteínas del papilomavirus, como E5 afectan la expresión de moléculas de histocompatibilidad (HLA)

de clase I alterando la capacidad de reconocimiento de los linfocitos T citotóxicos. También las proteínas E6 y E7 parecen modificar la actividad del promotor de los genes HLA de clase I y de otros genes implicados en el procesamiento y presentación de péptidos virales. De hecho, el incremento de incidencia y progresión de las infecciones por VPH en pacientes inmunosuprimidos ilustra la importancia que en la definitiva resolución y control de las infecciones por VPH tienen las respuestas citotóxicas mediadas por los linfocitos T.

Por otro lado, la conducta sexual también se ha reportado como un factor de riesgo importante asociado con la presencia de VPH en el cáncer de la cavidad bucal y bucofaríngeo, siendo el comportamiento sexual y el número de parejas sexuales uno de los principales factores de riesgo (RR 3.1); otro aspecto de tipo sexual que representa otra probable vía importante de infección por VPH es la práctica de relaciones oro-genitales (RR 3.4)^{24, 25, 26}.

3.1.5. MANIFESTACIONES CLÍNICAS

El virus papiloma humano puede causar dos tipos de lesiones: las benignas y las premalignas - malignas.

²⁴D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, Pawlita M, Fakhry C, Koch WM, Westra WH, Gillison ML. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med.* 2007 May 10;356(19):1944-56.

²⁵Kreimer AR, Bhatia RK, Messeguer AL, González P, Herrero R, Giuliano AR. Oral human papillomavirus in healthy individuals: a systematic review of the literature. *Sex Transm Dis.* 2010 Jun;37(6):386-91. doi: 10.1097/OLQ.0b013e3181c94a3b.

²⁶Millan R et al. Conocimiento actual sobre el virus papiloma humano (VPH) y su relación en la cavidad bucal y en el periodonto. *Acta odontol. Venez.* 2009, vol.44, n.1:pp. 114-121

Entre las **lesiones benignas** se encuentran las manifestaciones clínicas habituales en la cavidad oral, como son las verrugas orales o papilomas escamosos²⁷.

Los papilomas escamosos orales pueden encontrarse en la parte bermellón de los labios y en cualquier zona de la mucosa intraoral, con predilección por el paladar duro y blando y la úvula. Los tres últimos sitios representan aproximadamente un tercio de todas las lesiones.

Las lesiones por lo general miden menos de 1 cm en su mayor dimensión y aparecen como elevaciones exofíticas granulares de color rosado a blanco o como alteraciones superficiales en forma de coliflor. Las lesiones generalmente son solitarias en su presentación, aunque a veces se pueden observar varias lesiones. También se encuentran el condiloma acuminado bucal e hiperplasia epitelial focal conocida como Enfermedad de Heck.

Papiloma de la lengua



Las **lesiones premalignas** incluyen leucoplasia, verrugas orales displásicas y dentro de las **lesiones malignas** (cáncer) se considera el carcinoma escamocelular.

La **leucoplasia**, es una lesión uniformemente blanca, de consistencia

²⁷Pacca F, Marcucci G, Nunes F, Silva C, Cerri A. Aspectos clínicos e histológicos en la queilitis actínica crónica, su relación con el virus del papiloma humano. *Odontoestomatol* 2011;13(17):43-53

firme, de poco espesor y de superficie lisa o rugosa, también puede presentarse en forma nodular como una lesión sobreelevada con bordes no homogéneos que se presenta con pequeñas elevaciones blancas y rojas redondeadas de la mucosa que le dan un aspecto granular. También puede presentarse la leucoplasia verrucosa proliferativa, que es una lesión exofítica, persistente, verrucosa y clínicamente agresiva y resistente a los tratamientos.

Las **verrugas orales displásicas**, se presentan en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). El grado de displasia varía de leve a severo. Se desconoce el resultado o la historia natural de estas verrugas displásicas, aunque no se ha reportado la aparición de carcinoma invasivo a pesar de varios años de seguimiento. En estas lesiones se puede demostrar una amplia variedad de subtipos de VPH, incluyendo 16 y 18.

El **carcinoma escamocelular**, también denominado carcinoma espinocelular o carcinoma epidermoide, se define como una neoplasia maligna derivada del epitelio plano. Las neoplasias malignas de la cavidad bucal constituyen del 3 al 5 % de todas las neoplasias. El carcinoma escamocelular es el más frecuente; representa aproximadamente el 90 % de todas las neoplasias malignas de la cavidad bucal. Aparece con más frecuencia a partir de la quinta década de la vida, y constituye el 3 % de los cánceres diagnosticados en hombres y el 2 % en mujeres.

Dentro de la cavidad bucal el carcinoma escamocelular se presenta en diversas localizaciones anatómicas: labio inferior (35 %), labio superior (poco frecuente), lengua oral (bordes laterales y ventral) (25 %), suelo de

la boca (20 %), paladar blando (15 %), encías/cresta alveolar (4-6 %) y mucosa bucal (1 %) ²⁸.

El carcinoma escamocelular tiene una serie de presentaciones clínicas diferentes. En el estadio temprano puede aparecer como una lesión eritematosa (eritroplásica) asintomática o una lesión blanca (leucoplásica), o ambas (eritroleucoplásica). Puede también aparecer como una erosión, una úlcera pequeña, una masa exofítica, o una lesión periodontal. En estadios avanzados puede presentarse como una masa exofítica grande con o sin ulceraciones, úlcera profunda con una superficie vegetante irregular, bordes elevados y un infiltrado duro de los tejidos bucales.

3.1.6. HISTOPATOLOGÍA

El cambio morfológico patognomónico de infección por VPH son las células coilocíticas. Ellas se encuentran en la capa superior e intermedia del epitelio mostrando un colapso degenerativo del núcleo y un espacio prominente alrededor del mismo (vacuolización citoplasmática). Alrededor de este halo, el citoplasma está condensado. La distinción entre células coilocíticas verdaderas y otras células vacuolizadas ha sido recientemente discutida. Tal distinción es importante en la cavidad bucal, en donde hay diferentes tipos de células vacuolizadas que no tienen relación con los VPH.

Otros cambios citológicos importantes lo constituyen las células que muestran una queratinización anormal (disqueratosis), tanto aisladas como

²⁸ Guzmán G, Pablo, Villaseca H, Miguel, Antonio P, Lilia, Araya O, Juan, Aravena M, Paola, Cravero P, Carla, Pino M, Pilar, & Roa S, Juan. (2011). Carcinoma epidermoide oral y orofaríngeo: Estudio clínico-patológico. Revista chilena de cirugía, 63(3), 250-256.

agrupadas. Las células coilocíticas y disqueratóticas muestran dos o más núcleos, se observa papilomatosis, acantosis, hiperplasia basal, elongación o ensanchamiento de los mamelones epiteliales.

La presencia de todos estos cambios coincide con un diagnóstico compatible con una infección por VPH sin presentarse prácticamente ninguna duda, surgen problemas cuando todos estos cambios no están presentes o algunos de ellos se presentan en grado extremo. Este tipo de metodología depende del patólogo y el diagnóstico puede variar cuando las muestras de tejido son algo atípicas. Asimismo, esta técnica tiene la limitante de no proveer ninguna información sobre el genotipo del virus infectante. Más aun, este tipo de examen no permite detectar en algunas ocasiones infección por VPH porque las células aparecen como normales²⁹.

Los papilomas escamosos orales representan un crecimiento exagerado del epitelio escamoso normal. Son proyecciones de epitelio, apoyadas por un estroma de tejido conectivo, y bien vascularizados. La arquitectura histológica puede imitar el patrón de la verruga cutánea. Las células epiteliales de nivel superior muestran núcleos picnóticos y crenados, a menudo rodeados por una zona edematosa u ópticamente transparente, formando la llamada célula “coilocítica”. Esta célula se cree que es indicativa de un estado alterado de forma viral³⁰.

²⁹ Krane JF Role of cytology in the diagnosis and management of HPV-associated head and neck carcinoma. *Acta Cytol.* 2013;57(2):117-26. doi: 10.1159/000346715. Epub 2013 Feb 28..

³⁰ Scully C, Bagan J, Recent advances in Oral Oncology, *Oral Oncology* 2010 43, 107–115



Imagen histopatológica del Papiloma

La **leucoplasia** se aprecia de color blanco debido a un engrosamiento de las capas de keratinocitos o de células espinosas que toman un color blanco al humedecerse. Histológicamente, la mayor parte de las biopsias muestran hiperqueratosis benigna, acantosis e inflamación crónica. Aproximadamente, el 20% de los casos muestran una displasia que puede variar entre leve y moderada. La tendencia de las lesiones a convertirse en malignas se puede investigar por varios métodos, incluyendo la determinación de los índices mitótico, apoptótico y de la Ki67, así como la expresión de los protooncogenes p53 y Bcl2 y Bax.

En el **carcinoma escamocelular**³¹ la apariencia histológica depende de su grado de diferenciación. Sin embargo en una misma lesión se pueden encontrar diferentes grados, lo que explica las distintas manifestaciones clínicas. Las lesiones mejor diferenciadas tratan de imitar la arquitectura y función de las células normales. En general, las células y sus núcleos son grandes. Las mitosis son relativamente frecuentes y la mayoría de ellas son

³¹ Herrero R, Castellangue X, Pawlita M, Lissowska J, Kee F, Balaram P. Human papillomavirus and oral cancer Multicenter Study. J Natl Cancer Int; 2010 95(23): 1772-83

atípicas. La queratinización se produce de manera individual y las masas celulares crecen hacia el tejido conectivo infiltrando el tejido normal.

3.2. ANÁLISIS DE ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

A nivel Local y Nacional

No se han encontrado estudios que demuestren la relación entre el virus del papiloma humano y la presencia de lesiones tumorales en la región oral.

A nivel Internacional

Autores: Millan R et al.

Título: Conocimiento actual sobre el virus papiloma humano (VPH) y su relación en la cavidad bucal y en el periodonto.

Fuente: Acta odontológica. Venezuela. 2009, vol.44, n.1 : pp. 114-121.

Resumen: El propósito de esta revisión es describir los conocimientos actuales sobre el Virus Papiloma Humano (VPH) y su relación en la cavidad bucal y en el periodonto, soportado en una revisión bibliográfica. Para ello se realizó una investigación descriptiva y documental principalmente con literatura nacional e internacional (revistas, libros) y entrevistas a especialistas en la materia. El VPH tiene una frecuencia entre 36% y el 74% de la población, y cada día se diagnostica un gran número en cualquier grupo etario, se describen alrededor de 80 tipos. Las lesiones del VPH relacionadas con la cavidad bucal y en el periodonto son: papiloma, condiloma acuminado, hiperplasia epitelial focal, carcinoma verrugoso, leucoplasia, liquen plano,

además, tiene una estrecha relación con pacientes VIH positivos. Entre los tratamientos periodontales aplicados en estas lesiones se citan: la gingivectomía quirúrgica, electroquirúrgica, láser y quimio quirúrgica, siendo la más utilizada la gingivectomía quirúrgica. De allí la importancia de identificar estas condiciones para determinar un correcto plan de tratamiento y establecer la secuencia del tratamiento elegido para mejorar la salud del paciente.

Autores: Limongi L, Jimenez C, Perez C.

Título: Prevalencia de la infección por Virus Papiloma Humano en la cavidad bucal en pacientes pediátricos

Fuente: Acta Odontológica Venezolana Vol 42 N° 2 / 2010
http://www.actaodontologica.com/ediciones/2010/2/papiloma_humano_cavidad_bucal.asp

Resumen: El virus papiloma humano constituye un grupo viral heterogéneo capaz de producir lesiones hiperplásicas, papilomatosas y verrugosas tanto en piel como en mucosa, y en los últimos años se ha demostrado que juega un importante papel en la carcinogénesis. En nuestro país, la incidencia y Prevalencia de la infección es cada vez más alto, de allí la necesidad de resaltar la importancia de realizar un diagnóstico precoz en niños de lesiones benignas en boca, lo cual permitiría un tratamiento preventivo adecuado de la lesión, evitando su transformación y progresión a las lesiones premalignas y/o malignas. El objetivo de esta investigación es determinar la prevalencia del Virus Papiloma Humano en la cavidad bucal en un grupo de niños

venezolanos, a los cuales se le realizó el examen clínico y biopsia de las lesiones encontradas con el fin de estudiarla histológicamente y determinar las manifestaciones más frecuentes en esta población, así como establecer la correlación clínica histopatológica que nos permite evaluar la cavidad la credibilidad del operador.

Autores: Pacca F, Marcucci G, Nunes F, Silva C, Cerri A.

Título: Aspectos clínicos e histológicos en la queilitis actínica crónica, su relación con el virus del papiloma humano.

Fuente: Odontostomatol 2011;13(17):43-53

Resumen: Los virus del papiloma humanos (VPHs) oncogénicos son importantes agentes en la etiología del cáncer ginecológico y actualmente han sido relacionados también a algunas lesiones carcinógenas y a algunos tipos de cánceres de boca. Con el objetivo de determinar la presencia del VPH en la queilitis fueron evaluados y considerados aptos para el estudio 29 pacientes portadores de queilitis actínica crónica y 29 pacientes en el grupo control. Se utilizó la PCR para detectar la presencia del VPH en muestras de tejido fresco, provenientes de labios enfermos. La queilitis actínica crónica (QAC) ocurrió en individuos de raza blanca, 19 hombres y 10 mujeres, con media de edad 56 años. En el análisis de las características clínicas se registraron varias alteraciones. También se evaluaron los aspectos histológicos de la QAC y se encontraron atipia en diferentes grados en todos los casos. Concluimos que todos los casos presentaron resultados negativos del aislamiento viral.

4. HIPÓTESIS

Es probable que la identificación molecular del virus del papiloma humano en cavidad oral se relacione con la presencia de lesiones premalignas y malignas.



CAPITULO II

PLANTEAMIENTO OPERACIONAL



II. PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACION

1.1. Técnicas

a. Precisión de la técnica

Técnica documental y de campo

b. Esquemmatización

VARIABLES	TÉCNICA	INSTRUMENTO
Presencia de lesiones en cavidad oral	Documental y de campo	Ficha de recolección de datos
Identificación del VPH		
Variables intervinientes		
Prácticas sexuales Consumo de tabaco Consumo de alcohol		

c. Procedimiento

- Se realizó la recolección de datos de pacientes con lesiones premalignas y malignas de cavidad oral, que fueron atendidos en el servicio de Oncología de Hospital III Goyeneche desde enero hasta Noviembre del año 2013.

- Se aplicó la técnica de evaluación clínica estomatológica para determinar la presencia de lesiones en cavidad oral. También se hizo la recolección de datos de informes de anatomía patológica de cada paciente con evaluación clínica para identificar el tipo de lesiones presentadas.
- Se aplicó la ficha de recolección de datos para conocer las variables intervinientes.
- Se realizó la evaluación laboratorial de las muestras obtenidas mediante un cepillado de cavidad oral sometido a PCR RFLP (Reacción en Cadena de Polimerasa con Polimorfismo en el Tamaño de los Fragmentos de Restricción) y se detectó la presencia de ADN viral de VPH (identificación molecular de ADN viral).

1.2. Instrumento

a. Instrumento documental

a.1. Precisión del instrumento

Se utilizó un instrumento elaborado por la autora, de acuerdo a las variables e indicadores, denominado Ficha de Recolección de Datos

a.2. Estructura del instrumento

VARIABLES	EJES	INDICADORES	EJES
Presencia de lesiones en cavidad oral	1	Hallazgo clínico	1.1
		Hallazgo histopatológico	1.2

VARIABLES	EJES	INDICADORES	EJES
Identificación del VPH	2	Presencia	2.1
Variables intervinientes			
Prácticas sexuales más frecuentes	3	Referido por el paciente	
Consumo de tabaco	4	Referido por el paciente	
Consumo de alcohol	5	Referido por el paciente	

a.3. Modelo del instrumento

Ver Anexo 1.

b. Instrumentos mecánicos

Para evaluación clínica estomatológica

- Espejos dentales
- Exploradores
- Cámara intraoral

Para detección de ADN viral de VPH

- Termociclador
- Cámara de electroforesis
- Transiluminador UV

- Baño seco
- Microcentrífuga
- Congeladora -24°C

1.3. Materiales

a. Para recolección y procesamiento de datos

- Material de escritorio
- Computadora personal con programas procesadores de texto, bases de datos y software estadístico.

b. Para evaluación clínica estomatológica

- Guantes
- Algodón, alcohol, agua oxigenada

c. Para detección de ADN viral de VPH

- Kit para toma de muestra de VPH (IGENOMIC)
- Reactivos para identificación de ADN de VPH (AXYGEN)
- Guantes
- Tips puntas de pipetas 10, 100, 200 y 1000 microlitros
- Tubos de PCR
- Microtubos de 2, 1.5, 0.5 microlitros
- Kit de extracción de ADN
- Reactivos de amplificación – PCR
- Agua destilada calidad farmacéutica
- Tampón sin mgcl2 10x

- Solución de mgcl2 25 mm
- Solución de DNTPS
- Primers (cebadores)
- Taq polimerasa
- Enzimas de restricción
- Agarosa
- Micropipetas de precisión
- Tampón tbe 1x para diluir los primers-cebadores.
- Tampón tbe 10x
- Etanol absoluto

c. Financieros

Se recibió el auspicio del Laboratorio IGENOMIC en el financiamiento de:

- 100% del total de kits de toma de muestra
- 55% del total de tests de detección.

También se recibió, de esta empresa, una subvención parcial del costo del restante 45% de tests de detección.

2. CAMPO DE VERIFICACIÓN

2.1. Ubicación espacial: La presente investigación se realizó en el Servicio de Oncología del Hospital III Goyeneche.

2.2. Ubicación temporal: El estudio se realizó en forma coyuntural durante los meses de Octubre y Noviembre del año 2013.

2.3. Unidades de estudio: Pacientes del Servicio de Oncología del Hospital III Goyeneche.

Universo: Total de pacientes con diagnóstico de lesiones premalignas o malignas en cavidad oral atendidos en el Servicio de Oncología del Hospital III Goyeneche en el periodo de estudio.

Muestra: Se estudió una muestra representativa cuyo tamaño se calculó mediante la fórmula de muestreo para proporciones en estudios de casos y controles:

$$n = \left[\frac{Z\alpha\sqrt{(c+1)(\hat{p}\cdot\hat{q})} + Z\beta\sqrt{c(p_1\cdot q_1) + (p_2\cdot q_2)}}{c(p_1 - p_2)} \right]^2$$

$$p_2 = \frac{p_1}{w(1-p_1) + p_1}$$

Donde:

n = tamaño de la muestra

$Z\alpha$ = coeficiente de confiabilidad para una precisión del 95% = 1.96

$Z\beta$ = coeficiente de confiabilidad para una potencia del 80% = 0.84

c = proporción de casos/controles = 1

p_1 = frecuencia de exposición entre casos

p_2 = frecuencia de exposición entre controles = 40%

w = OR estimado = 3

$$\hat{p} = \frac{p_1 + p_2}{2}$$

$$q = 1 - p$$

E = error absoluto = 5% para estudios de ciencias de la salud = 0.05

Por tanto: n = 38.3

≈ 19 casos y 19 controles

Se consideraron dos grupos de estudio: casos, constituido por **todos** los pacientes con lesiones premalignas y malignas de la cavidad oral, en los que se realizó la

identificación de VPH, y un grupo control de personas sin lesiones en cavidad oral, emparejados por edad y sexo, en los que se realizó también la determinación de VPH.

Criterios de selección:

a) Criterios de inclusión:

- Pacientes de ambos sexos
- Participación voluntaria en la investigación
- Casos: con presencia de lesiones premalignas y malignas en cavidad oral
- Controles: sin lesiones en cavidad oral

b) Criterios de exclusión:

- Pacientes usuarios aparatos ortodónticos
- Con lesiones traumáticas recientes de la cavidad oral.
- Hiperplasia gingival de origen medicamentoso

3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.1. Organización

Primero se establecieron coordinaciones con la Dirección y la Jefatura del Servicio de Oncología del Hospital III Goyeneche para obtener la autorización para la realización del estudio.

Se realizó una revisión del cuaderno de registro de pacientes oncológicos, eligiendo aquellos con diagnóstico de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral en el año 2013.

En el Consultorio de Cirugía Oncológica del Hospital III Goyeneche, se realizó la evaluación clínica estomatológica de los pacientes que acudieron con diagnóstico de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral durante los meses de octubre y noviembre. Además se realizó un cepillado de cavidad oral para obtener células de la mucosa oral que fueron sometidas a PCR para detectar presencia de ADN viral de VPH.

Se realizó la revisión de los informes de anatomía patológica de los pacientes examinados clínicamente para confirmar el diagnóstico.

Se conformó un grupo control con personas sin lesiones de la cavidad oral, en lo posible emparejados por edad y sexo, y se tomó igualmente muestras de cepillado de cavidad oral en búsqueda de células con presencia de ADN viral de VPH.

Los datos fueron registrados en una ficha de datos para su análisis posterior.

3.2. Recursos

a) Humanos

- Investigadora: Any Zarela Vázquez Zea
- Asesor de Investigación de la Facultad de Odontología de la Universidad Católica Santa María: C.D. Carlos Díaz Andrade

- Médico Cirujano del Servicio de Oncología del Hospital III Goyeneche:
Dr. Luis Medina Fernández.
- Personal de Laboratorio IGENOMIC: Dra. Mariela Torres Loarte

3.3. Validación de los instrumentos

a) Ficha de recolección de datos

Se elaboró una ficha de recolección de datos en base a las variables requeridas para el estudio, y se realizó una validación por expertos; no se requiere de validez predictiva ya que no se realizó valoración cuantitativa.

b) Test molecular: Estudio de PCR ADN específico

La validación del estudio se sustentó en el uso de *primers* específicos, cada reacción de la metodología se validó por el uso de los controles interno, positivo y negativo. El protocolo ha sido estandarizado a nivel internacional y es ampliamente utilizado desde finales de los años 70.

3.4. Aspectos éticos

Para la toma de muestras biológicas y la aplicación del cuestionario, se obtuvo el consentimiento informado de los participantes (Anexo 2), de acuerdo con lo estipulado en el documento “*Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos*”, adoptado por la 18ª Asamblea Médica Mundial, Helsinki, Finlandia, junio 1964, lo que garantiza la confidencialidad y beneficio para los participantes. Asimismo se hizo entrega de un folleto de información (Anexo 3) a los pacientes para mejorar su información posterior a la explicación verbal y antes de la firma del consentimiento informado.

4. ESTRATEGIA PARA MANEJO DE RESULTADOS

4.1. Plan de Procesamiento

Los datos registrados en el Anexo 4 fueron codificados y tabulados para su análisis e interpretación.

a. Tipo de procesamiento

Manual y computarizado (SPSS v21.0)

b. Operaciones de procesamientos

- Clasificación y conteo a través de una matriz de registro y control
- Tabulación mediante tablas de doble entrada.
- Graficación con diagramas de barras y pastel.

4.2. Plan de análisis

a. Tipo de análisis

Se utilizó un análisis de variables cualitativas mediante la escala de medición nominal.

b. Tratamiento estadístico

Se empleó estadística descriptiva con medidas de tendencia central (promedio) y de dispersión (desviación estándar) para variables continuas; las variables categóricas se presentaron como frecuencias (absolutas y relativas). La comparación de resultados se realizó mediante prueba Chi cuadrado, y se realizó el análisis multivariado mediante la regresión lineal múltiple.



CAPÍTULO III

RESULTADOS

Tabla N° 1

**Distribución según lesiones premalignas y malignas de los pacientes
atendidos**

DIAGNÓSTICO	TOTAL	
	N°	%
Clínicamente sano	38	53.52
Lesión maligna	16	22.54
Tumor benigno	14	19.72
Lesion premaligna	3	4.23
TOTAL	71	100.00

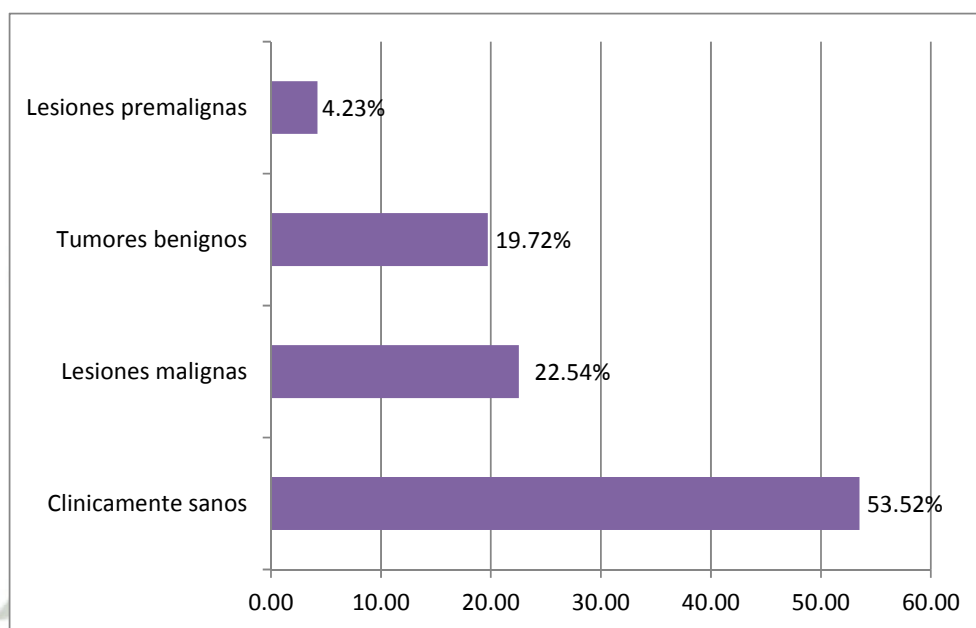
Fuente: Elaboración propia (Matriz de sistematización)

Del total de pacientes atendidos en consulta para identificación de lesiones orales (71 pacientes), se muestra en la **Tabla y Gráfico N° 1** que el 22.54% presentaron lesiones malignas y el 4.23% presentaron lesiones premalignas. Estos pacientes formaron un grupo de 19 CASOS.

Además también se encontraron 53.52% de pacientes clínicamente sanos. De este grupo de pacientes se eligieron 19 CONTROLES, de similar edad y sexo que los CASOS.

Gráfico N° 1

Distribución según lesiones premalignas y malignas de los pacientes atendidos



Fuente: Elaboración propia (Matriz de sistematización)

Tabla N° 2

Distribución de lesiones malignas y premalignas según diagnóstico histopatológico

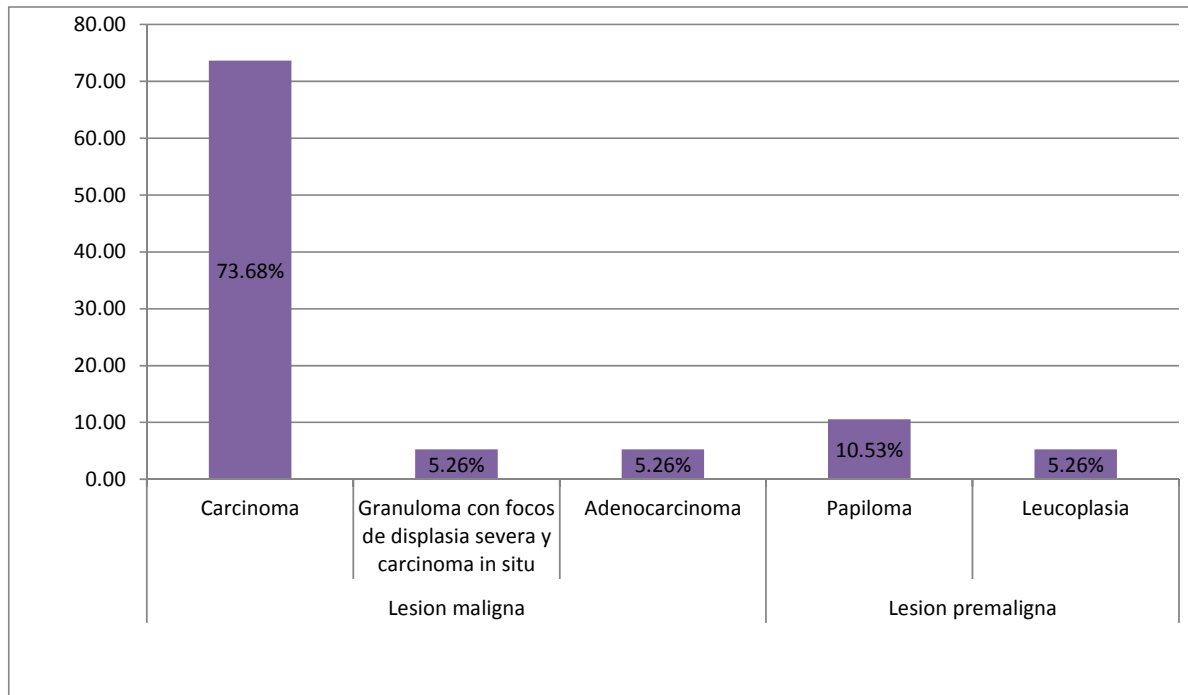
DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO	TOTAL	
	N°	%
Lesión maligna	Carcinoma	14 73.68
	Granuloma con focos de displasia severa y carcinoma in situ	1 5.26
	Adenocarcinoma	1 5.26
Lesión premaligna	Papiloma con focos de displasia moderada/severa	2 10.53
	Leucoplasia	1 5.26
TOTAL	19	100.00

Fuente: Elaboración propia (Matriz de sistematización)

La **Tabla y Gráfico N° 2**, exponen la distribución de las lesiones malignas y premalignas según el diagnóstico histopatológico, observando que las lesiones malignas fueron principalmente carcinomas (73.68%); las lesiones premalignas fueron principalmente papilomas con focos de displasia (10.53%).

Gráfico N° 2

Distribución de lesiones malignas y premalignas según diagnóstico histopatológico



Fuente: Elaboración propia (Matriz de sistematización)

Tabla N° 3

**Distribución de lesiones malignas y premalignas según
características clínicas**

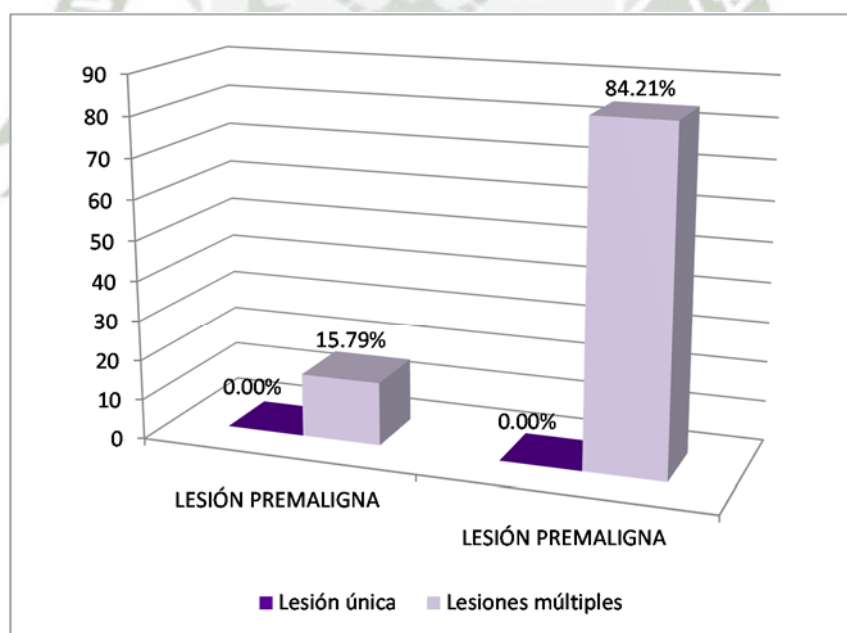
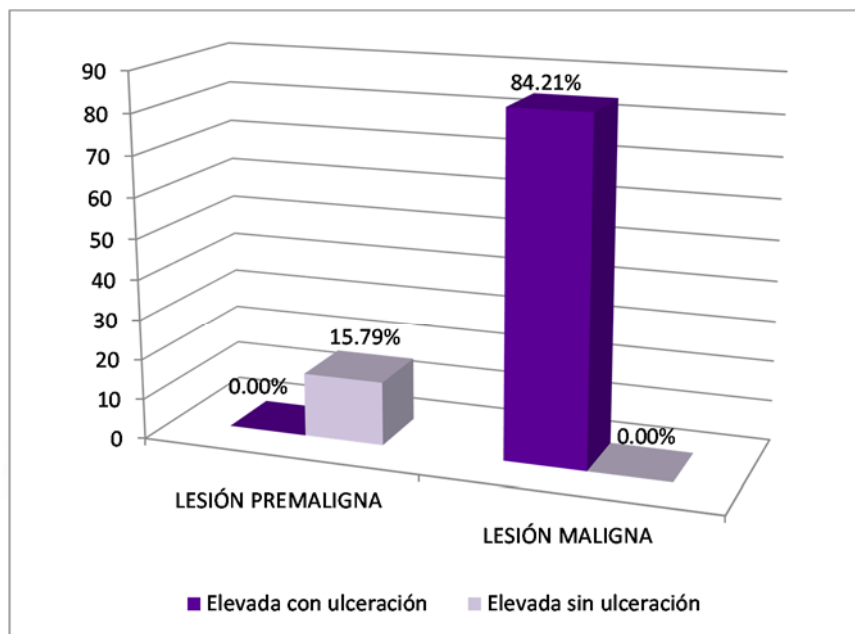
CARACTERÍSTICA CLÍNICA	LESIÓN PREMALIGNA		LESIÓN MALIGNA		TOTAL	
	N°	%	N°	%	N°	%
Elevada con ulceración	0	0.00	16	84.21	16	84.21
Elevada sin ulceración	3	15.79	0	0.00	3	15.79
TOTAL	3	15.79	16	84.21	19	100.00
Lesión única	0	0.00	0	0.00	0	0.00
Lesiones múltiples	3	15.79	16	84.21	19	100.00
TOTAL	3	15.79	16	84.21	19	100.00

Fuente: Elaboración propia (Matriz de sistematización)

La **Tabla y Gráfico N° 3**, muestran la distribución de las lesiones malignas y premalignas según sus características, observando que las lesiones premalignas fueron elevadas y sin ulceración (15.79%) y las lesiones malignas tuvieron ulceraciones en la elevación (84.21%). Además todas las lesiones premalignas y malignas fueron múltiples.

Gráfico N° 3

Distribución de lesiones malignas y premalignas según características clínicas



Fuente: Elaboración propia (Matriz de sistematización)

Tabla N° 4

Distribución de lesiones malignas y premalignas según localización

LOCALIZACIÓN	LESIÓN PREMALIGNA		LESIÓN MALIGNA		TOTAL	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Paladar	0	0.00	5	26.32	5	26.32
Labio	0	0.00	4	21.05	4	21.05
Carrillo	2	10.53	1	5.26	3	15.79
Reborde alveolar	0	0.00	2	10.53	2	10.53
Lengua	1	5.26	1	5.26	2	10.53
Orofaringe	0	0.00	2	10.53	2	10.53
Amígdala	0	0.00	1	5.26	1	5.26
TOTAL	3	15.79	16	84.21	19	100.00

Fuente: Elaboración propia (Matriz de sistematización)

La **Tabla y Gráfico N° 4**, muestran la distribución de las lesiones malignas y premalignas según localización.

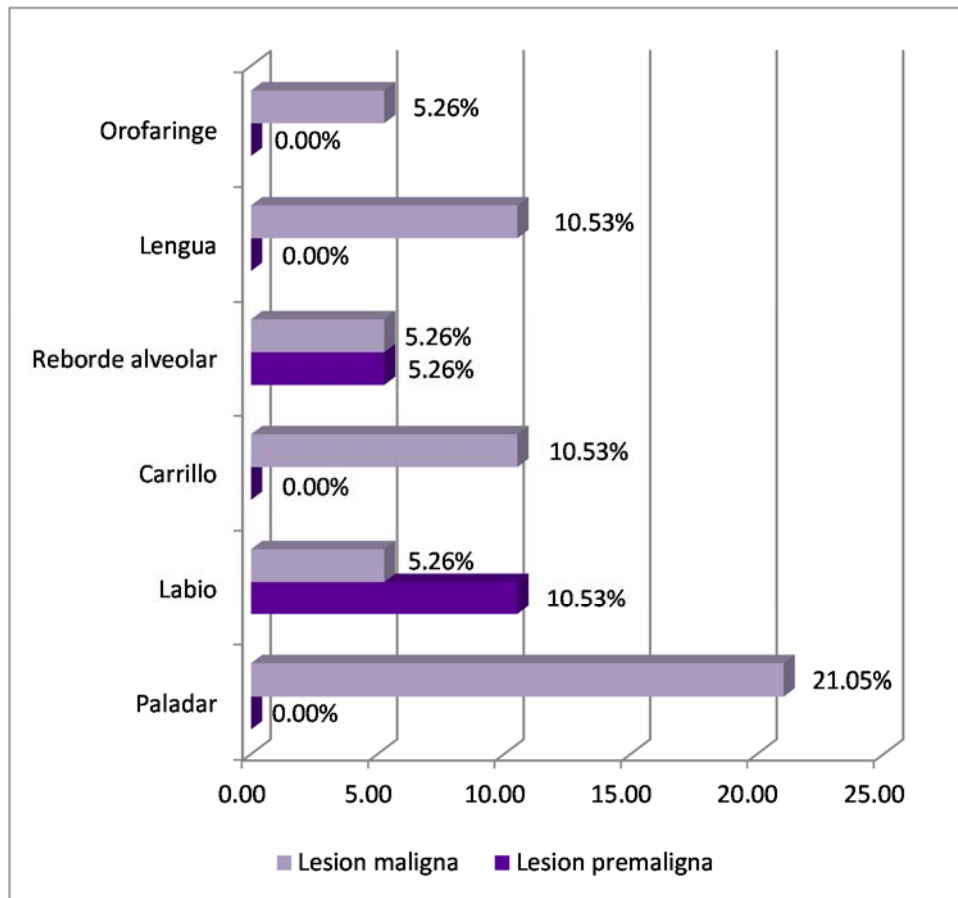
Se identificó el paladar como la localización más frecuente de estas lesiones (26.32%).

Las lesiones premalignas fueron más frecuentes en el carrillo y la lengua. Las lesiones malignas fueron más frecuentes en el paladar y el labio.

La amígdala fue la localización menos frecuente (5.26%).

Gráfico N° 4

Distribución de lesiones malignas y premalignas según localización



Fuente: Elaboración propia (Matriz de sistematización)

Tabla N° 5

Identificación de del Virus Papiloma Humano (VPH) según tipo de lesión presentada

IDENTIFICACIÓN VPH	LESIÓN PREMALIGNA		LESIÓN MALIGNA		TOTAL	
	N°	%	N°	%	N°	%
Presente	2	10.53	1	5.26	3	15.79
Ausente	1	5.26	15	78.95	16	84.21
TOTAL	3	15.79	16	84.21	19	100.00

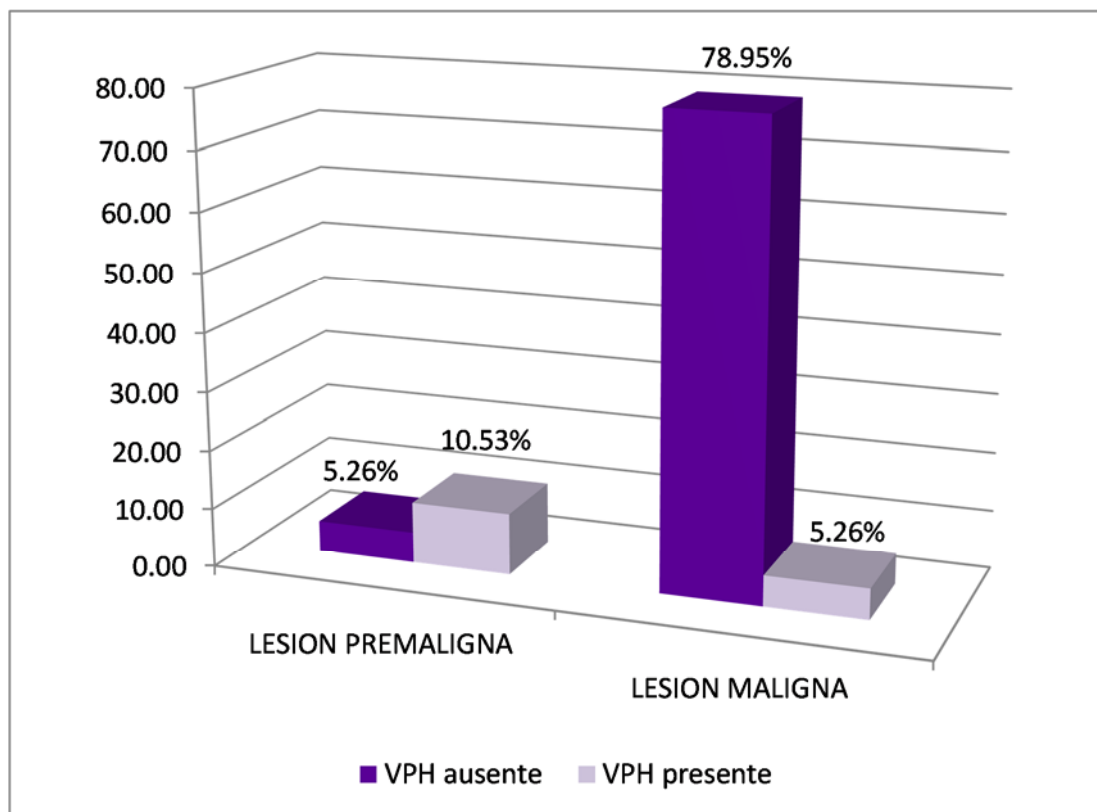
Fuente: Elaboración propia (Matriz de sistematización)

La **Tabla y Gráfico N° 5**, muestran la identificación del VPH según el tipo de lesión presentada por los pacientes, encontrando que en el 10.53% de los pacientes con lesiones premalignas se identificó la presencia de VPH y en el 5.26% de los pacientes con lesiones malignas.

En el 84.21% de los pacientes no se identificó molecularmente el Papiloma Virus Humano.

Gráfico N°5

Identificación de del Virus Papiloma Humano (VPH) según tipo de lesión presentada



Fuente: Elaboración propia (Matriz de sistematización)

Tabla N° 6

Relación entre la identificación de Virus Papiloma Humano (VPH) y el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas

VPH	CASOS			CONTROLES		TOTAL	
	Lesiones premalignas	Lesiones malignas	%	N°	%	N°	%
	N°	N°					
Presente	2	1	5.26	3	15.79	6	15.79
Ausente	1	15	78.95	16	84.21	32	84.21
TOTAL	3	16	84.21	19	100.00	38	100.00

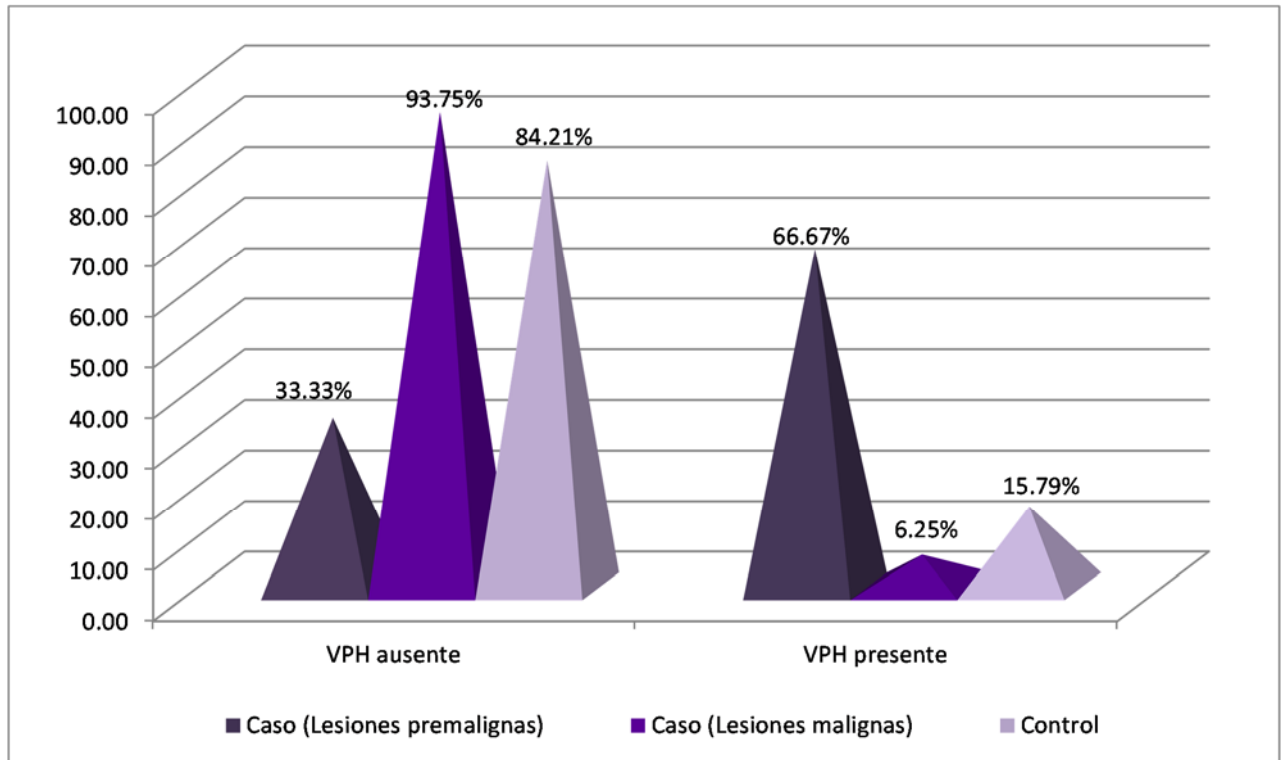
gl = 2
 Chi cuadrado = 6.935
 p= 0.031

Fuente: Elaboración propia (Matriz de sistematización)

La relación entre la identificación de Virus Papiloma Humano (VPH) y el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas, se puede apreciar en la **Tabla y Gráfico N° 6**. Se aprecia que el VPH se identificó en 3 de los 19 controles; cabe mencionar que 2 de éstos fueron mujeres que tenían el diagnóstico de cáncer de cuello uterino (también relacionado a la presencia de los mismos genotipos de VPH). En 2 de los 3 pacientes con lesiones premalignas el VPH ha sido identificado. Al aplicar la prueba estadística del Chi cuadrado se puede comprobar que la presencia de VPH en la mucosa oral se asocia al diagnóstico de lesiones premalignas y malignas de la cavidad oral.

Gráfico N° 6

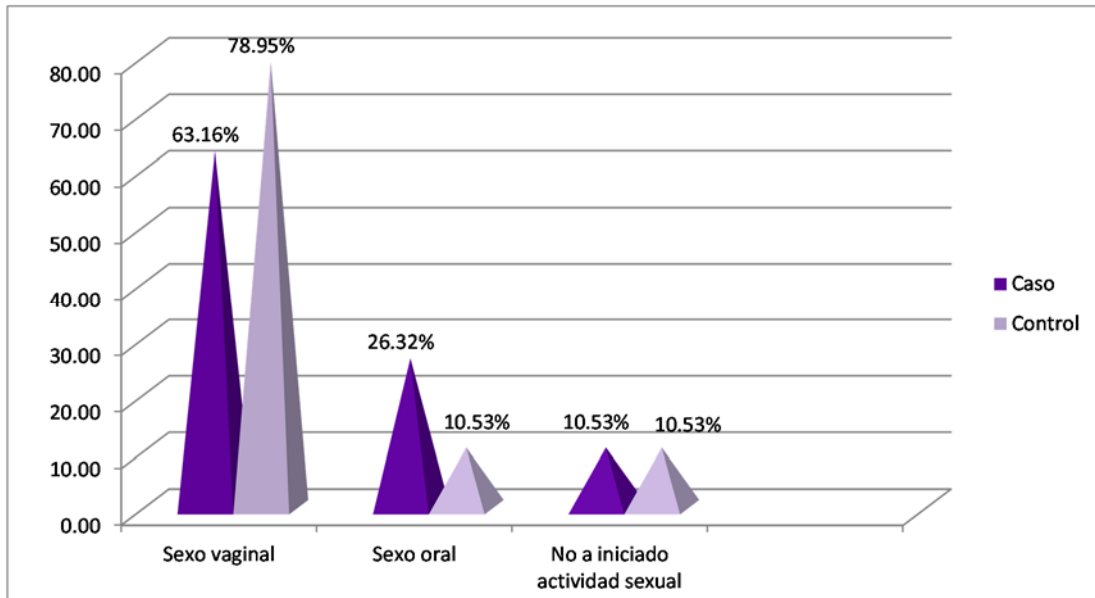
**Relación entre la identificación de Virus Papiloma Humano (VPH)
y el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas**



Fuente: Elaboración propia (Matriz de sistematización)

Tabla N° 7

Relación entre el tipo de práctica sexual más frecuente y el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas



Fuente: Elaboración propia (Matriz de sistematización)

Tabla N° 8

**Relación entre el consumo de tabaco y el diagnóstico de lesiones
premalinas y malignas de cavidad oral**

CONSUMO DE TABACO	CASOS			CONTROLES		TOTAL	
	Lesiones premalinas	Lesiones malignas	%	N°	%	N°	%
	N°	N°					
No consume	2	5	36.84	17	89.47	24	63.16
< 1 paquete al año	0	7	36.84	1	5.26	8	21.05
≥ 1 paquete al año	1	4	26.32	1	5.26	6	15.79
TOTAL	3	16	100.00	19	100.00	38	100.00

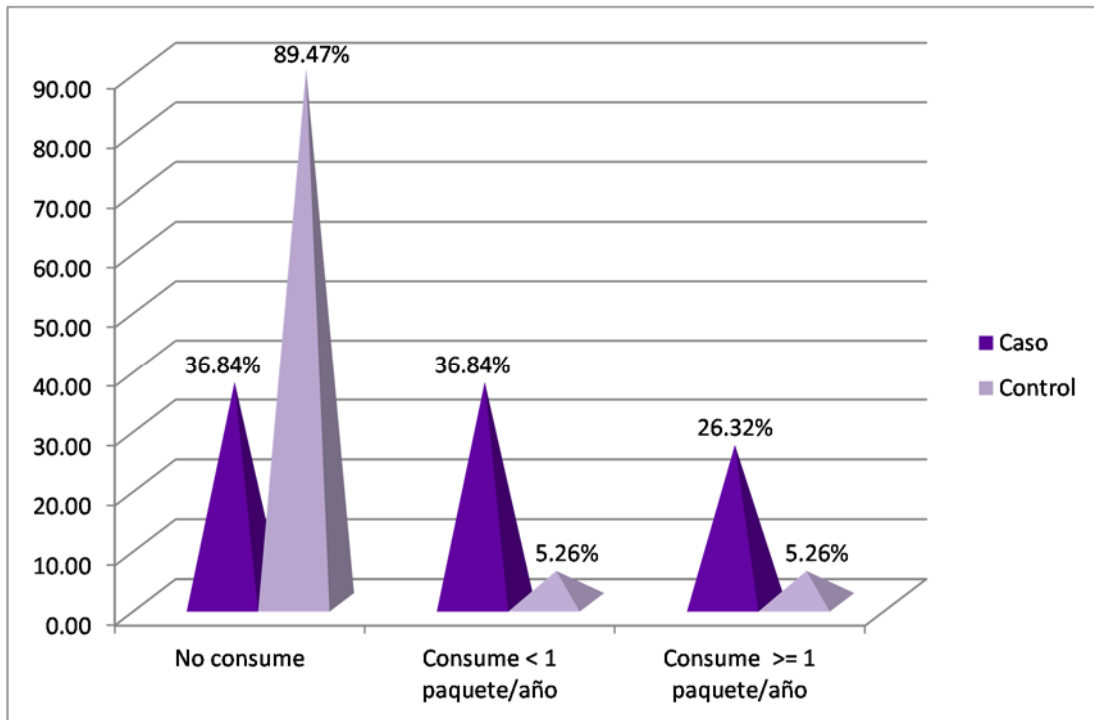
gl 2
Chi cuadrado 14.243
p= 0.007

Fuente: Elaboración propia (Matriz de sistematización)

La **Tabla y Gráfico N° 8**, muestra la distribución de los pacientes según el consumo de tabaco. Encontrando que no consumen ni consumieron tabaco en los últimos 20 años el 36.84% de los CASOS en comparación del 89.47% de los CONTROLES. Al aplicar la prueba estadística del Chi cuadrado se puede comprobar que el consumo de tabaco se asocia al diagnóstico de lesiones premalignas y malignas en la cavidad oral.

Gráfico N° 8

**Relación entre el consumo de tabaco y el diagnóstico de lesiones
premalinas y malignas de cavidad oral**



Fuente: Elaboración propia (Matriz de sistematización)

Tabla N° 9

Relación entre el consumo de alcohol y el diagnóstico de lesiones premalinas y malignas de cavidad oral

CONSUMO DE ALCOHOL	CASOS			CONTROLES		TOTAL	
	Lesiones premalignas	Lesiones malignas	%	N°	%	N°	%
	N°	N°					
No consume	2	9	57.89	15	78.95	26	68.42
< 40 gramos/día	1	4	26.32	4	21.05	9	23.68
≥ 40 gramos/día	0	3	15.79	0	0.00	3	7.89
TOTAL	3	16	100.00	19	100.00	38	100.00

gl 2
Chi cuadrado 4.966
p= 0.291

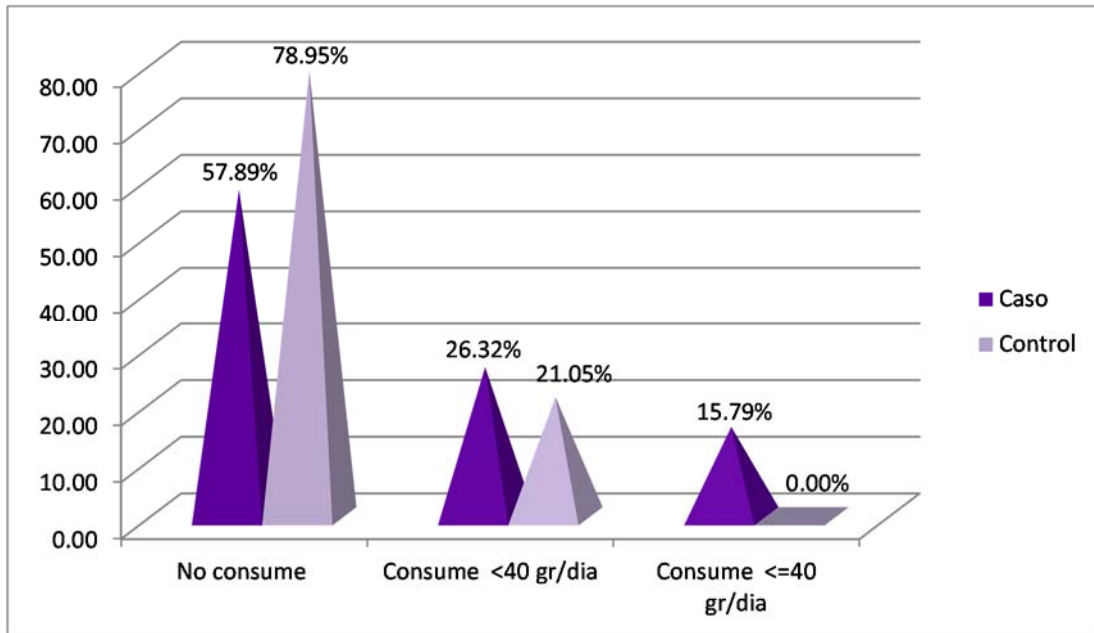
Fuente: Elaboración propia (Matriz de sistematización)

La distribución de los pacientes según el consumo de alcohol, se muestra en la **Tabla y Gráfico N° 9**. Se aprecia que el 57.89% de los CASOS no consumen alcohol mientras que dentro del grupo de CONTROL el 78.95% no consume alcohol.

Al aplicar la prueba estadística del Chi cuadrado se puede comprobar que el consumo de alcohol no se asocia al diagnóstico de lesiones premalignas y malignas en la cavidad oral, en este grupo de estudio.

Gráfico N° 9

Relación entre el consumo de alcohol y el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral



Fuente: Elaboración propia (Matriz de sistematización)

Tabla N° 10

Relación entre el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas, la presencia de Papiloma virus humano y otros factores como el consumo de tabaco y alcohol

	B	gl	p	Interpretación
Factor de riesgo estudiado				
VPH presente (lesiones premalignas)	-4.345	1	0.038	La presencia de VPH se relaciona con el diagnóstico de lesiones premalignas
Cofactores				
Consumo de tabaco (lesiones malignas y premalignas)	-1.962	1	0.010	Además, el consumo de tabaco se relaciona con el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas en la cavidad oral
Consumo de alcohol (lesiones malignas y premalignas)	0.054	1	0.968	El consumo de alcohol no se relaciona con el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas en la cavidad oral

Fuente: Elaboración propia (Matriz de sistematización)

En la Tabla N° 10, se muestra un resumen de la aplicación de la regresión lineal múltiple en la que se intenta conocer la relación que tiene la identificación de VPH con la presencia de lesiones premalignas y malignas, cuando además se tienen presentes factores como el consumo de tabaco y consumo de alcohol.

Se apreció que la identificación de VPH se relaciona con la presencia de lesiones premalignas ($p=0.038$). El consumo de tabaco se relaciona con el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral ($p=0.010$). El consumo de alcohol, de manera independiente, no se asocia a lesiones de cavidad oral ($p=0.968$).

DISCUSIÓN

El presente estudio buscó establecer la relación entre del virus del papiloma humano con la presencia de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral en pacientes del Servicio de Oncología del Hospital III Goyeneche, inicialmente determinando la frecuencia de presentación de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral y determinando la frecuencia de detección de Virus del Papiloma Humano en la mucosa oral de los pacientes, para luego identificar la relación entre la presencia del Virus del Papiloma Humano con la presencia de de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral.

En la presente investigación se encontró que del total de pacientes atendidos en consulta para identificación de lesiones orales (71 pacientes), el 22.54% presentaron lesiones malignas y el 4.23% presentaron lesiones premalignas.

Vargas, asegura que las enfermedades que comprometen la mucosa oral y la orofaringe son, por lo general, accesibles a la inspección visual directa y, por tanto, fáciles de reconocer y pesquisar en un examen clínico de rutina. De especial importancia clínica es el enorme grupo de trastornos inflamatorios de que puede ser objeto esta mucosa, especialmente aquellas alteraciones que representan lesiones premalignas o estadios incipientes de procesos malignos. Existen también múltiples anomalías o enfermedades de la mucosa oral de las más diversas causas. Según la frecuencia se presentan principalmente trastornos inflamatorios de la mucosa aerodigestiva (50%), enfermedades infecciosas de la mucosa aerodigestiva (39%), trastornos mediados por

procesos inmunitarios (5%), lesiones tumorales benignas (4%), lesiones premalignas o cancer (2%)³².

Para muchos autores la identificación clínica de lesiones premalignas y malignas debe comprobarse a través de un examen de histopatología, debido a que no basta el diagnóstico de una lesión probablemente maligna dado que las tumoraciones de aparente aspecto benigno o lesiones de aspecto premaligno presentan una elevada frecuencia de displasia epitelial (40% son carcinomas in situ y 5% invasores), aún en ausencia de los signos clínicos específicos de la malignización^{33, 34}.

Las lesiones malignas fueron principalmente carcinomas (73.68%) y las lesiones premalignas fueron principalmente papilomas con focos de displasia (10.53%), debiendo comentar que las lesiones premalignas se presentaron clínicamente como papilomas ulcerados de aparente caracterización benigna.

La distribución de las lesiones malignas y premalignas según sus características, mostró que las lesiones premalignas fueron elevadas y sin ulceración (15.79%) y las lesiones malignas tuvieron ulceraciones en la elevación (84.21%). Además todas las lesiones premalignas y malignas fueron múltiples. En su estudio clínico patológico, Guzmán y Col identificaron las características de lesiones premalignas y cáncer de cavidad oral, describiéndolas como lesiones de macroscópicas del epitelio oral pudiendo ser máculas, placas, pápulas elevadas o planas, nódulos o vesículas entre

³² Vargas A. Manual de patología quirúrgica de la vía aerodigestiva superior. Pontificia Universidad Católica de Chile. 2010. Disponible en <http://escuela.med.puc.cl/publ/manualcabezacuello/patologiaquirurgicabenigna.html>

³³ Mehta FS, Daftary DK, Shroff BC, Sanghvi LD. Clinical and histological study of oral leukoplakia in relation to habits. A five-year-follow-up. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 2009; 28(3):372-88.

³⁴ Hernández Palacios RD, Solís M, Galves G, Rios J, Gómez Y. Citología exfoliativa y biopsia en la cavidad bucal. Zaragoza: UNAM, 2010:65-9.

otras presentadas como lesiones únicas o múltiples³⁵, de manera similar a lo descrito en el presente estudio.

Según su localización, se mostró que el paladar fue la localización más frecuente de las lesiones malignas y premalignas (26.32%). Las lesiones premalignas fueron más frecuentes en el carrillo y la lengua. Las lesiones malignas fueron más frecuentes en el paladar y el labio. La amígdala fue la localización menos frecuente (5.26%).

En relación con las localizaciones más frecuentes, aunque existen algunas contradicciones, las localizaciones más frecuentemente reportadas son la lengua o el labio inferior. En otros estudios como el de León, se identificó como localización más frecuente la lengua (25 %) y luego labio inferior, carrillos, comisura labial, espacio retromolar y paladar (12,5 % cada uno)⁴. Encontrando cierta contradicción con el presente estudio en el que se encontró más frecuentemente afección del paladar.

La identificación de del Virus Papiloma Humano (VPH) según tipo de lesión la presentada demostró que en el 10.53% de los pacientes con lesiones premalignas se identificó la presencia de VPH y en el 5.26% de los pacientes con lesiones malignas y a pesar de que en el 84.21% de los pacientes no se identificó molecularmente el Papiloma Virus Humano en cavidad oral, se pudo observar que en 2 de los 3 pacientes con lesiones premalignas el VPH fue identificado. Al aplicar la prueba estadística del Chi cuadrado se puede comprobar que la presencia de VPH en la mucosa oral se asocia al diagnóstico de lesiones premalignas de la cavidad oral (Chi cuadrado 6.935; $p=0.031$).

³⁵ Guzmán G, Pablo, Villaseca H, Miguel, Antonio P, Lilia, Araya O, Juan, Aravena M, Paola, Cravero P, Carla, Pino M, Pilar, & Roa S, Juan.. Carcinoma epidermoide oral y orofaríngeo: Estudio clínico-patológico. Revista chilena de cirugía, 2011. 63(3), 250-256.

Cabe mencionar, que dentro de los pacientes tomados como control, se identificó VPH en tres pacientes; dos de los cuales eran mujeres con diagnóstico de cáncer de cuello uterino; y como se conoce este tipo de cáncer también se relaciona a la infección por este virus.

La presencia simultánea de infección por VPH en mucosa bucal y genital ha sido probada en 1998 en la Universidad de Roma, donde se realizó un estudio sobre 16 pacientes y se tomaron muestras de cavidad bucal, cuello uterino, área vulvar y vaginal éstas se sometieron a estudios con técnicas de PCR, los resultados mostraron la presencia simultánea de infección en mucosa genital y cavidad bucal en 9 pacientes, y se encontró constancia de tipo específico del VPH en 7 de los 16 pacientes³⁶.

Algunos autores sugieren que los VPH de alto riesgo asociados a cánceres de cavidad oral, pueden ser similares pero no idénticos a los VPH asociados al cáncer de cérvix. Se conoce que algunos subtipos de VPH16 asociados a los carcinomas de cabeza y cuello tienen unas alteraciones características en la región del promotor/realizador que los hace particularmente activos en los queratinocitos orales³⁷.

El VPH tiene una frecuencia entre 36% y el 74% de la población mundial, y cada día se diagnostica un gran número en cualquier grupo etario. En el Perú no se cuenta con estudios de prevalencia de infección por el VPH, pero las estimaciones disponibles de la OMS/Institut Català d' Oncologia publicadas en el "Summary report on HPV and cervical cancer statistics in Peru 2010" asignan una prevalencia de infección por VPH del 7.5% en mujeres de la población general y una prevalencia de los subtipos 16 y 18

³⁶ Sand L, Jalounli J, Larsson PA, Hirsch JM. "Human papilloma viruses in oral lesions" Department of Oral & Maxillofacial Surgery, Faculty of Odontology, Goteborg University, Sweden. *Anticancer Res.* 2000;20(2B):1183-1188.

³⁷ D'costa J, Saranath D, Dedhia P, Sanghvi V, Mehta A. Detection of HPV-16 genome in human oral cancers and potentially malignant lesions from India. *Oral Oncol.* 2008;34:413-420.

del 3.8%. Asimismo, la prevalencia estimada de los subtipos 16 y 18 de VPH en mujeres con cáncer fue de 68.3%³⁸.

Por otro lado, la conducta sexual también se ha reportado como un factor de riesgo importante asociado con la presencia de VPH en el cáncer de la cavidad bucal y bucofaringeo, siendo el comportamiento sexual y el número de parejas sexuales uno de los principales factores de riesgo (RR 3.1); otro aspecto de tipo sexual que representa otra probable vía importante de infección por VPH es la práctica de relaciones oro-genitales (RR 3.4)^{39, 40, 41}. En este sentido, el presente estudio presentó similares resultados donde se observó que las prácticas sexuales orales fueron más frecuentes en el grupo de pacientes con lesiones premalignas y malignas (26.32%) frente al 10.53% de los pacientes clínicamente sanos. Al aplicar la prueba estadística del Chi cuadrado se pudo comprobar que las prácticas sexuales orales se asocian al diagnóstico de lesiones premalignas y malignas en la cavidad oral.

El VPH como factor de riesgo asociado a cáncer de la cavidad bucal ha sido demostrado por datos epidemiológicos que señalan una diferencia entre los casos de con cáncer VPH positivos y negativos. Estos estudios han demostrado que los carcinomas con VPH negativos se encuentran asociados con el consumo de tabaco y alcohol. Por lo tanto en el presente estudio también se postuló que la infección por

³⁸ WHO/ICO Information Centre on HPV and Cervical Cancer (HPV Information Centre). Summary report on HPV and cervical cancer statistics in Peru.(2010). http://www.who.int/hpvcentre/statistics/dynamic/ico/country_pdf/PER.pdf.

³⁹D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, Pawlita M, Fakhry C, Koch WM, Westra WH, Gillison ML. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med.* 2007 May 10;356(19):1944-56.

⁴⁰Kreimer AR, Bhatia RK, Messegue AL, González P, Herrero R, Giuliano AR. Oral human papillomavirus in healthy individuals: a systematic review of the literature. *Sex Transm Dis.* 2010 Jun;37(6):386-91. doi: 10.1097/OLQ.0b013e3181c94a3b.

⁴¹Millan R et al. Conocimiento actual sobre el virus papiloma humano (VPH) y su relación en la cavidad bucal y en el periodonto. *Acta odontol. Venez.* 2009, vol.44, n.1:pp. 114-121

VPH de alto riesgo puede actuar sinérgicamente con otros co-factores como el tabaco y el alcohol en el desarrollo de un carcinoma y lesiones premalignas, la relación entre consumo de tabaco, alcohol y presencia de lesiones en cavidad oral. Se observó que los pacientes que no consumen ni consumieron tabaco en los últimos 20 años presentaron lesiones premalignas y cáncer de cavidad oral en menor proporción, aplicando la prueba estadística del Chi cuadrado se pudo comprobar que el consumo de tabaco se asoció al diagnóstico de lesiones premalignas y malignas en la cavidad oral ($p=0.007$), mientras que no se pudo comprobar la misma relación con el consumo de alcohol ($p=0.291$).

Finalmente, al modelar una situación real, en la que una persona no sólo está expuesta a un factor de riesgo, sino a varios de ellos (infección por VPH, consumo de alcohol y tabaco, entre otros), se pudo apreciar que el VPH se relaciona con la presencia de lesiones premalignas ($p=0.038$), junto con el consumo de tabaco que se relaciona además con el diagnóstico de lesiones malignas de cavidad oral ($p=0.010$), mientras que, en el presente estudio, el consumo de alcohol, de manera independiente, no se asocia a lesiones de cavidad oral ($p=0.968$). Sin embargo numerosos estudios internacionales apoyan la hipótesis que el alcohol si se relaciona con las lesiones de cavidad oral, siendo necesario identificar mejor el consumo de alcohol en la población estudiada.

CONCLUSIONES

- PRIMERA: Se identificó el VPH en el 66.66% de pacientes con lesiones premalignas. Al aplicar la prueba estadística del Chi cuadrado se comprobó que la presencia de VPH en la mucosa oral se asocia al diagnóstico de lesiones premalignas y malignas de la cavidad oral.
- SEGUNDA: Las lesiones malignas y premalignas atendidas en el Servicio de Oncología del Hospital III Goyeneche, representan el 26.76% del total de atenciones de cabeza y cuello en Consulta Externa. Las lesiones diagnosticadas fueron principalmente carcinomas y papilomas con focos de displasia. Las lesiones premalignas fueron elevadas y sin ulceración (15.79%), más frecuentemente localizadas en el carrillo y la lengua; las lesiones malignas tuvieron ulceraciones y se localizaron frecuentemente en el paladar y el labio. Todas las lesiones premalignas y malignas fueron múltiples.
- TERCERA: La presencia de VPH se identificó en los pacientes con lesiones premalignas (10.53%) y en los pacientes con lesiones malignas (5.26%). El 84.21% del total de pacientes examinados no presentó VPH.
- CUARTA: Los cofactores como relaciones sexuales orales y consumo de tabaco presentaron una relación estadísticamente significativa con la presentación de lesiones de cavidad oral, tanto en el análisis de asociación individual como en el análisis multivariado.

RECOMENDACIONES

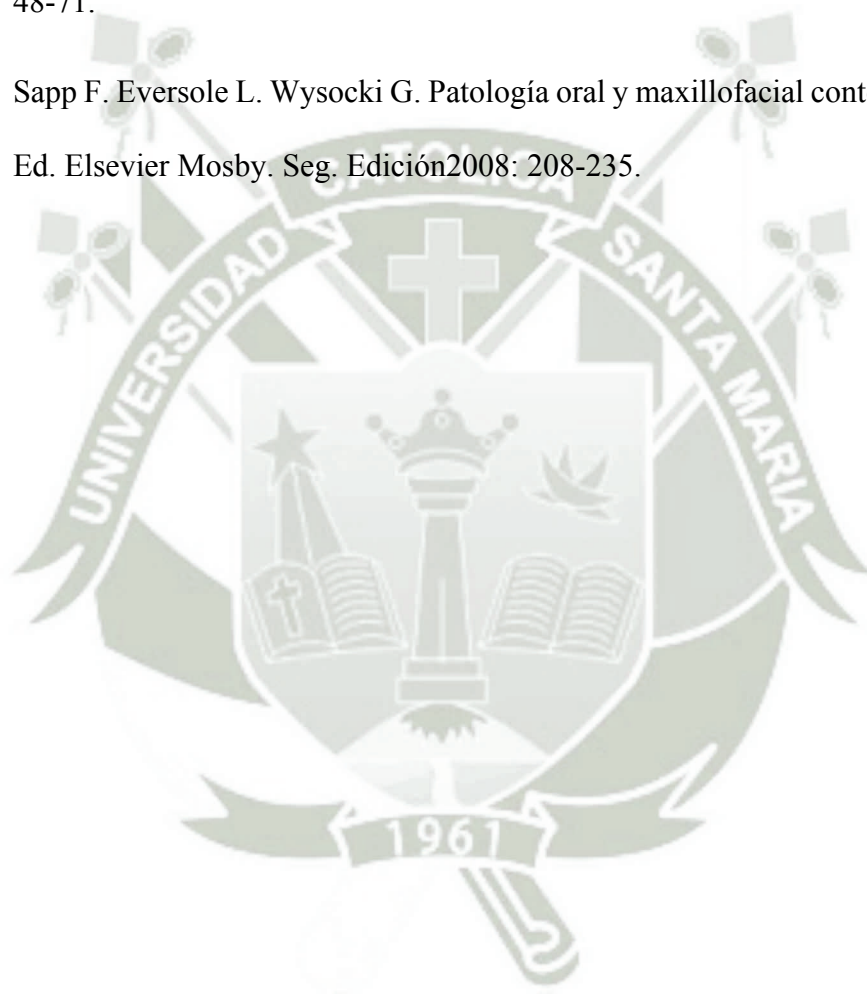
1. Que, la Universidad Católica Santa María incentive la investigación en este campo, para que se tomen poblaciones más grandes que permitan generalizar los resultados y hacer llegar éstos a los tomadores de decisiones en salud de la región y que se logren implementar políticas regionales de prevención de cáncer de cavidad oral.
2. Que la Universidad Católica Santa María pueda iniciar un proyecto de implementación de un laboratorio de biología molecular que permita realizar exámenes complejos como el PCR RFLP (Reacción en cadena de polimerasa con polimorfismo en el tamaño de los fragmentos de restricción), dada la importancia que representa para la prevención secundaria de diferentes tipos de cáncer asociados a la presencia de virus papiloma humano (VPH). Cumpliendo su rol de investigación y de proyección hacia la sociedad.
3. Que a nivel de pregrado se aborde con más énfasis la prevención y diagnóstico de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral en el examen clínico de rutina, dado que se ha observado una alta frecuencia de estas lesiones.
4. Que el Ministerio de salud implemente estrategias para que, los hospitales puedan realizar la prueba molecular de VPH en los pacientes con riesgo de desarrollar cáncer de cavidad oral (fumadores y con prácticas sexuales de riesgo) ya que, como se ha comprobado, la infección por el VPH, se asocia con éstos cofactores incrementando el riesgo. Así mismo que la identificación molecular se realice tanto en hombres como en mujeres.

5. Que multisectorialmente (Ministerio de Salud, Ministerio de Educación y Universidades) se trabaje en la información y educación de toda la población promoviendo estilos de vida saludables que incluyan el no consumo de tabaco y las prácticas sexuales saludables; ya que estos factores de riesgo se asocian a la presencia de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral y otros tipos de cáncer y enfermedades.



BIBLIOGRAFIA

1. Kumar V. Abbas A. Fausto N. Patología estructural y funcional. Ed: Elsevier Saunders. 7ma Edición: 2007: 273-346.
2. Pinborg, J. Cáncer y Precáncer Bucal. La Habana: Ed Ciencia y Técnica, 2004: 48-71.
3. Sapp F. Eversole L. Wysocki G. Patología oral y maxilofacial contemporánea. Ed. Elsevier Mosby. Seg. Edición 2008: 208-235.



HEMEROGRAFÍA

1. Bologna R, Castañeda R, Molina N, Pérez E. Virus del papiloma humano y su asociación con cáncer bucal. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2012; 44 (2): 147-153
2. Chang F, Syrjanen S, Kellokoski J, Syrjanen K. Human papillomavirus (VPH) infections and their associations with oral disease. *J Oral Pathol Med* 2011;20:305-17
3. Oda D, Bigler L, Lee P, Blanton R. VPH immortalization of human oral epithelial cells: a model for carcinogenesis. *Exp Cell Res* 2009;226:164-9
4. Cruz IB, Snijders PJ, Steenbergen RD, Meijer CJ, Snow GB, Walboomers JM, et al. Age-dependence of human papillomavirus DNA presence in oral squamous cell carcinomas. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 2010;32B:55-62.
5. Dillner J, Knekt P, Schiller JT, Hakulinen T. Prospective seroepidemiological evidence that human papillomavirus type 16 infection is a risk factor for oesophageal squamous cell carcinoma. *BMJ* 2008;311:1346.
6. Mehta FS, Daftary DK, Shroff BC, Sanghvi LD. Clinical and histological study of oral leukoplakia in relation to habits. A five-year-follow-up. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 2009; 28(3):372-88.
7. Hernández Palacios RD, Solis M, Galves G, Rios J, Gómez Y. Citología exfoliativa y biopsia en la cavidad bucal. Zaragoza: UNAM, 2010:65-9.

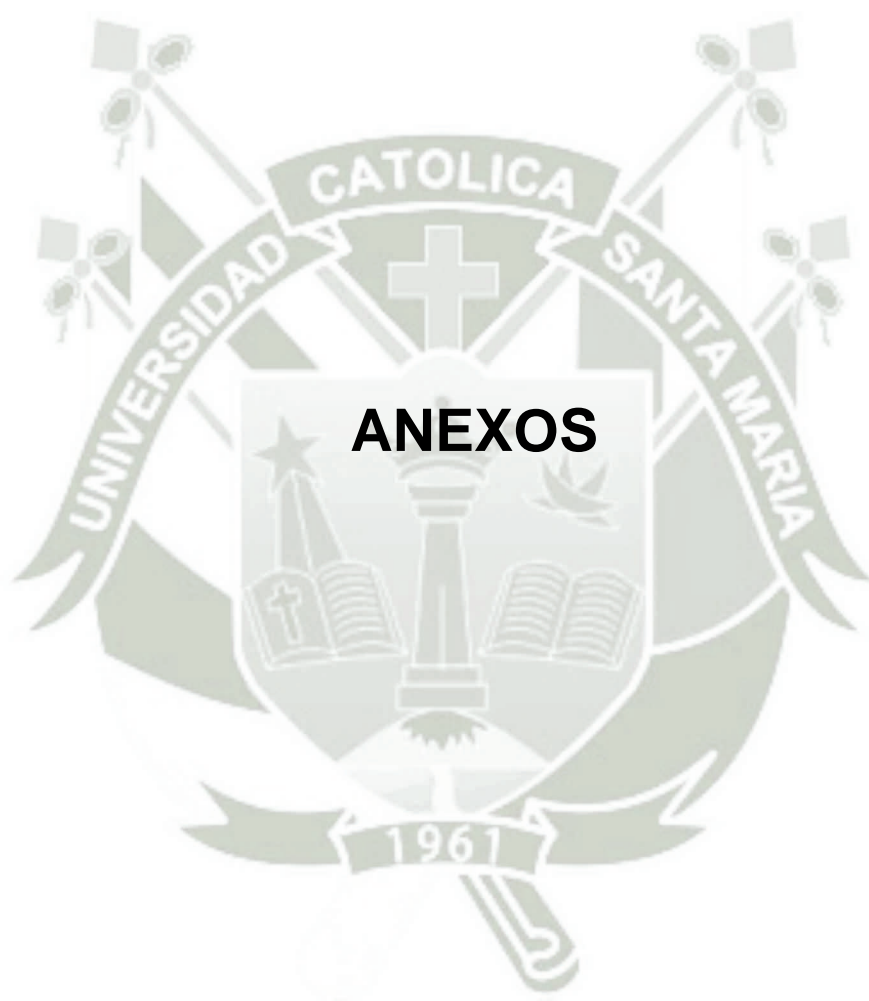
8. León E; Díaz, MC; et al. Pesquizaje de lesiones premalignas y malignas en la cavidad bucal. Rev Cubana Med Gen Integr. Mayo-Junio 2011 V 12 N 3.
9. Ariosa, J; Valentín F; Rodríguez G; Rodríguez J. Cáncer bucal. Estudio de cinco años, Rev. Médica Electrónica, 2011; 28 (6).
10. Guzmán G, Pablo, Villaseca H, Miguel, Antonio P, Lilia, Araya O, Juan, Aravena M, Paola, Cravero P, Carla, Pino M, Pilar, & Roa S, Juan.. Carcinoma epidermoide oral y orofaríngeo: Estudio clínico-patológico. Revista chilena de cirugía, 2011. 63(3), 250-256.
11. Sand L, Jalounli J, Larsson PA, Hirsch JM. "Human papilloma viruses in oral lesions" Department of Oral & Maxillofacial Surgery, Faculty of Odontology, Goteborg University, Sweden. Anticancer Res. 2000;20(2B):1183-1188.
12. D'costa J, Saranath D, Dedhia P, Sanghvi V, Mehta A. Detection of VPH-16 genome in human oral cancers and potentially malignant lesions from India. Oral Oncol. 2008;34:413-420.
13. D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, Pawlita M, Fakhry C, Koch WM, Westra WH, Gillison ML. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. N Engl J Med. 2007 May 10;356(19):1944-56.
14. Kreimer AR, Bhatia RK, Messeguer AL, González P, Herrero R, Giuliano AR. Oral human papillomavirus in healthy individuals: a systematic review of the literature. Sex Transm Dis. 2010 Jun;37(6):386-91. doi: 10.1097/OLQ.0b013e3181c94a3b.

15. Millan R et al. Conocimiento actual sobre el virus papiloma humano (VPH) y su relación en la cavidad bucal y en el periodonto. Acta odontológica. Venezuela. 2009, vol.44, n.1 : pp. 114-121.
16. García et al. VPH y los Carcinomas de Cavidad Bucal y Bucofaringe. Cancerología 4 (2009): 181-191
17. Rivero CJ. Importancia de la tipificación del virus papiloma humano (VPH). Rev Venez Oncol. 2012;14(3):175-177.



INFORMATOGRAFÍA

1. Arechavaleta, E. Factores de Riesgo de Lesiones Premalignas y Malignas de la Cavidad Bucal. Tesis EGI. Hospital General Santiago, 2012. Disponible en <http://www.sld.cu /galerias/pdf/uvs/saludbucal/riesgolesion.pdf>.
2. Cong T, Markham C, Wallis M, Dolan M. Examining the Association between Oral Health and Oral VPH Infection. Disponible en <http://cancerpreventionresearch.aacrjournals.org/content/early/2013/08/20/1940-6207.CAPR-13-0081.abstract>
3. Rodríguez, E; Osorio, M; Morales R. Comportamiento de las lesiones bucales y sus factores de riesgo. Facultad Finlay Albarrán, 2012. Disponible en <http://www.ucmh.sld.cu /rhab/articulorev10/elenita.htm>
4. Vargas A. Manual de patología quirúrgica de la vía aerodigestiva superior. Pontificia Universidad Católica de Chile. 2010. Disponible en <http://escuela.med.puc.cl/publ/anualcabezacuello/patologiaquirurgicabenigna.html>
5. WHO/ICO Information Centre on HPV and Cervical Cancer (HPV Information Centre). Summary report on HPV and cervical cancer statistics in Peru.(2010). http://www.who.int/hpvcentre/statistics/dynamic/ico/country_pdf/PER.pdf.



ANEXO 1
FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

N° de ficha: _____

1. Presencia de lesiones en cavidad oral

1.1. Hallazgo clínico

- a. No se observan lesiones premalignas ni malignas
 b. Lesiones benignas
 c. Lesiones premalignas d. Lesiones malignas

Características de la lesión

Forma

- a. Lesión elevada b. Plana c. Ulcerada
 d. Pediculada e. Sesil f. Otras _____

Cantidad

- a. Lesión única b. Lesiones múltiples

Localización de la lesión

- a. Labio b. Reborde alveolar c. Carrillo
 d. Paladar duro blando e. Lengua f. Amígdala
 g. Orofaringe h. Otro _____

1.2. Hallazgo histopatológico

- a. Leucoplasia _____
 b. Displasia leve _____
 c. Displasia moderada _____
 d. Displasia severa _____
 e. Carcinoma in situ _____
 f. Carcinoma infiltrante _____
 g. Adenocarcinoma _____
 h. Otros _____

2. Identificación de Papiloma Virus Humano (VPH)

2.1. Presencia

- a. Presente b. Ausente

3. Prácticas sexuales

- a. Sexo vaginal b. Sexo anal c. Sexo oral

4. Consumo de tabaco (paquete/año)

N° de paquetes consumidos al día = _____ = paquetes/año

N° de años que ha fumado

- a. ≥ 1 paquete/año b. < 1 paquete/año

5. Consumo de alcohol (gramos/día)

Vaso de cerveza 9g Total bebidas consumidas por día = _____

Copa de vino 21g Total bebidas consumidas por día = _____

Vaso de whisky, vodka, ron, pisco, similares 24g Total bebidas consumidas por día = _____

= gramos/día

- a. ≥ 40 g/día

- b. < 40 g/día

Edad: _____ Años

Sexo: a. Varón b. Mujer

ANEXO 2

FORMATO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Fecha.....

Yo.....**identificado con DNI N°**
.....**he sido informado(a) por la Srta. Any Zarela Vásquez Zea**
acerca de la participación en el estudio “Identificación molecular del Virus del Papiloma Humano y su relación con la presencia de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral en pacientes del Servicio de Oncología del Hospital III Goyeneche, Arequipa 2009-2013”

El procedimiento que me realizarán consiste en un cepillado de la boca para obtener muestras que serán sometidas a estudios para detectar virus del papiloma humano.

Me ha informado que el procedimiento no produce dolor, no tiene riesgos ni complicaciones, y tiene la ventaja de no ser invasivo, y con el estudio podré saber si tengo infección por el virus del papiloma humano en la boca. He realizado las preguntas que consideré oportunas, todas las cuales han sido absueltas y con repuestas que considero suficientes y aceptables.

Por lo tanto, en forma conciente y voluntaria doy mi consentimiento para que se me realice un cepillado de la boca para toma de muestras, teniendo pleno conocimiento de que no existen riesgos ni complicaciones, pero sí ventajas y beneficios del procedimiento que podrían desprenderse de dicho acto.

.....
Firma del paciente o responsable legal

Nombre.....

DNI.....

.....
Firma de la investigadora

Nombre.....

DNI.....

ANEXO 3 TRIFOLIADO INFORMATIVO

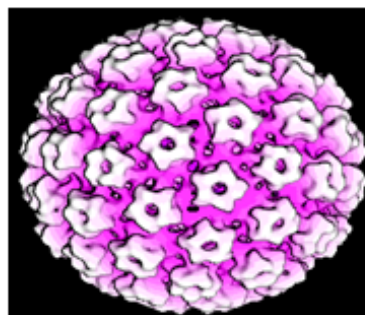
El estudio del virus se realiza tomando una muestra de las células del cuerpo. En este caso, serán sólo células de la boca, que se retiran a través de un cepillado de la boca con un aplicador especial



No se tomará muestras de sangre ni de otro tipo, y el procedimiento no provoca dolor ni incomodidad.

Luego las células obtenidas con el cepillado serán analizadas por métodos de laboratorio para identificar el ADN del virus, sacando copias del mismo muchas veces (amplificación), con lo que se identificarán partes de los genes que son características de los virus del papiloma que producen lesiones en boca.

Con este procedimiento se sabrá si es o no portador del virus, y de qué tipo es, para poder relacionar estos resultados con la presencia de tumores en la cavidad oral



Para mayor información

Acercarse al Servicio de Oncología del Hospital III Goyeneche

Av. Goyeneche S/N, Arequipa

- Virus del papiloma humano
<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/hpv.html>

Universidad Católica
de Santa María



BOLETIN INFORMATIVO



Identificación molecular del Virus Papiloma Humano y su relación con la presencia de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral en pacientes del Servicio de Oncología del Hospital III Goyeneche, Arequipa, 2013

Trabajo de Investigación aprobado con Proveído de autorización N° 153-2013-GRA/GRS/GR-HG-DG-OADI-C.-

ANY ZARELA VÁSQUEZ ZEA

Arequipa – Perú

2013

<p>PRESENTACION AL PACIENTE:</p> <p>Este es un estudio que permitirá conocer si Usted tiene Virus Papiloma Humano (VPH) en la mucosa orofaríngea (boca y faringe)</p> <p>Muchos de los tumores que aparecen en esta localización se relacionan con la presencia de este virus.</p> <p>Por lo tanto, resulta necesario identificar la presencia de este virus y de encontrarse presente se podrán tomar las medidas preventivas necesarias para que no se desarrollen cambios en las células y mantener su salud.</p>	<p>Peligros del Virus del Papiloma Humano</p> <p>El virus del papiloma humano (VPH) es un virus muy distribuido en varios sitios del cuerpo, que no sólo incluyen a la piel (donde producen las verrugas vulgares) sino también en las mucosas de la vía genital y de la cavidad oral.</p>  <p>En la mucosa genital femenina el virus se ha relacionado en el desarrollo de cáncer de cuello uterino.</p> <p>Las personas con tumores en la cavidad oral entonces pueden tener relación con la presencia del virus, sin embargo no se ha estudiado su presencia y relación con la aparición de tumores en esta zona. Al ser un virus de transmisión al parecer sexual, se pueden prevenir para evitar el desarrollo de tumores y del cáncer.</p>	<p>Tipos de virus</p> <p>Existen más de 100 tipos de virus, de los cuales algunos afectan más a la piel, otros a los genitales, y otros más a la cavidad oral.</p>  <p><i>Lesiones verrucosas en labio superior.</i></p> <p>Cómo identificar el virus</p> <p>Para identificar el tipo de virus que presenta una persona y estudiar su relación con la aparición de tumores malignos, es necesario identificar algunos componentes de los virus, sobre todo su ADN.</p> <p>El ADN contiene la información necesaria para que el virus forme copias de sí mismo en nuestras células.</p>
--	---	---

ANEXO 4

MATRIZ DE REGISTRO Y CONTROL

Identificación molecular del Virus del Papiloma Humano y su relación con la presencia de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral en pacientes del Servicio de Oncología del Hospital III Goyeneche, Arequipa, 2013

	CasosControl es	Edad	Sexo	Tabaco	Alcohol	PracSex	DxClinico	CaracLesion	NumLesion	Ubicacion	AP	PVH	EdadGrupo
1	.00	39.00	1.00	.00	1.00	1.00	1.00	.00	1.00	.00	.00	1.00	2.00
2	.00	21.00	2.00	.00	.00	.00	1.00	.00	1.00	.00	.00	1.00	1.00
3	.00	21.00	2.00	.00	1.00	1.00	1.00	.00	1.00	.00	.00	1.00	1.00
4	.00	56.00	2.00	.00	.00	1.00	1.00	.00	1.00	.00	.00	1.00	3.00
5	.00	79.00	2.00	.00	.00	1.00	1.00	.00	1.00	.00	.00	1.00	4.00
6	.00	81.00	2.00	.00	.00	1.00	1.00	.00	1.00	.00	.00	1.00	4.00
7	.00	21.00	2.00	.00	.00	.00	1.00	.00	1.00	.00	.00	1.00	1.00
8	.00	70.00	2.00	.00	.00	1.00	1.00	.00	1.00	.00	.00	1.00	4.00
9	.00	39.00	1.00	.00	.00	1.00	1.00	.00	1.00	.00	.00	1.00	2.00
10	.00	38.00	1.00	1.00	.00	1.00	1.00	.00	1.00	.00	.00	1.00	2.00
11	.00	79.00	2.00	.00	.00	1.00	1.00	.00	1.00	.00	.00	1.00	4.00
12	.00	72.00	1.00	.00	.00	1.00	1.00	.00	1.00	.00	.00	1.00	4.00
13	.00	44.00	1.00	.00	1.00	3.00	1.00	.00	1.00	.00	.00	1.00	2.00
14	.00	73.00	1.00	.00	.00	1.00	1.00	.00	1.00	.00	.00	1.00	4.00
15	.00	50.00	2.00	2.00	1.00	1.00	1.00	.00	1.00	.00	.00	2.00	3.00
16	.00	52.00	2.00	.00	.00	3.00	1.00	.00	1.00	.00	.00	2.00	3.00
17	.00	60.00	2.00	.00	.00	1.00	1.00	.00	1.00	.00	.00	2.00	3.00
18	.00	34.00	2.00	.00	.00	1.00	1.00	1.00	2.00	.00	.00	1.00	2.00
19	.00	66.00	2.00	.00	.00	1.00	1.00	1.00	2.00	.00	.00	1.00	3.00
20	1.00	19.00	2.00	.00	.00	.00	2.00	1.00	2.00	3.00	1.00	2.00	1.00
21	1.00	21.00	2.00	.00	.00	.00	2.00	1.00	2.00	3.00	1.00	2.00	1.00
22	1.00	39.00	1.00	2.00	1.00	3.00	2.00	1.00	2.00	5.00	2.00	1.00	2.00

	CasosControl es	Edad	Sexo	Tabaco	Alcohol	PracSex	DxClinico	CaracLesion	NumLesion	Ubicacion	AP	PVH	EdadGrupo
23	1.00	52.00	2.00	1.00	.00	1.00	3.00	1.00	2.00	1.00	3.00	1.00	3.00
24	1.00	52.00	2.00	1.00	.00	1.00	3.00	1.00	2.00	1.00	3.00	1.00	3.00
25	1.00	52.00	2.00	1.00	.00	1.00	3.00	1.00	2.00	1.00	3.00	1.00	3.00
26	1.00	38.00	1.00	1.00	1.00	3.00	3.00	1.00	2.00	2.00	3.00	1.00	2.00
27	1.00	82.00	2.00	2.00	.00	1.00	3.00	1.00	2.00	4.00	3.00	1.00	4.00
28	1.00	25.00	2.00	1.00	.00	1.00	3.00	1.00	2.00	2.00	5.00	1.00	1.00
29	1.00	79.00	2.00	.00	.00	1.00	3.00	1.00	2.00	6.00	3.00	1.00	4.00
30	1.00	46.00	1.00	2.00	2.00	3.00	3.00	1.00	2.00	4.00	3.00	1.00	2.00
31	1.00	36.00	2.00	1.00	.00	3.00	3.00	1.00	2.00	4.00	4.00	1.00	2.00
32	1.00	50.00	1.00	.00	2.00	1.00	3.00	1.00	2.00	7.00	3.00	1.00	3.00
33	1.00	71.00	1.00	2.00	2.00	1.00	3.00	1.00	2.00	7.00	3.00	1.00	4.00
34	1.00	73.00	1.00	.00	1.00	1.00	3.00	1.00	2.00	4.00	3.00	1.00	4.00
35	1.00	79.00	2.00	.00	.00	1.00	3.00	1.00	2.00	1.00	3.00	1.00	4.00
36	1.00	44.00	1.00	.00	1.00	3.00	3.00	1.00	2.00	4.00	3.00	1.00	2.00
37	1.00	45.00	1.00	1.00	1.00	1.00	3.00	1.00	2.00	3.00	3.00	1.00	2.00
38	1.00	71.00	2.00	2.00	.00	1.00	3.00	1.00	2.00	5.00	3.00	2.00	4.00

CasosControles

0 = control

1 = caso

Sexo

1 = hombre

2 = mujer

Tabaco

0 = no consume ni consumi3 tabaco

1 = consume o consumi3 <= 1

paquete/día

2 = consume o consumi3 > 1 paquete/día

Alcohol

0 = no consume ni consumi3 alcohol

1 = consume o consumi3 <=40

gramos/día

2 = consume o consumi3 > 40

gramos/día

PracSex

0 = no inició relaciones sexuales

1 = vaginal

2 = anal

3 = oral

Dxclínico

1 = sano

2 = lesión premaligna

3 = lesión maligna

CaracLesión

0 = no se observa lesión

1 = lesión elevada con ulceraciones

NumLesion

1 = sin lesión

2 = lesión múltiple

Ubicacion

0 = sin lesión

1 = labio

2 = reborde alveolar

3 = carrillo

4 = paladar

5 = lengua

6 = amígdala

7 = orofaringe

AP

0 = tejido sin alteración

1 = papiloma

2 = leucoplasia

3 = carcinoma

4 = adenocarcinoma

5 = granuloma con focos de displasia

PVH

1 = negativo

2 = positivo

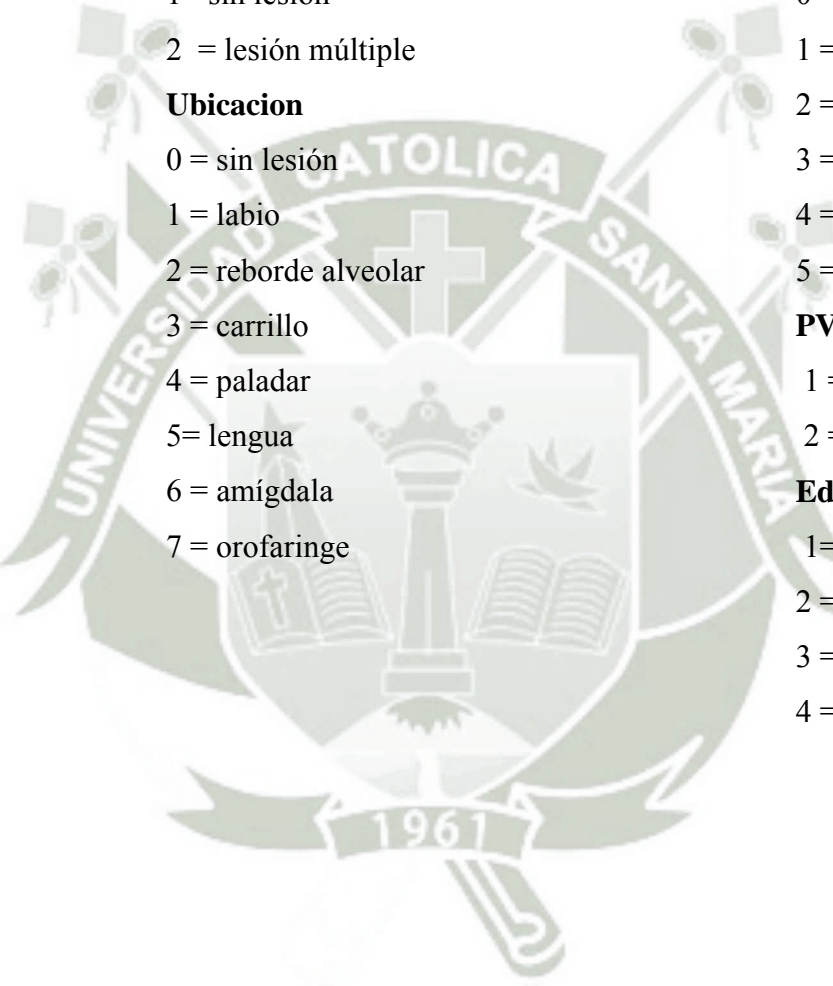
EdadGrupo

1 = 15 a 29 años

2 = 30 a 49 años

3 = 50 a 69 años

4 = Mayor=70 años



ANEXO 5

CARACTERIZACIÓN DE LA POBLACIÓN

Distribución de los pacientes según rango de edad

RANGO DE EDAD (AÑOS)	CASOS	CONTROLES	TOTAL	
	N°	N°	N°	%
De 15 y 29 años	3	3	6	15.79
De 30 a 49 años	5	6	11	28.95
De 50 a 69 años	5	4	10	23.68
Mayor de 70 años	6	6	12	31.58
TOTAL	19	19	38	100.00

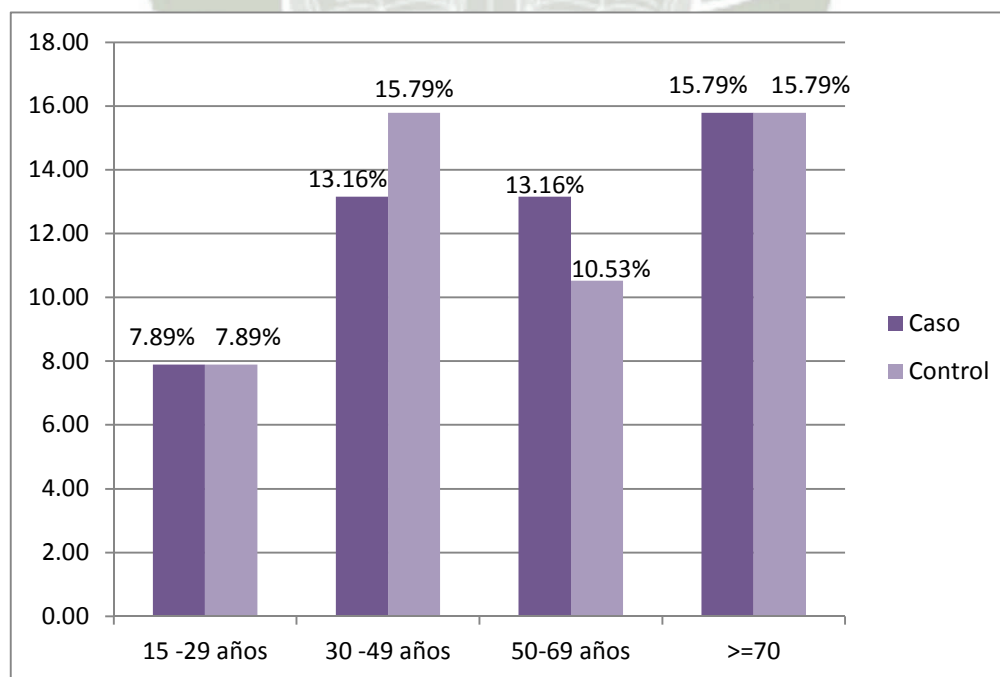
Edad Máxima 82 años

Edad Mínima 19 años

Edad Media 51.82

Desv. Estándar 9.88

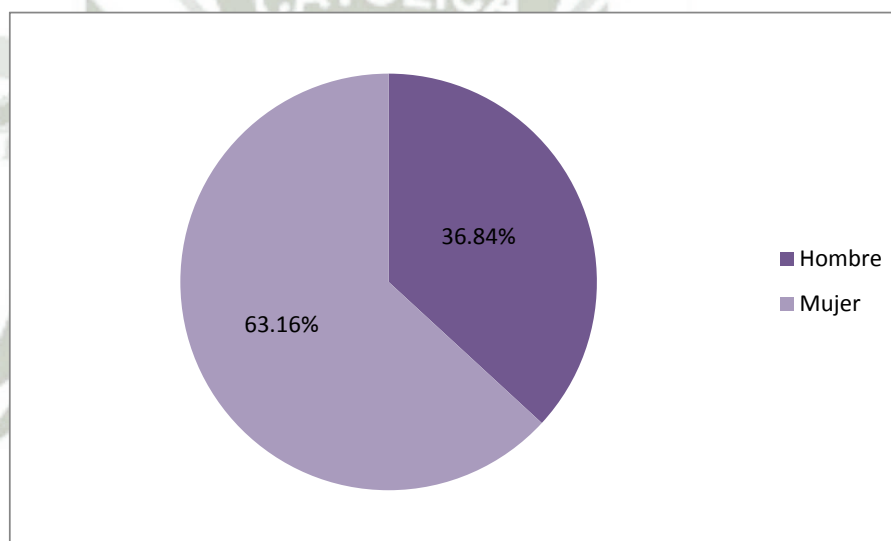
Fuente: Elaboración propia (Matriz de sistematización)



Distribución de los pacientes según sexo

SEXO	CASOS	CONTROLES	TOTAL	
	N°	N°	N°	%
Masculino	6	8	14	36.84
Femenino	13	11	24	63.16
TOTAL	19	19	38	100.00

Fuente: Elaboración propia (Matriz de sistematización)



Con respecto a la edad y sexo de presentación, la edad media de presentación de 51.82 años \pm 9.88 años y a predominio del sexo femenino con 63.16%, sobre el masculino con 36.84%. Estos resultados coinciden con presentados por León⁴², Rodríguez⁴³ y Arechavaleta⁴⁴, quienes plantean que estas lesiones aumentan con la edad ya que existe

⁴² León E; Díaz, MC; et al. Pesquizaje de lesiones premalignas y malignas en la cavidad bucal. Rev Cubana Med Gen Integr. Mayo-Junio 2011 V 12 N 3.

⁴³ Rodríguez, E; Osorio, M; Morales R. Comportamiento de las lesiones bucales y sus factores de riesgo. Facultad Finlay Albarrán, 2012. Disponible en <http://www.ucmh.sld.cu/rhab/articulorev10/elenita.htm>

⁴⁴ Arechavaleta, E. Factores de Riesgo de Lesiones Premalignas y Malignas de la Cavidad Bucal. Tesis EGI. Hospital General Santiago, 2012. Disponible en <http://www.sld.cu/galerias/pdf/uvs/saludbucal/riesgolesion.pdf>.

una mayor exposición de los factores de riesgo. También coinciden con el trabajo de Ariosa Argüelles y colaboradores donde predominaron los pacientes mayores de 51 años de edad⁴⁵. Con relación al sexo los resultados de esta investigación coinciden con el trabajo de León y Cols⁴, y el trabajo de tesis de Arechavaleta⁶, que plantean que la mujer tiende a preocuparse más por la salud bucal, por lo que asiste con mayor frecuencia al estomatólogo.

Muchos autores plantean que el sexo más afectado por el cáncer de cavidad oral es el masculino, sin embargo Pinborg ⁴⁶, expresa que pueden existir variaciones en este sentido, dado que actualmente las mujeres son las que presentan mayor número de casos de lesiones premalignas.



⁴⁵ Ariosa, J; Valentín F; Rodríguez G; Rodríguez J. Cáncer bucal. Estudio de cinco años, Rev. Médica Electrónica, 2011; 28 (6).

⁴⁶ Pinborg, J. Cáncer y Precáncer Bucal. La Habana: Ed Ciencia y Técnica, 2004: 48-71

ANEXO 6 CÁLCULOS ESTADÍSTICOS

Hipotesis 1:

H₀ la identificación de VPH no se relaciona con el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral

H₁ la identificación de VPH se relaciona con el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	6.935 ^a	2	.031
Razón de verosimilitudes	5.274	2	.072
Asociación lineal por lineal	.491	1	.484
Prueba de McNemar-Bowker	.	.	. ^b
N de casos válidos	38		

a. 4 casillas (66.7%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es .47.

b. Sólo se efectuará el cálculo para tablas de P x P, donde P debe ser mayor que 1.

SE RECHAZA H₀

Relación entre las prácticas sexuales más frecuentes y el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas

H0 Las prácticas sexuales orales no se relaciona con el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas en la cavidad oral

H1 Las prácticas sexuales orales se relaciona con el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas en la cavidad oral

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	14.381 ^a	4	.006
Razón de verosimilitudes	13.232	4	.010
Asociación lineal por lineal	1.671	1	.196
Prueba de McNemar-Bowker	.	.	. ^b
N de casos válidos	38		

a. 7 casillas (77.8%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es .32.

b. Ambas variables deben disponer de categorías idénticas.

Se rechaza H0

Relación entre el consumo de tabaco y el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas

H0 El consumo de tabaco no se relaciona con el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas en la cavidad oral

H1 El consumo de tabaco se relaciona con el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas en la cavidad oral

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	14.243 ^a	4	.007
Razón de verosimilitudes	15.464	4	.004
Asociación lineal por lineal	9.139	1	.003
Prueba de McNemar-Bowker	.	.	. ^b
N de casos válidos	38		

a. 7 casillas (77.8%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es .47.

b. Ambas variables deben disponer de categorías idénticas.

Se rechaza H0

Relación entre el consumo de alcohol y el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas

H0 El consumo de alcohol no se relaciona con el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas en la cavidad oral

H1 El consumo de alcohol se relaciona con el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas en la cavidad oral

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	4.966 ^a	4	.291
Razón de verosimilitudes	6.027	4	.197
Asociación lineal por lineal	3.643	1	.056
Prueba de McNemar-Bowker	.	.	. ^b
N de casos válidos	38		

a. 7 casillas (77.8%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es .24.

b. Ambas variables deben disponer de categorías idénticas.

Se acepta H0

Relación entre el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas y la presencia de VPH, además de otros factores intervinientes (consumo de tabaco y alcohol)

H0 VPH interacciona con otros cofactores como el consumo de tabaco y alcohol en el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas en la cavidad oral

H1 VPH no interacciona con otros cofactores como el consumo de tabaco y alcohol en el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas en la cavidad oral

Estimaciones de los parámetros

DXCLINICO ^a	B	Error típ.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	Intervalo de confianza al 95% para Exp(B)		
							Límite inferior	Límite superior	
Intersección	3.130	1.921	2.656	1	.103				
Clínicamente sano	Tabaco	-1.962	.757	6.719	1	.010	.141	.032	.620
	Alcohol	-.852	.746	1.302	1	.254	.427	.099	1.843
	[PVH=1.00]	-1.907	1.845	1.069	1	.301	.148	.004	5.523
	[PVH=2.00]	0 ^b	.	.	0
	Intersección	2.277	2.038	1.248	1	.264			
Lesión premaligna	Tabaco	-1.962	1.972	1.906	1	.010	.308	.008	2.518
	Alcohol	.054	1.363	.002	1	.968	1.056	.073	15.275
	[PVH=1.00]	-4.345	2.094	4.304	1	.038	.013	.000	.787
	[PVH=2.00]	0 ^b	.	.	0

a. La categoría de referencia es: Lesión maligna.

b. Este parámetro se ha establecido a cero porque es redundante.

Se acepta parcialmente H0, pues PVH sólo interacciona con el consumo de tabaco.

ANEXO 7 SECUENCIA FOTOGRÁFICA

Trámites de autorización para realizar investigación



Toma de muestras Hospital III Goyeneche



Envío de muestras a la ciudad de Lima Laboratorio Igenomic



Muestras viajan en PBS



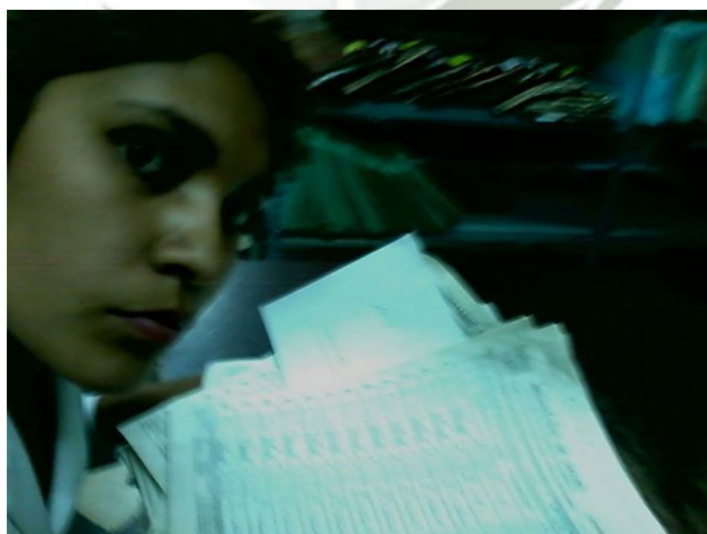
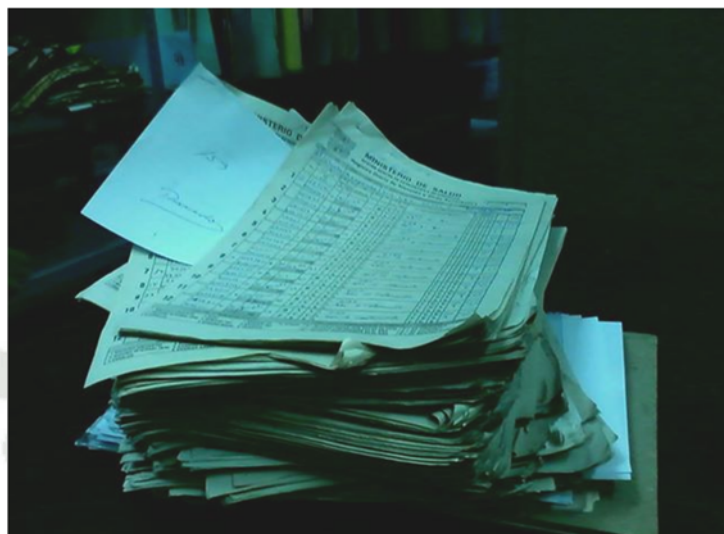
Recepción de 40 kits de toma de muestra del Laboratorio Igenomic



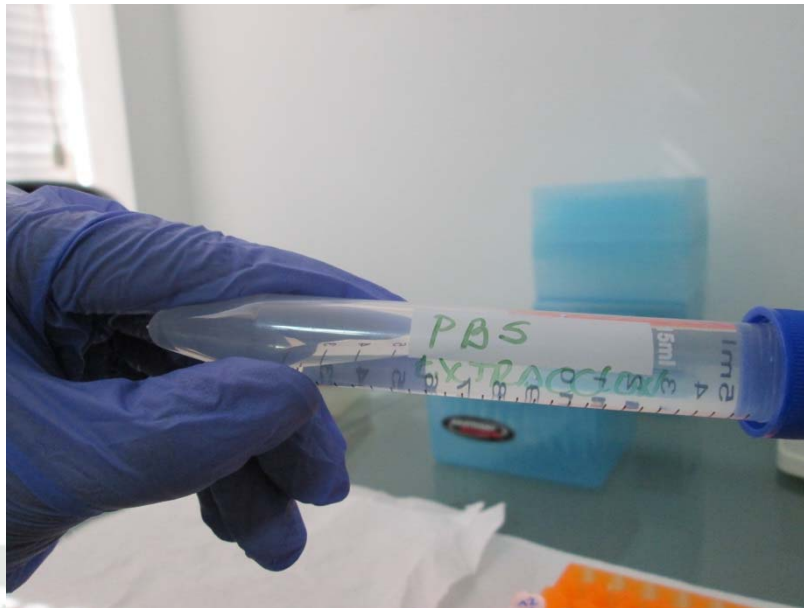
Kits de Toma de Muestra



Revisión de Historias Clínicas Del Hospital III Goyeneche



LA MUESTRA VIAJA EN SOLUCION DE PBS



SE MICROPIPETEA EN TUBOS DE ENSAYO PEQUEÑOS



SE TIENE TODAS LAS MUESTRAS



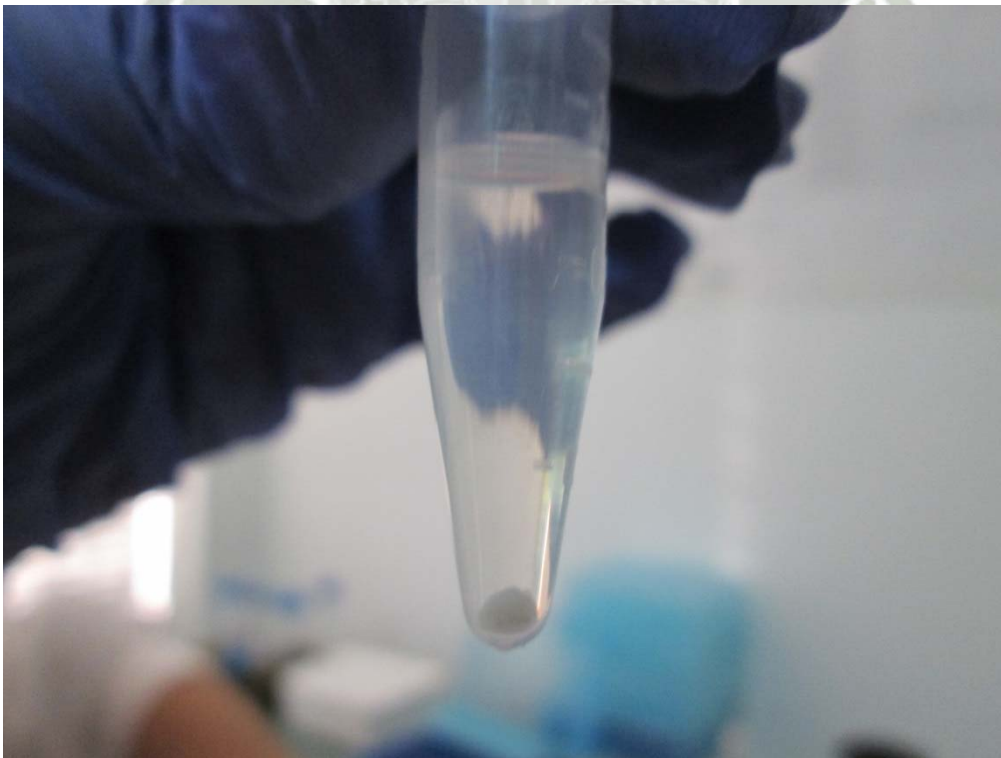
SE UTILIZAN LOS REACTIVOS AXYGEN



EQUIPOS PARA CENTRIFUGAR MUESTRAS



OBTENCIÓN CELULAR POR CENTRIFUGACIÓN



PROCEAMIENTO DE SEDIMENTO CELULAR PARA OBTENCIÓN DE ADN



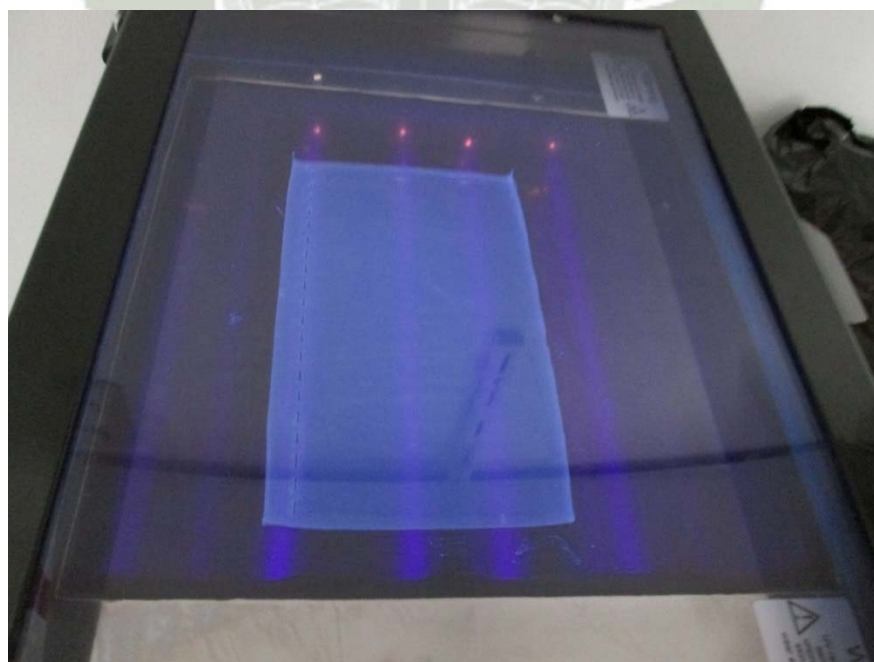
MUESTRAS LISTAS PARA INICIAR LA DETECCIÓN DE VPH POR PCR



EQUIPO TERMOCICLADOR PARA PROCESAMIENTO DE PCR



EQUIPO DE ELECTROFESIS PARA IDENTIFICACIÓN GENÉTICA DEL ADN VIRAL



EQUIPO DE TRABAJO PARA IDENTIFICACIÓN DE VIRUS PAPILOMA
HUMANO EN IGENOMIC: DRA. MARIELA LOARTE Y BACH. ANY ZARELA
VÁSQUEZ ZEA



ANEXO 8

PROCEDIMIENTO PARA REALIZAR LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

La PCR, concebida inicialmente por Kary Mullis en 1985, permite la amplificación in vitro de una secuencia de ADN específica partiendo de pequeñas cantidades de templado (Torres, y otros, 1995). La PCR consiste en una amplificación enzimática de fragmentos de ADN por dos oligonucleótidos o cebadores (primers) que hibridan a cadenas opuestas del templado, con los terminales 3' frente a frente.

La enzima ADN polimerasa inicia la síntesis de una nueva cadena, partiendo del terminal 3' de cada cebador. La repetición de ciclos de temperatura desnatura el templado, hibrida los cebadores y prolonga la cadena por intervención de la ADN polimerasa.

Los productos de la amplificación de cada cebador pueden actuar como templado para la siguiente amplificación, resultando en una multiplicación exponencial de ADN (definidos por el terminal 5' de cada cebador) (Surzycki, 1999). Desde la implementación de la técnica se han desarrollado diferentes modificaciones y aplicaciones.

Los componentes se describen a continuación:

1. Enzima ADN Polimerasa: La ADN polimerasa es la enzima encargada de la adición de nucleótidos en sentido 5'-3', catalizando un ataque nucleofílico del átomo de fósforo del desoxirribonucleótido (dNTP) al terminal 3' OH del cebador, dando lugar a la unión covalente fosfodiéster entre ambos, permitiendo la elongación de la cadena complementaria a la molde en la reacción (Torres, y otros, 1995). Inicialmente, la enzima utilizada para catalizar la reacción correspondía a un fragmento de la E. coli Polimerasa I, debía agregarse una alícuota fresca en cada ciclo pues la enzima era inactivada en cada paso de desnaturalización.

Posteriormente, se realizaron ensayos que permitieron la automatización del protocolo usando un tipo de polimerasa termoestable extraída de *Thermus aquaticus* (Taq polimerasa). La temperatura que requiere la enzima para su máxima actividad se

encuentra entre 75 y 80°C: La concentración de la enzima en la reacción debe ser la adecuada (1 a 5 unidades por 100 µl de reacción), pues cantidades excesivas pueden resultar en amplificación de productos inespecíficos (Surzycki, 1999).

2. ADN templado: una de las principales ventajas de la PCR es la posibilidad de usar concentraciones muy pequeñas de ADN molde relativamente impuro y/o degradado y obtener amplificaciones exitosas. A pesar de que la contaminación aparentemente no representaría un obstáculo, existen ciertos contaminantes que pueden disminuir la eficiencia del método (urea, SDS, acetato de sodio, entre otros).

Muchos de estos contaminantes pueden ser removidos mediante lavados con etanol al 70% o reprecipitando el extracto con acetato de amonio (Surzycki, 1999). La concentración ideal de templado para la reacción depende de la muestra analizada y grado de purificación de la misma, pero en general oscila entre 300 nanogramos a 1 microgramo de ADN genómico (Torres, y otros, 1995).

3. Cebadores, primers o iniciadores: deben seleccionarse dos iniciadores que hibriden regiones del ADN molde, y que estén localizados a los extremos de la región de interés y que sean “únicos” para obtención el fragmento deseado. La longitud del oligonucleótido debe ser de 15 a 30 nucleótidos (Torres, y otros, 1995).

En lo posible, los iniciadores deben tener un contenido de GC de 40 a 60%, aproximadamente. El contenido de GC, en los dos cebadores, debe ser similar y no debe corresponder a secuencias palindrómicas. La distancia de los iniciadores en la secuencia es variable, sin embargo la experiencia muestra que fragmentos cortos amplifican mejor que fragmentos largos mostrando que la eficiencia de la reacción disminuye considerablemente a distancias mayores a 3 Kbp. La reacción de PCR requiere un exceso molar en la concentración de primers, usualmente entre 0,2 a 1 µM (Surzycki, 1999).

4. Sustrato: la concentración de cada desoxirribonucleótido (dNTP) en la PCR debe ser equitativa y no debe exceder de 200 µM, valor suficiente para la síntesis de 12,5 µg de ADN. Un exceso de dNTPs puede inhibir la actividad enzimática y puede dar como resultado la amplificación de falsos productos; sin embargo, al variar los valores de dNTPs se debe recordar que el ion magnesio actúa como quelante, decreciendo su concentración en la reacción (Surzycki, 1999).

5. Cloruro de Magnesio: el ion magnesio es un co-factor requerido para la reacción enzimática. La concentración del ion magnesio puede afectar al alineamiento de los primers, producción inespecífica de amplificadores y formación de dímeros de primers influyendo sobre la actividad de la ADN polimerasa. La concentración recomendada, para ensayos con Taq polimerasa, está entre 2 a 4 mM (Surzycki, 1999).

6. Solución tamponadora: la solución buffer estándar para la reacción comprende Tris-HCl en concentración 10 a 50 mM: El pH óptimo para la mayoría de polimerasas termófilas se encuentra entre 8 a 9. La solución incluye una sal, que puede corresponder a un ion de potasio o sodio, para facilitar el correcto alineamiento de los cebadores (Surzycki, 1999).

Proceso de Amplificación

El número de copias de ADN que serán obtenidas tras la reacción dependerán del número repeticiones o ciclos que se realicen (entre 25 y 40). Los tiempos de ciclado deben ser lo más cortos posibles para reducir el tiempo de reacción, previniendo de esta manera la inactivación enzimática e incrementando la especificidad de la reacción (Surzycki, 1999).

Los pasos del ciclado se detallan a continuación:

1. Paso de desnaturalización: En este paso, se efectúa la separación de las bandas de ADN maternas. El proceso de desnaturalización ocurre en un tiempo muy corto (entre 30 y 60 segundos). La temperatura del ciclo se encuentra usualmente entre 94 y 95° C (Surzycki, 1999).

2. Paso de hibridación: En este paso, los cebadores hibridan a la cadena madre desnaturalizada. El tiempo requerido para este paso se encuentra entre 30 y 60 segundos. La temperatura de hibridación depende del contenido de GC de los cebadores y debe ser cuidadosamente ajustada. Bajas temperaturas de hibridación pueden dar como resultado hibridación de los cebadores a blancos inespecíficos, mientras que altas temperaturas pueden interrumpir la alineación y, Consecuentemente, la síntesis de ADN. Para la mayoría de cebadores esta temperatura se encuentra entre 50 y 55° C (Surzycki, 1999).

3. Paso de elongación: La ADN polimerasa sintetiza una nueva cadena de ADN, extendiéndose desde el terminal 3' del cebador alineado. El tiempo que dura la extensión de la nueva cadena depende de la longitud de la secuencia que debe ser amplificada. En óptimas condiciones, la enzima Taq polimerasa es capaz de añadir entre 60 a 100 bases nitrogenadas por segundo. Con este antecedente, el tiempo de elongación de la cadena está teóricamente calculado entre 15 a 20 segundos por cada Kbp del fragmento deseado. La temperatura de amplificación estándar está calculada en 72° C (Surzycki, 1999).

Restricción de Fragmentos de Longitud Polimórfica (RFLP)

La técnica de RFLP consiste en fragmentar en sitios específicos al ADN, para posteriormente diferenciar los fragmentos tomando en cuenta el tamaño que comprende cada uno. Este ADN puede separarse por electroforesis en gel de agarosa o poliacrilamida y presentar un perfil de bandas único para cada especie (Alba, 2003).

1. Secuenciación automática: El ensayo consiste en analizar la secuencia nucleotídica de ADN. La técnica se basa en el método enzimático de secuenciación diseñado por Sanger, Nicklen y Coulson a finales de los años 70. Los componentes de la reacción se detallan a continuación:

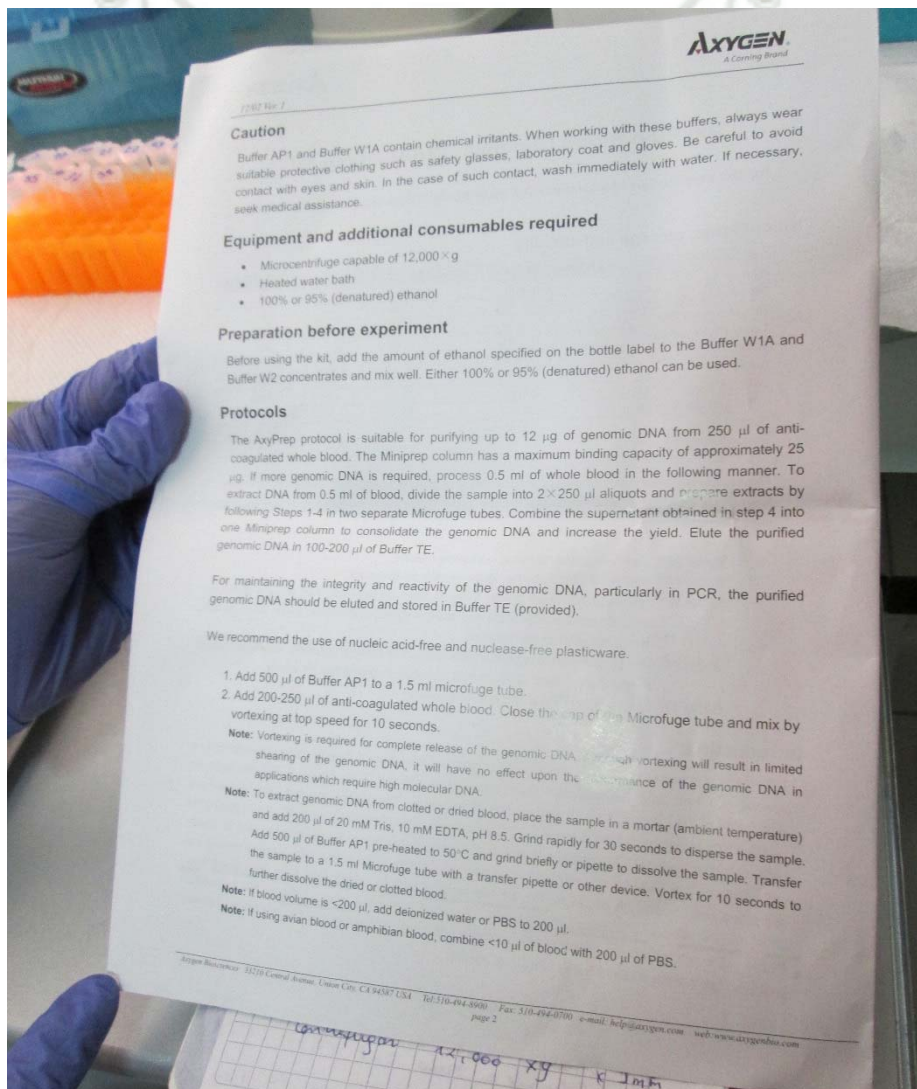
- El ADN molde clonado o segmento de ADN amplificado en estado de hélice sencilla.
- Una enzima que replique el ADN, normalmente la ADN Polimerasa I del bacteriofago T4. La ADN Polimerasa I del fago T4 emplea como molde ADN de hélice sencilla y siguiendo las reglas de complementariedad de las bases nitrogenadas va añadiendo nucleótidos a partir de un cebador o "primer".
- Un cebador o "primer" que suele ser un oligonucleótido corto de alrededor de 20 bases de longitud necesario para que la enzima comience a añadir nucleótidos por el extremo 3' OH. Este cebador debe poseer una secuencia de bases complementaria a la del fragmento de ADN que se desea secuenciar.
- Los cuatro nucleótidos trifosfato (dATP, dCTP, dGTP y dTTP).
- Los nucleótidos didesoxi (ddATP, ddTTP, ddCTP y ddGTP) son nucleótidos modificados que han perdido el grupo hidroxilo de la posición 3' de la

desoxirribosa. Estos nucleótidos pueden incorporarse a la cadena de ADN naciente, pero no es posible que se una a ellos ningún otro nucleótido por el extremo 3'.

- En este método, el ADN (clonado o amplificado mediante PCR) que va ser secuenciado funciona como un molde para la síntesis enzimática de un nuevo ADN que comienza en un sitio definido por la unión de un primer. Para la reacción se usa una mezcla de desoxinucleótidos (dNTPs) y dideoxinucleótidos (ddNTPs) a unas concentraciones que crean una probabilidad finita de que un dideoxinucleótido se incorpore en lugar del correspondiente desoxinucleótido en cada posición de la cadena que está siendo sintetizada (Valencia, 2005). La unión de un ddNTP impide la elongación de la cadena (Figura 1-9) dando como resultado cientos de fragmentos interrumpidos a diferente longitud. La identidad de cada nucleótido terminal se reconoce mediante la fluorescencia emitida, cada uno de los dideoxinucleótidos (ddATP, ddCTP, ddTTP ddGTP) tiene un fluorocromo específico.
- La población de moléculas resultante se separa por tamaños mediante electroforesis y la secuencia se obtiene correlacionando el orden de los fragmentos en la electroforesis con el dideoxinucleótido que termina cada uno de ellos. Los resultados de la secuenciación se van obteniendo durante la electroforesis, contribuyendo a la rapidez del método de secuenciación automática (García, y otros, 1999; Valencia, 2005):
 - Gracias al empleo de 4 fluorocromos diferentes, se puede combinar el resultado de las 4 reacciones;
 - El color de cada banda corresponde al del dideoxinucleótido 3'- terminal del fragmento amplificado;
 - Conforme transcurre la electroforesis, el detector puede medir la aparición de bandas que van pasando por el haz de luz y su color;
 - Se genera un registro informático de los 4 perfiles de color, que combinados se interpretan como una secuencia.

- La aplicación de éste método permite determinar la composición nucleotídica de vectores de clonación o fragmentos de PCR de VPH, y posteriormente compararla con la base de datos con secuencias de los tipos específicos de VPH. El principal limitante de la técnica es el costo. Dentro de las ventajas, se puede notar que se obtiene una tipificación inequívoca, además que permite reconocer la presencia de nuevos tipos virales (Alba, 2003).

PROTOCOLO PARA REALIZAR PCR – RFLP DE AXYGEN



ANEXO 9

**SOLICITO: REALIZAR PROYECTO DE TESIS EN
SERVICIO DE ONCOLOGÍA**

Señora Doctora
Anuska Echegaray Urrutia
Jefa del Servicio de Oncología del Hospital III Goyeneche

Any Zarela Vásquez Zea, identificada con DNI 71043560, Domiciliada en Urb. Adepa E-19 JLByR, Estudiante de la Facultad de Odontología de la UCSM, ante Ud. me presento y digo:

Que, deseando llevar a cabo el proyecto de Tesis titulado "Identificación molecular del Virus del Papiloma Humano y su relación con la presencia de lesiones premalignas y malignas de cavidad oral en pacientes del Servicio de Oncología del Hospital III Goyeneche, Arequipa 2009-2013", es que solicito se me autorice realizar las coordinaciones en su Servicio para recabar información acerca de los pacientes con diagnóstico de cáncer de cavidad oral atendidos en la institución.

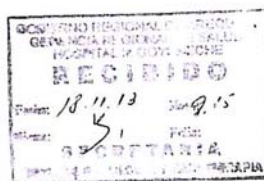
Por lo expuesto ruego a Ud. acceder a mi solicitud por ser de justicia.

Arequipa, 18 de Octubre del 2013



Any Zarela Vásquez Zea
DNI 71043560

Adjunto: Copia de proyecto de Tesis



**SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN y PROVEÍDO DE ACEPTACIÓN DE
INVESTIGACIÓN DEL HOSPITAL III GOYENECHÉ**



GOBIERNO REGIONAL DE AREQUIPA
GERENCIA REGIONAL DE SALUD



"AÑO DE LA INVERSIÓN PARA EL DESARROLLO RURAL Y LA SEGURIDAD ALIMENTARIA"

PROVEIDO DE AUTORIZACION N° 153-2013-GRA/GRS/GR-HG-DG-OADI-C.-

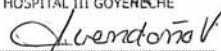
Visto el expediente N° 11983-2013, con oficio de aceptación N° 206-2013 de la Jefatura del Departamento de Oncología y Radioterapia, y con el visto bueno de la Oficina de Capacitación, esta Dirección AUTORIZA que la señorita:

ANY ZARELA VÁSQUEZ ZEA

Estudiante de la Facultad de Odontología de la Universidad Católica de Santa María-Arequipa, realice su Trabajo de investigación, para Proyecto de Tesis titulado "IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO Y SU RELACIÓN CON LA PRESENCIA DE LESIONES PREMALIGNAS Y MALIGNAS DE CAVIDAD ORAL EN PACIENTES DEL SERVICIO DE ONCOLOGÍA DEL HOSPITAL III GOYENECHÉ AREQUIPA 2012-2013"; los resultados y conclusiones de su Investigación, hacer llegar al término del trabajo realizado. Según informa la jefe del Departamento de Oncología y Radioterapia del Hospital III Goyeneche.

Arequipa, 10 de Octubre del 2013

GOBIERNO REGIONAL AREQUIPA
GERENCIA REGIONAL DE SALUD
HOSPITAL III GOYENECHÉ



DRA. ALBERTA AVECHANO VIZCARRA
DIRECTORA GENERAL
C.M.P. 19455



AAV/BBB
CC: Archivo

