

## Tipificación del virus del papiloma humano en lesiones del epitelio respiratorio

Erika Yolanda Herrera Martínez,<sup>1</sup> Jorge Amador Aguilar Sánchez,<sup>2</sup> Kirvis Janneth Torres Poveda,<sup>3</sup> Vicente Madrid Marina<sup>4</sup>

### Resumen

#### ANTECEDENTES

La papilomatosis respiratoria es una enfermedad asociada con el virus del papiloma humano. Tiene una morbilidad potencial ya que envuelve la vía aérea, tiende a la recurrencia y puede malignizarse.

#### OBJETIVO

Tipificar el virus de la mucosa respiratoria en el Hospital Juárez de México.

#### MATERIAL Y MÉTODO

Estudio descriptivo, observacional, prospectivo y transversal, en el que se incluyeron todos los pacientes a los que se realizó resección de lesión en el aparato respiratorio superior identificada como papiloma por histopatología de septiembre de 2009 a junio de 2011. Las muestras se enviaron para su tipificación por PCR y secuenciación de VPH.

#### RESULTADOS

Se obtuvieron 15 muestras: 11 muestras de lesiones laríngeas y 4 de lesiones nasales. De los 11 pacientes con tumor laríngeo en estudio, se confirmó el diagnóstico de papilomatosis laríngea en 10, 5 (50%) pacientes positivos a VPH 6 y 5 pacientes positivos para VPH 11. Los pacientes con papiloma nasal invertido fueron 4, todos varones. Se encontró en todos VPH 6 y sólo en un paciente coinfección con VPH 11.

#### CONCLUSIÓN

Los serotipos virales encontrados en este estudio, el VPH 6 y 11, son congruentes con la bibliografía mundial. Podrían ser de utilidad para detectar a los pacientes que por su serología viral sean más propensos a la malignización, así como el curso de la enfermedad según el serotipo. Conocer la epidemiología de nuestra población podría ayudarnos a hacer protocolos en un futuro cercano acerca de terapias coadyuvantes y vacunación.

### Abstract

#### BACKGROUND

Respiratory papillomatosis is generally believed to be caused by certain subtypes of the human papillomavirus (HPV), which causes significant morbidity in the respiratory system, block the airway; it's recurrent and tends to become malignant.

#### OBJECTIVE

To identify serotypes of VPH in Hospital Juarez de Mexico.

#### MATERIAL AND METHOD

An observational study that included all patients who underwent resection of upper respiratory tumors identified as papilloma between September 2009 to June 2011.

Samples were shipped for analyzed by PCR.

#### RESULTS

Fifteen samples were obtained by surgical resection, 11 samples of laryngeal lesions and 4 of nasal lesions. Of the 11 patients with laryngeal tumor study, we confirmed the diagnosis of laryngeal papillomatosis in 10, 90.9%, 5 patients positive for HPV 6, 50% and 5 HPV 11 positive patients; 4 patients with nasal inverted papilloma, all patients were men. We found in all of them VPH 6 and only one co-infection VPH 11.

#### CONCLUSION

Serotypes found in this study, HPV 6 and 11, are consistent with the literature. It could be useful to detect those patients whose viral serology is more prone to malignancy, and disease courses depending on the serotype, and knowing the epidemiology of our population could help us in the near future protocols about adjuvant therapies and vaccination.

#### Palabras clave:

virus del papiloma humano, tipificación, lesiones del epitelio respiratorio.

#### Key words:

human papillomavirus, typing, respiratory epithelium lesions.

## Historia

Horan Green describió lesiones “en coliflor” en la laringe. En 1923, Ullmann describió el origen infeccioso de esta entidad. En 1973 se identificaron partículas virales en los núcleos de las células, en 1980 por Southern blot se identificó ADN, en 1982 se identificaron por Mounts los serotipos 6 y 11.

## Epidemiología

La papilomatosis laríngea se diagnostica entre los dos y cuatro años de edad (25% de los casos se diagnostica en la infancia); se encuentra un segundo pico de edad en adultos de 20 a 40 años, con igual distribución entre mujeres y hombres; no hay predilección por grupo étnico. Se estima que hay 1,200 a 1,500 nuevos casos al año y la incidencia es de 4.3 por 100,000 habitantes.

Se han identificado dos cursos de enfermedad: la primera, la juvenil, agresiva y recurrente, y la del adulto, menos agresiva. Puede definirse con agresividad: más de cuatro procedimientos en un año, diseminación distal de la infección y la transformación a carcinoma escamoso. El porcentaje en niños y adultos de enfermedad agresiva es similar: 17% en niños y 18% en adultos.

El papiloma en la cavidad nasal y los senos paranasales es una neoplasia epitelial benigna e hiperplasia de la mucosa nasal secundaria a inflamación, pueden encontrarse áreas de metaplasia en 83% de los casos se asocia con transformación a carcinoma invasor en 13% de los casos.

Se observa en personas de edad media, de 25 a 80 años, rara vez afecta a niños, con predominio en varones, en proporciones de 2:1 hasta 8:1 en algunas series, lo más común es que provenga de la pared lateral nasal, puede provenir del cornete medio, puede crecer y envolver los senos paranasales.

## Virología

El virus del papiloma humano es un virus de la familia de papovaviridae, ADN icosaédrico, de 20 caras, no envuelto, con su cápside viral con una doble capa de ácido desoxirribonucleico de 7,900 pares de bases, de 55 nm, el ADN viral se ha obtenido en todas las muestras del papiloma, hay 50 serotipos. El serotipo 11 se relaciona con mayor obstrucción de la vía aérea, mayor recurrencia y daño de la tráquea. Los serotipos 16 y 18 se asocian más con malignidad y el 31 y 33 son de potencia intermedia. Se describe 85% de pacientes con serología positiva al VPH 6 y 11 y 15% positivos para VPH 16, 18, 20 y 30; estos últimos se relacionan con malignización. En caso de la cavidad nasal, el serotipo 16 se relaciona con daño septal.

El genoma consiste en tres regiones, una región reguladora (upstream) URPP y dos regiones reguladoras: E para la fase temprana y L para la tardía. Los genes E están mayormente implicados en la oncogénesis.

Para la tipificación del virus del papiloma humano, se puede obtener una reacción en cadena de la polimerasa (PCR). En el periodo de latencia, se presenta poco ARN; se puede detectar ADN en la mucosa sin lesiones.

El virus puede infectar células del estroma basal del epitelio. Desde el punto de vista histológico, el papiloma respiratorio aparece como una masa pediculada, con digitaciones que se proyectan al epitelio no queratinizado que se encuentra sobre una capa de tejido conectivo muy vascularizado. Los coilocitos son células vacuoladas con citoplasma claro y cuerpos de inclusión que sugieren infección viral. La diferenciación celular se ve anormal con alteración en la producción de queratina.

<sup>1</sup> Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello egresada.

<sup>2</sup> Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello adscrito.

Servicio de Otorrinolaringología, Hospital Juárez de México.

<sup>3</sup> Doctora en Ciencias de la Salud Pública. Esp. Gerencia de la Salud Pública. Dirección de Infecciones Crónicas y Cáncer. Centro de Investigaciones en Enfermedades Infecciosas.

<sup>4</sup> Director de Infecciones Crónicas y Cáncer, Investigador en Ciencias Médicas F SIN III. Instituto Nacional de Salud Pública.

**Correspondencia:** Dra. Erika Yolanda Herrera Martínez. Mario Colin 37, colonia El Cortijo, CP 54070, Estado de México. Correo electrónico: dra.erikahm@hotmail.com

Recibido: agosto 2013.

Aceptado: octubre 2013.

Este artículo debe citarse como: Herrera-Martínez EY, Aguilar-Sánchez JA, Torres-Poveda KJ, Madrid-Marina V. Tipificación del virus del papiloma humano en lesiones del epitelio respiratorio. *An OrL Mex* 2013;58:207-211.

La histología del papiloma nasal por lo regular se presenta como proliferación de células basales, que producen la apariencia de células transicionales, que pueden crecer de forma exofítica o de forma invertida, esto es con surcos hacia la lesión.

En el epitelio respiratorio las lesiones se encuentran más comúnmente en sitios donde el epitelio ciliado y el escamoso se unen; éstos son: el limen vestibular, la nasofaringe, el paladar blando, la línea media de la superficie laríngea, la epiglotis, los márgenes superior e inferior del ventrículo, la superficie de la cuerda vocal y la carina.

### Síntomas

Los síntomas del papiloma nasal varían en duración de semanas a años, son insidiosos y progresivos, caracterizados por obstrucción nasal, rinorrea, por lo general unilateral, epistaxis, dificultad a la percepción de olores y de sabor.

La papilomatosis en la laringe o en alguna otra parte del sistema respiratorio da síntomas de obstrucción, en niños da la tríada disfonía, estridor y dificultad respiratoria. Son menos comunes: tos crónica, neumonía recurrente, disnea y disfagia.

### Trasmision y factores relacionados

El modo de transmisión no está bien establecido. Hay reportes en recién nacidos, lo que sugiere infección in útero. Se ha identificado ADN viral en el cordón umbilical de niños con madres con VPH que nacieron por cesárea y se han encontrado en amígdalas de niños sin papilomatosis respiratoria ADN viral en 2% de la población general, lo que sugiere que no es suficiente la infección para la aparición de la enfermedad.

El reflujo gastroesofágico se identificado como causa de persistencia de la enfermedad. El asma se ha vinculado con enfermedad agresiva, relacionada con alteraciones de la inmunidad mediada por Th2 y se propone que los esteroides inhalados depletan células inmunológicas, lo que favorece genes virales E6 y E7, por lo que hay mayor replicación viral.

### Tratamiento quirúrgico

En caso del papiloma nasal, se ha descrito la resección de las lesiones con 73% de recidiva y posibilidad de malignización, por lo que se sugiere tratamiento más radical, como maxilectomía o etmoidectomía según el sitio de la lesión.

En el papiloma laríngeo los objetivos del tratamiento quirúrgico son: permeabilizar la vía aérea, mejorar las condiciones de la voz y la posibilidad de remisión de la enfermedad. Se han descrito métodos de crioterapia, curetaje, electrocauterio y laser ablación con CO<sub>2</sub>.

### Terapia coadyuvante

*Alfa interferón*: estimula la respuesta inmunológica, aumenta la producción de proteincinasa y de endonucleasa.

*Antivirales*: rivavirina, aciclovir, cidofovir.

*Terapia fotodinámica*: éter de dihematiporfirina intravenoso y m-tetra hidroxifenil colorín reduce el tamaño y las recurrencias de papilomas.

*Retinoides*: se conocen como modulares de la diferenciación celular y la diferenciación de diversos tipos histológicos similares.

### Vacunación y terapia génica

*Terapia génica*: se basa en el conocimiento de los genes virales que se expresan en el epitelio, E2, E5, E7 inhibidores del receptor cinasa, disminuye el crecimiento celular y la diferenciación.

*Vacuna*: recientemente se desarrolló una vacuna contra serotipos: 6, 11, 16 y 18, éstas actúan como profilaxis, protegiendo contra la infección viral. Existen vacunas terapéuticas contra proteínas virales, en específico contra la proteína E6 de VPH 11, que pueden controlar la enfermedad. Estas vacunas fabricadas a partir de plásmidos están en fase de experimentación.

### Pacientes y método

Estudio descriptivo, observacional, prospectivo y transversal, en el que se incluyeron todos los pacientes a los que se realizó resección de lesión en el aparato respiratorio superior identificado como: papiloma por histopatología, operados de septiembre de 2009 a junio de 2011.

Las muestras se enviaron en tubos en medio de mantenimiento para su tipificación al Instituto Nacional de Salud Pública. Se realizó tipificación por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y secuenciación de VPH.

La reacción en cadena de la polimerasa es una técnica de biología molecular para amplificar fragmentos de ADN.

### Resultados

Se obtuvieron 18 muestras al realizar la resección quirúrgica, 11 muestras de lesiones laríngeas y 7 de lesiones nasales, en el caso de la laringe, existía la sospecha clínica y en dos casos ya se había hecho resección quirúrgica con resultado histopatológico de papilomatosis laríngea.

En el caso de lesiones nasales incluimos aquéllas que por estudio histopatológico ya se había confirmado el diagnóstico con biopsia incisional. Las edades de los pacientes fueron de 19 a 56 años (media de 35.94 años); el periodo en el que se recabaron las muestras fue de agosto de 2009 a junio de 2011 (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Pacientes con tumor laríngeo en estudio

Paciente	Edad	Género	Fecha de la toma	Diagnóstico histopatológico	Serología
1	33	F	9/07/09	Papilomatosis laríngea	VPH 6
2	21	F	07/07/09	Papilomatosis laríngea	VPH 6
3	38	M	7/07/09	Papilomatosis laríngea	VPH 6
4	34	F	31/08/09	Nódulo laríngeo	Negativo
5	22	F	09/03/10	Papilomatosis laríngea	VPH 11
6	35	M	23/06/10	Papilomatosis laríngea	VPH 6
7	25	M	30/09/10	Papilomatosis laríngea	VPH 11
8	25	F	30/09/10	Papilomatosis laríngea	VPH 11
9	34	M	23/06/10	Papilomatosis laríngea	VPH 11
10	29	F	16/02/11	Papilomatosis laríngea	VPH 11
11	39	M	21/12/10	Papilomatosis laríngea anterior y actual: tumor mioblástico	VPH 11

De los 11 pacientes con tumor laríngeo en estudio, seis hombres y cinco mujeres, se confirmó el diagnóstico de papilomatosis laríngea en 10 (90.9%); cinco hombres y cinco mujeres (el caso negativo fue un nódulo laríngeo).

Las edades de los pacientes confirmados fueron de 21 a 38 años de edad, con media de 30.1 años. Encontramos por PCR, cinco pacientes (50%) positivos a VPH 6 (dos mujeres y tres hombres) y cinco pacientes positivos para VPH 11 (tres mujeres y dos hombres).

En cuanto a los pacientes con tumor nasal, cuatro pacientes tenían, por histopatología, papiloma nasal invertido. Todos los pacientes fueron hombres, con media de edad de 51.5 años (límites: 47 y 56 años). Cuadro 2

Los resultados por PCR fueron VPH en todos los casos y coinfección en un paciente.

## Discusión

El tipo de papilomatosis laríngea que observamos en nuestro hospital con más frecuencia es la forma adulta, el tratamiento que se realiza es la escisión quirúrgica y se envía al servicio de Patología, los cambios histopatológicos son característicos y sugieren la enfermedad, estudios específicos como PCR y RFLP indican los serotipos del virus.

El papiloma nasal invertido es una enfermedad que al confirmar diagnóstico por patología nos ayuda a planear la resección quirúrgica, realizamos maxilectomía medial, disminuyendo la recurrencia notablemente.

En México no existen datos específicos de los serotipos y en muy pocos laboratorios se manejan estudios tan especializados, con detección de ADN y proteínas virales; sin embargo, podrían ser de utilidad para detectar a los pacientes que por su serología viral sean más propensos a la malignización, así también existen diferentes cursos de la enfermedad según el serotipo, asociándose el virus 11 con mayor recurrencia y sitios de afección en el epitelio respiratorio en la bibliografía.

Es posible que en un futuro se investigue de rutina la serología para determinar el pronóstico y tratamiento, así como las terapias coadyuvantes más efectivas.

La intención de realizar este estudio fue comprobar con estudios por PCR la serología viral, lo que podría ayudar a hacer protocolos en un futuro cercano conociendo la epidemiología de nuestra población.

## Conclusiones

Los serotipos virales encontrados en este estudio, el VPH 6 y 11, son congruentes con la bibliografía mundial, lo que puede

**Cuadro 2.** Resultados de pacientes con tumor nasal

Paciente	Edad	Género	Fecha de la toma	Diagnóstico histopatológico	Serología
1	56	M	18/01/10	Papiloma nasal invertido	VPH 6
2	49	M	11/01/11	Papiloma nasal invertido	VPH 6
3	47	M	05/10/10	Papiloma nasal invertido	VPH 6
4	54	M	11/10/10	Papiloma nasal invertido	VPH 6 y 11

dar lugar a averiguar el efecto que pueda tener la vacunación que ya se aplica en México contra serotipos 6, 11, 16 y 18.

## Bibliografía

1. Campisi P, et al. The epidemiology of juvenile onset recurrent respiratory papillomatosis derived from a population level national database. *Laryngoscope* 2010;1-7.
2. Snowden RT, et al. The predictive value of serum interleukins in recurrent respiratory papillomatosis: a preliminary study. *Laryngoscope* 2001;111:404-408.
3. Gupta HT, et al. Degrees of dysplasia and the use of cidofovir in patients with recurrent respiratory papillomatosis. *Laryngoscope* 2010;120:698-702.
4. Derkay CS. Recurrent respiratory papillomatosis. *Laryngoscope* 2001;111:57-69.
5. Wiatrak. Recurrent Respiratory papillomatosis: a longitudinal study comparing severity associated with human papilloma viral types 6 and 11 and other risk factors in a large pediatric population. *Laryngoscope* 2004;114(Suppl. 104):1-23. 114(Suppl. 104):1-23, 2004
7. Ushikai M. Detection and cloning of human papillomatosis DNA associated with recurrent respiratory papillomatosis in Thailand. *Jpn J Cancer Res* 1994;85:699-703.
8. McMillan, et al. A 585-nanometer pulsed dye laser treatment of laryngeal papillomas: preliminary report *Laryngoscope* 1998;108:968-972.
9. Rady, et al. Malignant transformation of recurrent respiratory papillomatosis associated with integrated human papillomavirus type 11 DNA and mutation of p53. *Laryngoscope* 1998;108:735-740.
10. Sisk J, et al. Presence of human papillomavirus DNA in tonsillectomy specimens. *Laryngoscope* 2006;116:1372-1374.
11. van Nieuwenhuizen, et al. Patient reported voice outcome in recurrent respiratory papillomatosis. *Laryngoscope* 2010;120:188-192.
12. Lee RG, et al. Photodynamic therapy of cottontail rabbit papillomavirus-induced papillomas in a severe combined immunodeficient mouse xenograft system. *Laryngoscope* 2010;120:618-624.
13. Shikowitz, et al. Efficacy of the photodynamic therapy for respiratory papillomatosis: immediate and long-term results. *Laryngoscope* 1998;108:962-967.
14. Derkay, et al. Recurrent respiratory papillomatosis a review. *Laryngoscope* 2008;118:1236-1247.
15. Weinberger P. Predictors of clinically aggressive recurrent respiratory papillomatosis. *Laryngoscope* 2009;119:S104.
16. Buchinsky, et al. Multicenter initiative seeking critical genes in respiratory papillomatosis. *Laryngoscope* 2004;114:349-357.
17. Rimell, et al. Pediatric respiratory papillomatosis prognostic role of viral typing and cofactors. *Laryngoscope* 1997;107:915-918.
18. Peng, et al. Characterization of human papillomavirus type 11-specific immune responses in a preclinical model. *Laryngoscope* 2010;120:504-510.
19. Richard. Papillomatosis of nasal cavity and paranasal sinuses (inverted papilloma, squamous papilloma) a clinicopathologic study. *Cancer* 1972.
20. Brandwein. Human papillomavirus 6/11 and 16/18 in Schneiderian inverted papillomas *in situ* hybridization with human papillomavirus RNA probes. *Cancer* 1989;63:1708-1713.
21. De Mollier. Papilomatosis Laríngea, Hospital de Rivadavia, Facultad de Medicina Universidad de Buenos Aires, 2006.