

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
POSTGRADO DE ODONTOLOGÍA INFANTIL

**PREVALENCIA DE INFECCIÓN POR VIRUS PAPILOMA HUMANO EN
LA CAVIDAD BUCAL EN PACIENTES PEDIÁTRICOS**

**Trabajo especial de grado presentado ante la
Ilustre Universidad Central de Venezuela por
la Odontólogo Liliana D. Limongi B. para optar
al título de Especialista en Odontología Infantil**

Caracas, 2003

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
POSTGRADO DE ODONTOLOGÍA INFANTIL

**PREVALENCIA DE INFECCIÓN POR VIRUS PAPILOMA HUMANO EN
LA CAVIDAD BUCAL EN PACIENTES PEDIÁTRICOS**

Autora: Od. Liliana Limongi B.

Tutora: Od. Celenia Pérez

Caracas, 2003

Aprobado en nombre de la
Universidad Central de Venezuela
por el siguiente jurado examinador:

Firma_____

Dra: Celenia Pérez

Firma_____

Dr: Gustavo Pérez

Firma_____

Dra: Vilma Tovar

Lugar – Fecha_____

Observaciones:_____

Caracas, 2003

DEDICATORIA

A Nuestro Padre Eterno, lleno de amor y sabiduría

A mis padres, a quienes les debo mi vida y lo que soy dentro de ella

A mi hijo Gabriel Alejandro, motivo de mi fuerza

A mis hermanos por su solidaridad y gran corazón

A Freddy mi esposo, por la paciencia y comprensión que me tiene día a día

AGRADECIMIENTOS

A mi tutora:

Dra. Celenia Pérez, quien me ha orientado con gran dedicación, tiempo y paciencia en este trabajo.

A mi madrina:

Dra. Mildred Longobardi, quien para mí ha sido ejemplo de justicia y rectitud.

Dra. Onelia Crespo:

Por su mano siempre amiga y disposición incondicional a la verdadera enseñanza.

A mis compañeros:

Boni, María Alejandra, Adriana, Belkis y Noel, quienes me apoyaron y animaron en todo momento en la difícil tarea de la maternidad dentro de mi formación en la especialidad.

A Yoliver:

Por su invaluable amistad.

Al grupo de docentes del postgrado de infantil:

Por guiar mis conocimientos y habilidades.

Al personal que labora en la sala clínica del postgrado:

Especialmente a Yelitza, quien con su calidad humana forma uno de los pilares más importantes dentro del postgrado.

LISTA DE CONTENIDO

DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
LISTA DE TABLAS	ix
RESUMEN	xi
INTRODUCCIÓN	2
REVISIÓN DE LA LITERATURA:	4
BIOLOGÍA DEL VIRUS PAPILOMA HUMANO.....	5
CLASIFICACIÓN.....	7
CONFORMACIÓN DEL VIRIÓN.....	9
ADN DEL VPH.....	11
CARACTERÍSTICAS DE LA INFECCIÓN.....	13
EPIDEMIOLOGÍA.....	15
VÍAS DE CONTAGIO.....	20
TRANSMISIÓN DE LA INFECCIÓN POR EL VPH.....	22
PERÍODO DE INCUBACIÓN.....	23
PRESENCIA SIMULTÁNEA DE INFECCIÓN POR VPH EN MUCOSA ORAL Y GENITALES.....	24
INFECCIÓN DEL VPH Y SU RELACIÓN CON EL CANCER BUCAL.....	25
DIAGNÓSTICO.....	29
TRATAMIENTO	38
JUSTIFICACIÓN	44

OBJETIVOS.....	47
MATERIALES Y MÉTODOS.....	49
ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS.....	53
DISCUSIÓN.....	60
CONCLUSIONES.....	66
RECOMENDACIONES.....	69
BIBLIOGRAFÍA.....	71
ANEXOS.....	87
ANEXO Nº 1.....	88
FOTOGRAFÍAS DE LESIÓN PRODUCIDA POR VPH.....	89
ANEXO Nº 2.....	90
FOTOGRAFÍAS DE LA TOMA DE BIOPSIA.....	91

LISTA DE TABLAS

TABLA I.

PACIENTES Y PORCENTAJES SEGÚN LA EDAD DE NIÑOS EXAMINADOS EN EL SERVICIO DE CLÍNICA ESTOMATOLÓGICA. FACULTAD DE ODONTOLOGÍA. UCV. MARZO – OCTUBRE 200254

TABLA II.

PACIENTES Y PORCENTAJES SEGÚN EL SEXO DE NIÑOS EXAMINADOS EN EL SERVICIO DE CLÍNICA ESTOMATOLÓGICA. FACULTAD DE ODONTOLOGÍA. UCV. MARZO – OCTUBRE 2002.....55

TABLA III.

PACIENTES Y PORCENTAJES SEGÚN LA LOCALIZACIÓN DE LA LESIÓN EN NIÑOS EXAMINADOS EN EL SERVICIO DE CLÍNICA ESTOMATOLÓGICA. FACULTAD DE ODONTOLOGÍA. UCV. MARZO – OCTUBRE 2002.....56

TABLA IV.

PACIENTES Y PORCENTAJES SEGÚN EL DIAGNÓSTICO PROVISIONAL. SERVICIO DE CLÍNICA ESTOMATOLÓGICA.

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA. UCV. MARZO – OCTUBRE
2002..... 57

TABLA V.

PACIENTES Y PORCENTAJES SEGÚN EL DIAGNÓSTICO
PROVISIONAL. SERVICIO DE CLÍNICA ESTOMATOLÓGICA.
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA. UCV. MARZO – OCTUBRE 2002
.....58

TABLA VI.

PACIENTES Y PORCENTAJES ENTRE EL DIAGNÓSTICO DEFINITIVO
Y LOS RESULTADOS DE RCP REALIZADOS EN NIÑOS
EXAMINADOS. SERVICIO DE CLÍNICA ESTOMATOLÓGICA.
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA. UCV. MARZO – OCTUBRE 2002.....59

RESUMEN

El Virus Papiloma Humano (VPH) constituye un grupo viral heterogéneo, capaz de producir lesiones hiperplásicas, papilomatosas y verrugosas tanto en piel como en mucosa. En los últimos años se ha demostrado que el VPH juega un papel importante en la carcinogénesis, es por esta razón que su estudio ha despertado gran interés, desarrollándose técnicas cada vez más sensibles para su diagnóstico, no solo cuando se presentan lesiones clínicas, sino también cuando se presentan en tejidos sanos. En nuestro país, la incidencia y prevalencia de la infección es cada vez más alta, de allí la preocupación por resaltar la importancia de realizar un diagnóstico precoz en niños de las lesiones benignas en boca, lo cual permitiría un tratamiento preventivo adecuado de la lesión, evitando su transformación y progresión a lesiones premalignas y/o malignas. El objetivo de esta investigación es determinar la prevalencia del VPH en la cavidad bucal en un grupo de niños venezolanos, a los cuales se les realizó el examen clínico y biopsias de las lesiones encontradas con el fin de estudiarlas histopatológicamente y determinar las manifestaciones más frecuentes en esta población, así como establecer la correlación clínica-histopatológica que nos permite evaluar la credibilidad del operador.

INTRODUCCIÓN:

La experiencia científica indica que la mayoría de las lesiones papilomatosas que se observan en la cavidad bucal, corresponden a lesiones de etiología viral producidas por el Virus Papiloma Humano (VPH). Se ha demostrado en los últimos años el papel etiológico de la infección por este virus en el desarrollo de neoplasias intraepiteliales, carcinomas de células escamosas y epidermodisplasia verruciforme, siendo esta la razón por la que en la últimas décadas se han profundizado los estudios de este grupo viral ¹.

La existencia del VPH fue demostrada por microscopía electrónica y la variedad de distintos tipos de virus comienzan a evidenciarse treinta años más tarde. A finales de los años setenta se conocían sólo pocos miembros de esta familia, hoy se conocen más de cien tipos los cuales han sido identificados con la ayuda de las Técnicas de Biología Molecular, demostrando su asociación, en la mayoría de los casos, con numerosas neoplasias epiteliales benignas en piel y mucosa ¹.

Se ha demostrado que la mayoría de las infecciones en mucosa por el papilomavirus son subclínicas y en consecuencia asintomáticas, por lo tanto, no son detectadas clínicamente a través de los exámenes de rutina practicados al paciente, esto sólo puede hacerse por tests específicos para el papilomavirus humano o serología ².

En los últimos años se ha observado un incremento en la incidencia y prevalencia de la infección por VPH, lo cual está relacionado a cambios en los hábitos sexuales y la mayor promiscuidad concomitante. Así la presencia del virus es diagnosticada más frecuentemente en lesiones benignas, premalignas y malignas en Cuello Uterino, Vulva, Vagina, Mucosa Anorectal, Esófago, Laringe, Cavidad Bucal y Piel ².

En Venezuela, se han realizado trabajos identificando las lesiones papilomatosas originadas por la infección del VPH, sin embargo hasta el momento no se ha estudiado la prevalencia de este virus en la cavidad bucal del paciente pediátrico, lo que ha obligado a los clínicos a extrapolar las características presentes en las manifestaciones del adulto.

El presente trabajo trata del estudio de la prevalencia del VPH en una población infantil venezolana y tiene como objetivos determinar las manifestaciones bucales más frecuentes de la enfermedad en este grupo etario, así como la correlación clínico-histopatológicas de las lesiones estudiadas.

REVISIÓN DE LA LITERATURA:

El Virus Papiloma Humano (VPH) era considerado hasta hace dos décadas aproximadamente, un agente capaz de producir lesiones triviales. Actualmente se le considera como una de las entidades de mayor interés para el clínico, no sólo por el aumento en su frecuencia sino también por estar íntimamente vinculado en la carcinogénesis. Este virus, que induce cambios malignos en el cervix del útero, también lo puede producir en la mucosa bucal. Debido a que la infección podría ser un evento temprano en los procesos de transformación maligna de las células epiteliales de la boca, se ha incrementado el conocimiento del papel de éstos en la mucosa oral ¹.

El VPH, pertenece a un grupo muy distintivo de virus cuyo genoma es ADN, con la característica biológica particular de epiteliotropismo y una inusual historia natural de infección subclínica infrecuente pero con consecuencias serias ².

BIOLOGÍA DEL VIRUS PAPILOMA HUMANO

Los virus de Papiloma (VP) son miembros de la familia viral Papovaviridae, los cuales son considerados como tumores virales sobre las bases de su habilidad para inmortalizar las células normales. Esta familia viral incluye el virus del Polioma, el virus del Papiloma Shope, virus del mono Vacuolado (SV.40) y los virus de Verrugas Humanos, ganados, perros, caballos, cabras,

cerdos y otras especies, y causan infecciones tanto activas como latentes en su hospedero natural ^{2,3}.

Los VP pueden solamente completar un solo ciclo natural de vida replicativa en el epitelio escamoso diferenciado. Esto, junto a un alto grado de especies específicas ha restringido el estudio de su biología y el desarrollo de diagnósticos y terapias ².

Por técnicas de Biología Molecular se sabe que los VP son los virus ADN más pequeños que existen, representan estructuras icosaédricas de 55nm de diámetro, con peso molecular aproximado de 5×10^6 Daltons y contienen proteínas, sin envoltura, con núcleo o genoma de ADN viral, circular en doble hélice, aproximadamente de 8.000,00 pares de bases; protegido por la cápside conformada por unidades proteicas que se repiten o capsómeras (en un total de 72), que facilitan el acoplamiento de proteínas virales ⁴.

El ADN viral contiene toda la información genética necesaria para reproducirse (transcripción) y el código para fabricar sus propias proteínas y enzimas (traducción). El virus entra a la célula por picnocitosis dejando afuera la cápside. La infección viral interrumpe la síntesis de proteínas y de ácidos nucleicos de la célula hospedera en grado variable, dedicándose ésta a fabricar las proteínas que requiere el virus. Se forman así partículas virales

maduras (viriones), que son liberadas del citoplasma por lisis y van a infectar otras células ⁵.

CLASIFICACIÓN

Los VP son clasificados de acuerdo al hospedero natural y en relación con sus ácidos nucleicos, así tenemos Papiloma Virus Humano (VPH), Papiloma Virus Bovino, etc. Los VPH aislados de la misma especie son subclasificados en tipos, de acuerdo a la homología de su secuencia de ácidos nucleicos, a través de técnicas de fragmentación con endonucleasas y de hibridización molecular. Cualquiera que se aísle y presente menos del 50% de homología con las ya existentes es designado como un nuevo tipo, y se le asigna el número de acuerdo al orden de descubrimiento. Si la homología es más alta del 50% son consideradas como subtipos, y si ésta es cercana al ciento por ciento con sólo pocas diferencias en las secuencias de nucleótidos, son considerados como variantes del mismo tipo viral ^{6,7}.

Inicialmente se habían identificado más de 65 tipos de VPH, número que se ha ido incrementado a través de los nuevos estudios. Los nuevos tipos de VPH, se obtienen realizando homologías de secuencias entre regiones específicas del genoma (genes E6, E7 y L1), los cuales muestran segmentos altamente conservados (si la homología es menos de un 90% constituye un

nuevo tipo viral, mientras que una homología mayor del 90% es un subtipo adicional ⁸.

Los VPH fueron agrupados de acuerdo a los diferentes tipos en alto, intermedio y bajo grado de incidencia en lesiones intraepiteliales escamosas y en Cáncer. El resultado de los grupos es el siguiente:

A: Tipos de VPH de bajo riesgo: 2, 6, 11, 13, 42, 43 y 44.

B: Tipos de VPH de riesgo intermedio: 31, 33, 35, 50, 51 y 52.

C: Tipos de VPH de alto riesgo: 16, 18, 45 y 56 ⁹.

Además, de manera general, los VPH han sido divididos en tres grandes grupos:

1. Tipo relacionado a piel.
2. Tipo relacionado a Epidermodisplasia Verruciforme (EV).
3. Tipo relacionado a lesiones en mucosa ¹⁰.

Algunos VPH específicos están asociados con lesiones en mucosa y en piel de manera simultánea entre ellos: VPH – 1, -2, -3, -4, -7, -10 y -57. Las lesiones bucales de los tipos de VPH relacionados con piel están localizadas predominantemente en labio, paladar, mucosa bucal, lengua y encía con una frecuencia decreciente ¹⁰.

En lesiones bucales existen aproximadamente 24 tipos: VPH-1, -2, -3, -4, -6, -7, -10, -11, -13, -16, -18, -30, -31, -32, -33, -35, -45, -52, -55, -57, -59, -69, -72 y 73, los cuales han sido descritos asociados a lesiones benignas ¹¹. Sin embargo otros autores han reportado subtipos de los VPH 2, -3, -6, -11, -13, -16, -18, -31,-33, -35, -52 y -57, asociados con células escamosas y carcinoma verrugoso ¹². Además, han sido aislados en hiperplasia epitelial focal los tipos: VPH -13, -18 y -32. Los tipo VPH -2, -6, -7, -11, -13, -16, -18, -31, -33, -35, -55, -59 y -69 se encontraron en verrugas orales ¹⁰.

Entre los pacientes infectados con el virus de inmunodeficiencia humana se encontraron en verrugas orales los tipos de VPH -7,-13, -18, -32 y los tipos -72 y -73 fueron encontrados en verrugas con atípia ¹³.

En los últimos años se han identificado más de 100 tipos de Virus Papiloma Humano, cada uno a su vez conteniendo varios subtipos, algunos de los cuales son carcinogénicos, aunque la mayoría generalmente causan lesiones epiteliales benignas ^{2,9}.

CONFORMACIÓN DEL VIRIÓN

Los viriones consisten de un núcleo central de ADN encerrados dentro de una cápside de proteínas virales. La cápside tiene simetría icosaédrica y un diámetro de 55nm, lo cual le da al virión una forma esférica al ser observado

al microscopio electrónico. La cápside consiste de 60 capsómeros hexavalentes y 12 capsómeros pentavalentes, que contienen dos tipos diferentes de proteínas estructurales: la proteína menor (L2) de la estructura viral, necesaria para la generación de viriones infectados y una proteína mayor (L1) de peso molecular de 76.000,00 Daltons ^{14, 15}.

La proteína mayor de la cápside del VP, en animales y humanos produce reactividad cruzada y no sirve como antígeno específico del género; por el contrario, según estudios de inmunohistoquímica, la proteína menor de la cápside parece ser de tipo específico y brinda un blanco provechoso para el tipo de infección por VPH ⁶.

Estudios recientes realizados en modelos de animales, reportan que se han logrado progresos en el desarrollo de una vacuna profiláctica de VPH para prevenir la infección genital y, por ende, sus asociaciones a lesiones tanto benignas como displásicas, con la utilización de inmunizaciones que contienen L1 o L1/L2 dentro de partículas como virus, las cuales son morfológica y antigénicamente similares al virión nativo, es decir sin el ADN potencialmente oncogénico. Estas inmunizaciones contienen anticuerpos neutralizantes que le confieren protección por largo tiempo a varios modelos de animales. Esto puede ser una estrategia atractiva para crear una vacuna contra los múltiples tipos de VPH y otras enfermedades de transmisión sexual ¹⁴.

ADN DEL VPH

Los VP tienen un genoma de ADN con doble cadena circular y con una longitud de nucleótidos alrededor de 7,9 Kilopares de bases. La información genética viral está localizada en una de estas cadenas del ADN del genoma. El ADN viral está combinado con histonas (derivadas de las células del hospedero) , adoptando una condensación nucleosomal típicas de células eucarióticas ^{6, 16, 17} .

El funcionamiento del genoma de los VPH está dividido en dos largos dominios y cada uno de ellos contiene una serie de marcos de lectura abierta (MLA), que son los encargados de codificar diferentes proteínas virales. La región temprana (E), comprenden aquellos genes que son transcritos inicialmente, representando el 45% aproximadamente del genoma viral; y la región de genes tardía (L), comprenden un 40% del genoma y contienen dos largos marcos de lectura abierta que codifican para las proteínas estructurales de la cápside del virus (L1 y L2). La región de lectura abierta contiene 8 marcos que codifican para las proteínas asociadas con la regulación, la transcripción viral y la replicación del genoma (E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7) ⁵ .

La región reguladora es el intervalo genético que más probablemente diverge entre los tipos virales; y, algunas de estas diferencias han estado

correlacionadas con cambios en el potencial oncogénico y de virulencia. Esta región representa el 15% del genoma viral, el cual no tiene la capacidad de codificar; pero si contiene los elementos regulatorios virales. Esta zona es conocida con diferentes nombres como son: Región de Control Larga, Región no Codificante o Región Regulatoria 5' ^{5, 18}.

En lesiones benignas, el ADN viral se encuentra como una cadena circular cerrada que no se integra al material cromosómico del hospedero, y en lesiones malignas, a menudo se encuentra integrado al material cromosómico del hospedero, en los sitios de los MLA E1 y E2 ¹⁸.

Las funciones biológicas de cada uno de los marcos han sido bien identificadas. Así el gen E1, es responsable de la replicación y mantenimiento del ADN dentro de las células del hospedero. El gen E2 es definido como un activador transcripcional y se ha demostrado que puede actuar como un represor ¹⁹.

En cuanto a los genes E4 y E5, la función de estos no es bien conocida sin embargo, el producto del gen E4 ha sido detectado como inclusiones granulares en el citoplasma de las células que producen lesiones papilomatosas y posiblemente juegan un papel en la maduración viral. El gen E5 mantiene el control sobre el número de copias plasmídicas durante las transformaciones celulares ²⁰.

Los MLA E6 y E7 son los encargados de codificar las proteínas de los virus del papiloma e intervienen en la transformación ²¹. Existen reportes que señalan que estos genes juegan un papel importante en la carcinogénesis cervical, y una serie de transformaciones “in vitro” demuestran que los genes E6 y E7 codifican oncoproteínas, las cuales son necesarias y suficientes para una inmortalización de células naturales del hospedero (Células Primarias Epiteliales Escamosas Humanas); esto ocurre con los VPH de alto riesgo oncogénico específicamente con los tipos 16 y 18, situación que no ocurre con los VPH de bajo riesgo ²².

Los MLA del gen L1 contienen secuencias altamente conservadas en los diferentes tipos de VP, y codifican para un antígeno específico, produciendo la proteína menor de la cápside. Por otro lado el gen L2, proteína mayor de la cápside, codifica para otro antígeno distinto y es altamente variable en los VPH ^{19, 23}.

CARACTERÍSTICAS DE LA INFECCIÓN

La capacidad para identificar los subtipos de VPH, han sido determinantes en el conocimiento de la historia natural de esta infección viral. Sin embargo, la dependencia de diferentes métodos de identificación del ADN viral, hace que aún existan dificultades en el conocimiento total de la epidemiología. Se han definido tres etapas en la historia natural de esta infección, a saber:

CLÍNICA: caracterizada por signos reconocibles, sin procedimientos auxiliares de ayuda diagnóstica.

SUBCLÍNICA: detectable sólo con la ayuda del colposcopio o microscopio.

LATENTE: cuando sólo puede ser detectada por procedimientos de identificación del ADN viral ²⁴.

La infección por el VPH puede ser:

A. AGRESIVA: Afecta múltiples órganos: Cuello uterino, Vagina, Vulva, Vejiga, Anorecto, Laringe, Esófago, Cavity Bucal, etc. ²³.

Se ha detectado VPH, en el 90% de los cánceres infiltrantes del cuello uterino. En mujeres con cáncer cervical pueden recidivar en un 57% de los casos ²³.

B. CONTAMINANTE: Puede transmitirse por vía sexual y asexual. Se han reportado casos de carcinomas de fosas nasales y senos paranasales, donde se ha identificado la presencia de VPH con los subtipos 16 y 18, en médicos que tratan con electrocoagulación lesiones del cuello uterino ²³.

C. RESISTENTE: El VPH tiende a ser resistente a diversos tratamientos y ocurren con frecuencias recidivas, reinfecciones, nueva infección, resistencia, persistencia o reactivación de la infección. La pareja sexual del paciente debe ser tratada simultáneamente, y deben evitarse relaciones sexuales sin preservativos durante el tratamiento ¹⁰.

EPIDEMIOLOGÍA

La incidencia y prevalencia presentan dificultad para su determinación debido a la variedad de métodos utilizados, por lo tanto pueden verse variaciones muy amplias en diversos estudios. Se ha reportado una incidencia en Inglaterra de 106 x 100.000 casos ¹, y más recientemente 122 x 100.000 casos en el mismo país ².

En cuanto a la prevalencia, la cual ha sido más usada, se han señalado variaciones que van de 0,3% hasta 80% en diversas poblaciones ^{19, 24}.

La infección por VPH ha sido propuesta como un importante evento en la patogénesis de carcinomas orales y faríngeos, los cuales representan el 6% de todos los cánceres humano, siendo el carcinoma de células escamosas el tipo histológico más frecuente ²⁵.

En los últimos años se ha observado un incremento en la incidencia de infección por VPH, lo cual está relacionado a cambios en los hábitos sexuales y la mayor promiscuidad concomitante. Cada vez se diagnostica más frecuentemente la presencia del virus en lesiones benignas, premalignas y malignas en Cuello Uterino, Vulva, Vagina, Mucosa Anorectal, Esófago, Laringe, Cavidad Bucal y Piel ²³.

En un estudio realizado en 1996 sobre enfermedades de transmisión sexual, se reporta que aproximadamente dos de cada tres personas que tienen contacto sexual con un compañero con verrugas genitales desarrollan esta enfermedad ²⁶.

En un estudio realizado en la India, se encontró que el 70% de los pacientes evaluados presentaban infección por VPH de alto riesgo tipos 16 y 18, llegando a la conclusión de que este virus juega un papel importante en la oncogénesis oral, representando éste del 30 al 40 % de las enfermedades malignas en este país, en contraste con otros países del Oriente en donde el cáncer oral producido por presencia de VPH representa del 3 al 4% ²⁷.

En Estados Unidos, la tasa de incidencia de VPH que causan cáncer cervical es de 8.3 por 100.000 con aproximadamente 14.000 casos y 5000 muertes anualmente ².

En relación al sexo es de esperar que la prevalencia en varones sea similar a la de las mujeres, pero existe mayor dificultad en obtener muestras adecuadas ya que éste no acude regularmente a la consulta médica, lo cual podría explicar las cifras menores de prevalencia señaladas en la mayoría de los estudios realizados ^{2, 24}.

Algunos estudios de prevalencia por edad realizados en Estados Unidos han mostrado un claro grado de contagios a partir de los 25 años ¹⁹. Sin embargo, en un análisis realizado en 1992, se determinó que en una muestra de 10.778 mujeres entre los 15 y 24 años había un ascenso hasta de un 17% de contagios, ya que es en este período donde se sucede una actitud liberal con respecto a la conducta sexual, facilitando un aumento de las enfermedades de transmisión sexual incluyendo la infección por VPH. A partir de los 34 años, cuando se estabiliza la conducta de los individuos, se evidencia una disminución para descender notoriamente después de los 50 años, donde la conducta sexual se considera conservadora y monogámica disminuyendo así la tasa de infección en hombres y mujeres sexualmente activos ^{24, 28}.

En un estudio realizado en Canadá para el año 2001, se observó que en el grupo etario comprendido entre 0 y 10 años de edad había un alto porcentaje de muestras positivas al VPH (86%) en relación con los otros grupos etarios, y las formas clínicas que predominaban eran las verrugas y papilomas

laríngeos. De los virus aislados el 68% eran de origen genital, observándose con más frecuencia el tipo 6 y 11. En este caso los niños fueron sometidos a biopsias por sospecha de abuso sexual o bien para la confirmación del diagnóstico de VPH en papilomas laríngeo ²⁹.

La prevalencia de carcinomas orales reportados asociados con VPH tiene una variedad bastante amplia. Esto se debe a las diferentes poblaciones estudiadas y a la sensibilidad del método utilizado para la detección del virus, así hay una gran cantidad de estudios de prevalencia donde la infección por este virus es alta en países como la India, mientras que es baja en los países Occidentales. Las muestras tomadas en poblaciones mixtas pueden, por lo tanto, resultar en una frecuencia inadecuada. Otra dificultad en la detección del VPH en el cáncer oral, puede deberse a la presencia de un número bajo de virus copiados, unido a que cada vez, los especímenes orales son más heterogéneos y contaminantes con el tejido normal circundante ^{1, 27}.

Se ha demostrado que la mayoría de las infecciones en mucosa por el papilomavirus son completamente asintomáticas y también subclínicas, por lo tanto, no son detectadas como una enfermedad clínica franca a través de los exámenes de rutina practicados al paciente, esto puede sólo ser detectado por tests específicos para el papilomavirus humano o por serología, constituyendo esto otro factor a tomar en consideración en cuanto a la incidencia y prevalencia ².

En Venezuela, la más alta prevalencia en infección por VPH fue reportada en un estudio sobre Hiperplasia Epitelial Focal, realizado en niños indígenas donde el virus fue aislado en un 38,8% de los casos ³⁰.

El primer estudio realizado en nuestro país, que identifica el tipo de VPH usando técnicas de biología molecular en lesiones papilomatosas bucales es reportado entre 1992 y 1993, en el se evidencia el rol del virus en las lesiones bucales de las verrugas vulgaris. Este estudio fue efectuado en pacientes con edades comprendidas entre 5 y 37 años, de los cuales el 50% de las lesiones estaban en el paladar duro y la técnica empleada para aislarlo fue la hibridación in situ del ADN, el virus aislado fue el tipo13 ^{31, 32}.

En otro estudio realizado en 1999, se reportaron 18 casos de lesiones papilomatosas bucales en niños indígenas, de los cuales 16 casos por histopatología eran sugestivos de infección por VPH ³³.

En Venezuela en el año de1998, se hizo un estudio de prevalencia y se determinó la presencia de VPH en lesiones clínicamente benignas de la cavidad bucal en un 55% de los pacientes estudiados con lesiones y en un 10% de las muestras control de mucosa sana, este estudio se realiza por técnicas de Biología Molecular y se detectan y tipifican los tipos 6, 11, 13, 16 y 32 en el Papiloma Bucal, Verruga Vulgar; Condiloma Acuminado y en Hiperplasia Epitelial Focal. El sexo femenino resultó ser el de mayor

incidencia de las lesiones benignas y el rango de edad se ubicó entre la segunda y cuarta década de la vida para la lesión del Papiloma Bucal y en la primera década para la Hiperplasia Epitelial Focal ³⁴.

La HEF tiende a ocurrir en niños menores de 18 años, en donde la predisposición hereditaria ha sido sustentada por casos de ocurrencia familiar, sin embargo, en más del 90% de los casos se han encontrado que tanto el ADN del tipo 13 y 32 se aíslan en este tipo de lesiones, mostrando que estos dos tipos de virus son típicos de esta enfermedad ³⁵. Recientemente se reportó un caso de una niña hispana de 5 años de edad, quien presentaba al examen clínico ligeras elevaciones con nódulos de apariencia fisurada a lo largo de la mucosa oral y en la cara dorsal de la lengua, se le realizó biopsia incisional con la posterior evaluación histopatológica y el estudio de ADN por hibridación in situ, dando como diagnóstico una Hiperplasia Epitelial Focal causada por VPH tipo 13 y 32 ³⁶.

VÍAS DE CONTAGIO DEL VPH

El VPH es usualmente propagado directamente por contacto durante el sexo vaginal, anal y bucal con personas infectadas. La infección de VPH también puede ser transmitida por personas que no tienen lesiones visibles, sin embargo ciertas investigaciones reportan que esta condición es menos contagiosa que los que presentan verrugas ²⁶.

También se han reportado otras vías de contagio como son las siguientes:

- Autoinoculación (dedos de las manos).
- Contaminación transplacentaria durante el embarazo o en el momento del parto
- Exploración digital de ano y genitales utilizando un mismo guante.
- Esterilización inadecuada de instrumental médico-quirúrgico, durante exámenes ginecológicos, exploraciones endoscópicas y bucales.
- Sillas, mesas ginecológicas, sábanas, batas de pacientes, paños húmedos, etc.
- Bidete o bañeras utilizadas por personas contaminadas ^{37, 38, 39}.

El riesgo del contagio está aumentado en personas homosexuales, bisexuales, inmunosuprimidos (pacientes con diálisis renal, pacientes transplantados, Sida, etc), fumadores crónicos, promiscuos (múltiples parejas sexuales en adolescencia), drogadictos, cónyuges de pacientes contaminados por el virus, pacientes usuarios de anticonceptivos orales, progesterona o esteroides ²³.

TRANSMISIÓN DE LA INFECCIÓN POR EL VPH

Puede ser de dos tipos:

1. Horizontal: Entre miembros de una población de hospederos susceptibles, es decir, por medio de la transmisión sexual en la que el coito permite la transmisión y diseminación de la enfermedad. Los sitios más frecuentes para el desarrollo de verrugas, son los de zonas sujetas a abrasión durante el coito, como la parte posterior del introito en mujeres, el prepucio y el frenillo en varones y región perianal en ambos sexos ⁴⁰.

Estudios realizados han demostrado, que aproximadamente el 66% de los compañeros de mujeres con condiloma cervical o neoplasia intraepitelial cervical tienen signos de infección peniana por VPH, la mayor parte de ellos microscópicamente visible (24, 36). Así como compañeros sexuales de mujeres infectadas con VPH, pueden estar contaminados en un 70 – 90% de los casos ⁴¹.

Otra forma de propagación horizontal es a través del humo que se genera durante las electrocoagulaciones del cuello uterino, la cual puede desplazar la partículas de proteína viral o viriones, que pueden contaminar las fosas nasales y senos paranasales del médico tratante ⁴².

2. VERTICAL: Es la de tipo no sexual, y es la que ocurre a través de la infección intrauterina del feto. Se ha considerado implicada en la Papilomatosis Laringea Juvenil y está relacionada con el VPH –11, o menos frecuentemente con el tipo -6^{42, 43}.

PERÍODO DE INCUBACIÓN

El promedio del período de incubación es de 3 a 6 meses, comenzando inmediatamente después del contacto sexual inicial con una persona infectada. Cuando el VPH es transmitido de una persona a otra, infecta las capas superficiales de la piel, localizándose finalmente en las células más profundas donde pueden permanecer inactivo o latente por meses o posiblemente por años, antes de aparecer alguna verruga u otro signo. Es frecuente observar en mujeres que para el momento de su evaluación médica presentan infección por VPH en su estudio citológico, a pesar de mantener relaciones sexuales monogámicas con pareja sana por muchos años, lo cual se puede explicar por contactos sexuales previos a la relación actual²⁶.

PRESENCIA SIMULTÁNEA DE INFECCIÓN POR VPH EN MUCOSA ORAL Y GENITALES

En 1998, se realizó un estudio en la Universidad Católica de Roma cuyo objetivo de investigación fue el de establecer en algunos sujetos, la prevalencia de infección por VPH en diferentes sitios anatómicos y diagnosticar la presencia simultánea del virus de manera simple o múltiple. Para esto, las muestras fueron tomadas de la cavidad bucal, del cuello uterino y área vulvo-vaginal; las mismas fueron evaluadas a través de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP) para determinar la secuencia de ADN. El resultado de este estudio mostró la presencia simultánea de infección por VPH en mucosa genital y cavidad bucal en 9 de 16 pacientes estudiados, encontrándose concordancia de tipos específicos de VPH en 7 de los 16 pacientes. Esta concordancia parcial de los tipos de VPH, según estos investigadores, podría sugerir que no existe una transmisión directa desde la cavidad bucal al área genital o viceversa en algunos pacientes, esta hipótesis está más reforzada por el hecho de que algunos pacientes niegan tener relaciones orogenitales ⁴⁴.

La infección de VPH que se presenta simultáneamente en varios sitios anatómicos, aumenta la posibilidad de que existan diferentes reservorios en el organismo para distintos tipos del virus, lo cual fue concluido en un estudio

realizado en 26 pacientes, en donde 9 mostraban la presencia simultánea de la infección en el tracto vaginal y la cavidad bucal ^{45, 46}.

La presencia simultánea puede ser detectada en un alto índice, aún en mucosa clínicamente normal, cuando son utilizados procedimientos de diagnósticos sensibles como los estudios de biología molecular a través del RCP ⁴⁷.

INFECCIÓN DEL VPH Y SU RELACIÓN CON EL CÁNCER BUCAL

El reconocimiento de una relación entre genotipos específicos del VPH y el desarrollo de lesiones benignas y malignas de la mucosa genital han enfocado su atención en otros sitios susceptibles a la infección viral, como la mucosa bucal. Así los tipos de VPH 1, 2, 4, 6, 7, 11, 13, 16, 18, 30, 32 y 57 han sido detectados en lesiones benignas y malignas de la cavidad bucal ^{48, 49}.

Los factores que se piensan que están relacionados en la patogénesis del cáncer bucal, incluyen la masticación de la nuez de betel, como también el hábito tabaquico y el consumo de alcohol. Existen varios factores adicionales como la susceptibilidad individual que incluye factores genéticos inherentes y agentes externos tales como factores dietéticos e ingesta baja en frutas y vegetales. Además, estudios epidemiológicos han demostrado que agentes

infecciosos pueden jugar un papel etiológico en este proceso, entre ellos, la frecuencia de ocurrencia de la infección del Virus Herpes Simple (VHS) en la cavidad bucal, así se ha encontrado anticuerpos del VHS en suero de pacientes con cáncer bucal, y existen estudios que reportan que el Virus Papiloma Humano y el Virus Epstein-Barr pueden jugar un rol sinérgico en la oncogénesis bucal ^{27, 50, 51, 52}.

Es bien aceptado que la presencia del VPH tipo 16 y 18 es un factor de riesgo para el cáncer de cabeza y cuello. Aproximadamente del 20 al 70% de los pacientes con cáncer de cabeza y cuello tienen VPH tipo 16 o 18, los cuales son considerados indicadores de alto riesgo en el cáncer cervical ⁵³.

Existen estudios que demuestran que uno de cada tres cáncer de laringe mostraban una semejanza histológica con las regiones infectadas con el papilomavirus y resultaban positivo al antígeno de la cápside del VPH por inmunohistoquímica ⁵⁴. También se ha demostrado que 14 de 20 casos de pacientes con carcinoma in situ en cabeza y cuello, resultaron positivo por técnicas de hibridación ³⁸.

Usando RCP, se encontró que un 34,5% de los cánceres de cabeza y cuello estudiados eran positivos al VPH, de estos el más frecuentemente detectado fue el tipo 16 encontrándose en diferentes sitios: 75% en cáncer bucal, 46% en cáncer de laringe y 100% en cáncer de faringe. El tipo 18

también fue detectado pero en un 30% de los carcinomas bucales y en un 15.9% de los carcinomas de laringe y faringe ⁵³.

En otros estudios, se demostró que los VPH de bajo riesgo tipo: 6 y 11 son encontrados a menudo en lesiones con baja propensión hacia la progresión maligna, mientras que los VPH de alto riesgo tipo:16 y 18 se encuentran en lesiones precursoras de cáncer bucal ⁵⁵.

La alta prevalencia de la infección por VPH en casos de lesiones orales premalignas, indican que la infección podría ser un evento temprano en el proceso de transformación maligna de las células epiteliales de la cavidad bucal ¹.

El cáncer bucal y de laringe constituyen ambos la sexta entidad maligna más común en el mundo, contabilizando para casi el 4% de todos los cáncer y el 2% de muerte por este. Dentro de la Unión Soviética, hay cerca de 2000 nuevos casos y 900 muertes por cáncer bucal cada año. En algunos países, tales como la India, el cáncer bucal es la forma maligna más común, constituyendo casi el 40% de todos los cáncer. Esta alta incidencia también se encuentra en la región del nor-oeste de Francia y Europa Central y la manifestación principal es el Carcinoma de Células Escamosas (Carcinoma Epidermoide), mostrando predilección por ciertos sitios anatómicos, específicamente por la región de la lengua ^{1, 56}.

La asociación epidemiológica del VPH con el Carcinoma de Células Escamosas, así como la evidencia biológica dada por la transformación de las células epiteliales por oncogenes del virus, sugieren que los VPH específicos son importantes para el proceso de malignización, sin que este determine el tamaño ni el estado del tumor ^{1, 56, 57}.

Varios reportes han sido realizados en cuanto al desarrollo de neoplasias intraepiteliales y el carcinoma invasivo de células escamosas en individuos inmunosuprimidos, particularmente en lesiones inducidas por el virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH). Parece que en estos pacientes, su misma inmunosupresión, más que el modo de transmisión de la enfermedad, incrementa el riesgo de asociarse VPH a neoplasias cervicales. La inmunosupresión puede provocar que la infección con tipos de VPH de alto riesgo sea la más frecuente y más persistente, además de conducir, en ciertas ocasiones, a una progresión más rápida desde tipos de bajo grado a altos grados de neoplasias en una variedad de sitios mucocutáneos ⁵⁷.

En individuos infectados con VIH, el carcinoma de células escamosas orofaríngeo es predominantemente visto en grupos de pacientes jóvenes y a menudo en ausencia de factores de riesgos usuales. Esto sugiere, que en estos pacientes inmunosuprimidos, por sí solos o en combinación con otros factores que han sido identificados en la población general, pueden contribuir al desarrollo de carcinomas de células escamosas, en donde la

expresión E6 del VPH-16 juega un rol en los estadios tempranos de la neoplasia y en la progresión rápida hacia el carcinoma en estos pacientes ⁵⁷.

DIAGNÓSTICO

Existen diferentes métodos de diagnóstico, entre los cuales se mencionan los siguientes:

1. CLÍNICA: El diagnóstico se basa en la observación clínica, así tenemos que las manifestaciones clínicas a nivel de las zonas genitales son escasas, pero las lesiones son morfológicamente igual a los Condilomas Acuminado y Papilomas presentados en la cavidad bucal y a los de la laringe. Estos son de color blanco y rosado, con forma de coliflor, de bordes pronunciados y muestran bordes irregulares, por lo general son asintomáticos pero pueden presentarse con prurito, ardor o sensibilidad aumentada en la región infectada ⁵⁸.

Existen infecciones por VPH en forma latente y subclínica, como también lesiones planas que no son fácilmente identificadas por simple observación clínica. Por lo general, las lesiones producidas por VPH, pueden resaltarse aplicando Ácido Acético o Azul de Toluidina al 2% (Test de Collins). El Ácido Acético ha sido cuestionado cuando es utilizado para la identificación de lesiones producidas por el virus en la cavidad bucal, debido a que existen

otras lesiones no relacionadas con él que también tienden o dan un color blanquecino de la mucosa bucal ^{23, 59}.

2. CITOLOGÍAS: La citología se toma del exocérvix con espátula de Ayre y en el endocérvix con hisopo humedecido con solución salina, o con Cyto-Brush (cepillo de nylon) con lo que se incrementa la calidad de la muestra ^{60, 61, 62}.

Los cambios morfológicos característicos de la infección por VPH, son las células coilocíticas como también la presencia de discariosis, paraqueratosis, células superficiales grandes y multinucleadas. Las células coilocíticas 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 ^{63, 64}.

En la clasificación de la citología exfoliativa del cuello uterino (Sistema Bethesda), se incluyen criterios citológicos de infección por VPH (National Cancer Institut, 1988), sin embargo, en la actualidad este sistema a pesar de ser usado ha sido cuestionado por sus bases biológicas ².

3. COLPOSCOPIA: Este método consiste en el examen de la región cervical, evaluando zona de vulva, vagina y cuello uterino. Ha sido usada para

identificar zonas de neoplasias intraepitelial cervical, al reportarse una citología anormal^{65, 66}.

Al examinar el cuello uterino previa aplicación de ácido acético, justo en la zona del exocérnix y a nivel del canal cervical (endocérnix) el clínico puede observar que no hay lesión, lo cual se puede traducir como epitelio normal o bien una infección subclínica, un condiloma plano (epitelio blanco al ácido acético), o un condiloma acuminado exofístico^{23,38}.

La valoración colposcópica de las alteraciones del cervix debe basarse en cinco características morfológicas de la lesión focal:

1. Patrón vascular.
2. Distancia intercapilar.
3. Características de la superficie.
4. Color y tono.
5. Demarcación de los bordes de la lesión³⁸.

Por lo tanto, en todo estudio colposcópico debe tomarse en cuenta estos cinco parámetros con la finalidad de reconocer el sitio de mayor anormalidad para la toma de la muestra³⁸.

En el sexo masculino se examina el glande, meato uretral y prepucio. Se pueden observar clínicamente: lesiones exofísticas, irregulares y ásperas; o

bien lesiones circunscritas pequeñas o máculas bien demarcadas y planas que a veces son numerosas y pequeñas (siendo la presentación más frecuente de la lesión en un 77%). El VPH del pene puede inducir el desarrollo de una neoplasia intraepitelial, la cual puede llegar a progresar hasta un cáncer infiltrante^{23, 38}.

4. BIOPSIAS: Este tipo de metodología depende del patólogo y el diagnóstico puede variar cuando las muestras de los tejidos son algo atípica. Por otra parte, esta técnica tiene la limitante de no proveer ninguna información sobre el genotipo del virus infectante, además de no permitir, en algunas ocasiones, la detección del VPH porque las células aparecen como normales^{23, 67}.

Este estudio hace la identificación por medio del examen microscópico de secciones de tejidos previamente fijados y procesados utilizando la tinción de hematoxilina y eosina. Se toman en consideración cambios específicos en el tejido celular (Disqueratosis), patrones de crecimiento celular (hiperplasia y acantosis) y apariencia del núcleo (cambios coilocíticos) como elementos importantes para establecer un diagnóstico específico o sugestivo de infección por VPH^{68, 69}.

5. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA: La sensibilidad del microscopio electrónico para la detección de la infección por VPH en genitales está entre

el 10 y 50%. En la cavidad bucal, también han sido identificadas las partículas del virus en una gran variedad de lesiones epiteliales ³⁸.

Existen limitaciones en cuanto al uso del microscopio electrónico. Entre ellas se han reportado el bajo número de partículas virales en infecciones subclínicas, en donde se hace progresivamente más difícil de encontrar evidencias de infección viral productiva, por lo tanto esta técnica solo se puede usar en lesiones en las que el número de partículas virales es muy alto, aumentando así la posibilidad de observarlos ^{67, 70}.

Otra razón por la cual no ha sido utilizada como una técnica rutinaria para examinar muestras de pacientes, es que el procesamiento de las muestras por microscopía electrónica resulta ser un método bastante costoso y laborioso ⁷⁰.

6. INMUNOCITOQUÍMICA: Consiste en el reconocimiento de los virus papiloma en frotis celulares o cortes de tejido, usando anticuerpos marcados con peroxidasa o moléculas fluorescentes para visualizar proteínas virales, los cuales son preparados mediante la inmunización de animales con VP purificados. Estos reconocen fundamentalmente los antígenos específicos del grupo de la cápside, los cuales son altamente reactivos ⁷¹.

Esta técnica tiene la limitante de que el número de células productoras de antígenos susceptibles de ser detectado es muy pequeño, debido a que la producción de partículas virales en tejidos infectados es limitada. Con esta técnica, los reactivos serológicos específicos de grupo no permiten distinguir los diferentes tipos de VPH ⁷¹.

7. HIBRIDACIÓN DEL ADN: Es un método de gran sensibilidad para identificar y tipificar los diversos VPH en tumores primarios, ganglios linfáticos, metástasis a distancia y hasta en lesiones con falsos negativos ^{70, 72}.

Con esta técnica es posible determinar la presencia del virus y más específicamente de su ADN, hibridando el ADN celular total en muestras de biopsias o de frotis de tejido, con sondas moleculares específicas para un determinado tipo de VPH. Las cadenas de ADN del virus contenidas dentro de las lesiones se desnaturalizan y se hibridan con la secuencia de sondas virales marcadas. Si el ADN celular contiene secuencias nucleotídicas virales, se producirá una interacción (hibridación) de pares de bases con las cadenas complementarias de las sondas de ADN ⁷³.

Se utilizan varios métodos para detectar secuencias de ADN viral que involucran el aislamiento del ADN de la muestra a estudiar; ellos son: Transferencia Southern, el Dot-blot, la Hibridación Inversa y la Hibridación en

Sándwich. Existen otra pruebas que pueden ser realizadas directamente sobre tejidos o en citologías como son: Hibridación “in situ” (HIS) directamente en cortes de tejido, la Hibridación “in situ” en filtros (HISF); usando sondas biotiniladas y la Hibridación en placas empleando sondas de ARN ^{73, 74, 75}.

8. REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (RCP): Esta técnica ha sido también aplicada para la identificación de VPH en lesiones de la cavidad bucal, usando para ello muestras de tejidos de frotis y biopsias. En todos estos estudios la RCP ha demostrado ser la técnica de detección más sensible, detectando la presencia del ADN del virus en enfermedades subclínicas, reduciendo así los falsos negativos ^{46, 76}.

El método consiste en amplificar pequeñas cantidades de ADN viral, no detectables por hibridación “in situ”, o en la amplificación de una región blanco, mediante la síntesis repetida y empleando secuencias de iniciadores o “primers” que delimitan la región a amplificarse. Utilizan una enzima polimerasa que es termoresistente, bases nitrogenadas, desoxirribonucleótidos y se aplican cambios cíclicos de temperatura ⁷¹.

Los ciclos de la RCP comprenden lo siguiente:

1. Se desnaturaliza el ADN de la muestra mediante calentamiento.

2. Se disminuye la temperatura de la mezcla de reacción, permitiendo el reconocimiento o acoplamiento de los primers, los cuales están en exceso.
3. La polimerasa sintetiza una nueva hebra usando como molde la secuencia blanco (si ésta se encuentra).

Estos pasos se repiten tantas veces como sea necesario, aumentando de esta manera (según transcurran los sucesivos ciclos), el número de copias de la secuencia blanco de manera exponencial. La acumulación del producto amplificado es tal, que posteriormente puede ser visualizado luego de una electroforesis en un gel de agarosa teñido con el colorante bromuro de etidio para su detección con luz ultravioleta, ó también por tinción de sales de plata

71 .

Los investigadores recientemente han utilizado este método de diagnóstico para sus propósitos de investigación, de manera que sea utilizado en la práctica clínica para la detección temprana y tratamiento de las lesiones, ya que determinar el tipo de VPH tiene relevante importancia tanto en el pronóstico como en el manejo terapéutico, distinguiendo de esta manera los tipo de bajo y alto riesgo oncogénico. A este respecto, el alto costo de los programas de investigación es un factor serio y es por ello que se han orientado a la búsqueda de reducir el costo del método, esperando que se

tenga mayor accesibilidad ayudando a que en un futuro la incidencia de la infección por VPH disminuya ²⁹.

El RCP de secuencia directa (RCP-SD) permite la detección inequívoca y la tipificación del virus, siendo actualmente este método el que más demanda tiene tanto por los clínicos como por los patólogos, a pesar de que uno de los grandes inconvenientes de este método es la tendencia a subestimar la coinfección con dos o más tipos de VPH, porque en estos casos el RCP puede preferiblemente amplificar una de las secuencias y enmascarar la otra. El riesgo más serio podría ser que una copia de bajo número de VPH de alto riesgo sea enmascarada por una copia de alto número de bajo riesgo. Otra limitación de esta técnica es no poder detectar si el virus está dentro de la célula o fuera de ella, así como también el alto costo y lo laborioso del procedimiento ^{29, 71}.

En 1998, a la técnica de RCP se le adiciona un paso, que consiste en adoptar una transcriptasa reversa (RCPtr) la cual permite detectar y determinar la expresión del gen E6 del VPH tipo 16 en los niveles celulares del individuo, el cual es considerado como expresión temprana en el ciclo replicativo del virus causante de la transformación maligna de células infectadas experimentalmente. Utilizando esta técnica se encontró que el E6 ARNm del VPH está presente en una proporción significativamente alta de

lesiones epiteliales exofísticas, mostrando incremento en la proliferación y patrones displásicos asociados con lesiones premalignas y malignas ⁵⁷.

TRATAMIENTO

Existen muchas terapias, los cuales se pueden dividir en : Tratamiento Terapéutico, Tratamiento Quirúrgico y Tratamiento Adyuvante ²⁶.

1. Tratamiento Terapéutico: se lleva a cabo a través de los Antivirales y pueden ser:

1.1 Químico:

- Ácido Tricloroacético (ATA) de 50-85%: Produce deshidratación de los tejidos y cauterización química de la lesión. Se aplican cada 2-7 días por tres dosis, en otros casos se emplea el ATA al 85% durante 8 semanas. No existe contraindicación durante el embarazo y como efecto colateral podría mencionarse, irritación cutánea intensa que dura de 3-5 minutos cuando se aplica tópicamente ³⁶.
- Podofilina: Produce vasoespasmos con posterior necrosis de las verrugas de piel. Se usa en pequeñas cantidades y luego se debe lavar de 4-6 horas, las aplicaciones se hacen cada 3-7 días, si no hay respuesta satisfactoria después de 3 aplicaciones, se debe recurrir a otros métodos.

Debido a sus efectos colaterales, no debe usarse en mucosa ya que es tóxico al miocardio, neuronas y riñones, además de ser teratogénico ³⁶.

- 5-Fluorouracilo (5-FU): Es una pirimidina fluorinada, que compite con el timidato sintetasa e impide así la síntesis de ADN y ARN y la división celular. Se aplica en las mucosas semanalmente y en el epitelio queratinizado 2 veces por semana durante 10 semanas con control a las semanas de culminado el tratamiento. Esta terapia después de 2 a 14 días produce eritema y edema en el epitelio queratinizado. A nivel de las mucosas puede haber erosión no dolorosa. Algunos autores hablan de un efecto teratogénico ³⁶.

1.1 Inmunoterapia:

- Interferones: Son glicoproteínas biológicamente activas con propiedades inmunomoduladoras, antiproliferativas y antivirales, que se diferencian entre sí por su estructura molecular y por su mecanismo de acción inmunológico, en 3 tipos de interferones: Alfa, Beta y Gamma ⁷⁷.

El interferón interactúa con receptores específicos en la superficie celular, activando así la señal que induce la traducción de proteínas virales y las proteínas se hacen resistentes al virus. Además, limitan la replicación del virus en células no infectadas aún o en regeneración. También altera fluidos

de membranas y canales iónicos, decreciendo la posibilidad de penetración viral e inhibe el crecimiento celular, produciendo cambios en su fenotipo ^{77, 78}.

Se administra de forma tópica intralesional, intraoral o parenteral, se aplica diariamente por 5 días y se descansa por 4 semanas, luego se repite durante 3 ciclos en la misma forma; o se realiza la aplicación en forma interdiaria 3 veces por semana, durante 3 semanas ⁷⁸.

Esta terapia está contraindicada en el embarazo, en pacientes con inmunosupresión, durante la lactancia, en disfunción renal, trastornos sanguíneos (leucopenia y trombocitopenia), enfermedades cardíacas, pulmonares, hepáticas y neurológicas ⁷⁷.

1.2 Vacunas Anti-VPH (en desarrollo): En años recientes se ha logrado progreso hacia el desarrollo de una vacuna profiláctica para el VPH, de manera de prevenir la infección por este virus y sus asociaciones benignas y displásicas ¹⁴.

Se ha llegado a la conclusión, de que la neutralización de los epítopes de la cápside es un determinante importante para la protección inmune mediada por anticuerpos contra la infección por papiloma virus. Esta neutralización se ha logrado en modelos de animales realizados en laboratorio, mediante la inmunización con L1 o L1/L2 , que son proteínas de la cápside del virión

morfológicamente y antigénicamente similares al virión nativo pero que carece del ADN potencialmente oncogénico, que genera anticuerpos neutralizadores confiriendo un tipo específico de protección por largo tiempo^{14, 79}.

Uno de los inconvenientes que se han suscitados en estos estudios, es que la neutralización de los epítopes del papiloma virus no es lineal, y su conformación depende de la composición de sus aminoácidos y su ubicación en la superficie. Sin embargo, estos estudios han avanzado lo suficiente como para tener actualmente un mapeo tentativo de la neutralización de epítopes de los VPH de bajo riesgo, camino que conduce a la realización de una vacuna inmunogénica^{14, 79}.

2. Tratamiento Quirúrgico: Se lleva a cabo mediante la destrucción tisular a través de los siguientes tratamientos:

- Criocirugía: Destrucción de los tejidos utilizando bajas temperaturas (frío), que coagula las proteínas, se cristaliza el agua intracelular en 3 fases: Física, Vascular y finalmente, Inmunológica⁴⁴. Este tratamiento tiene una efectividad demostrada entre el 50 y 100%. En 1994, el Centro de Control de Enfermedades (CDC) de Atlanta recomienda la técnica para el tratamiento de lesiones bucales⁸⁰.

- Electrofulguración o Electrodesecación: Destrucción de los tejidos por acción térmica y eléctrica de la zona ³⁶.
- Láser: Destrucción por medio de una luz amplificada mediante la estimulación de la emisión de radiación (produce efectos térmicos y fotoquímicos). Es un método preciso, con mínimo de daño tisular y puede aplicarse durante el embarazo ³⁶.

Otra alternativa de tratamiento quirúrgico es a través de la cirugía, la cual se realiza mediante:

- Biopsias Excisionales: Consiste en la eliminación quirúrgica del tejido, es muy utilizado a nivel de la mucosa bucal para la eliminación de la lesión clínicamente compatible con VPH ⁸¹.

3. Tratamiento Adyuvante:

El interferón como tratamiento adyuvante es la forma más eficiente si se combina con un método de destrucción tisular como la crioterapia, el láser o la electrofulguración. Se han logrado remisiones del 90% de los casos, manteniéndose aún después de los 6 meses ²⁶.

Ha sido descrito un riesgo aumentado para infección por VPH en pacientes con deficiencia de Beta-Caroteno, Vitamina C y Ácido Fólico. Se ha señalado que suministrando ácido fólico y terapias con vitaminas A y C por vía oral se logra una significativa regresión de lesiones intraepiteliales cervicales ⁸².

Cuando hay regresión espontánea de la lesión producida por VPH, la recurrencia de la misma es común. Pero muchas veces esta lesión recurre debido a que la infección estaba latente, o porque se trata de una nueva infección, o simplemente por fluctuaciones de la respuesta inmune de ese individuo frente a esta enfermedad viral ³⁶.

Existen fracasos y recidivas plenamente confirmadas con todos estos métodos terapéuticos. La gran frecuencia de las recidivas pueden explicarse por la presencia del ADN residual del VPH después del tratamiento en el tejido aparentemente normal, adyacentes a las lesiones. Hasta ahora, no hay otros métodos eficaces para prevenir las infecciones por VPH que eviten el contacto con las lesiones infecciosas, de tal forma que, la conducta sexual conservadora en el adulto juega un papel importante en la disminución de la tasa de infecciones, así como la elevada prevalencia de infecciones latentes en hombres y mujeres sexualmente activos, aunque hay que tomar en cuenta que no todas las lesiones que aparecen en boca o en piel tiene un origen sexual ⁷⁷.

JUSTIFICACIÓN:

En los últimos años aumentaron los estudios que identifican el tipo de VPH en lesiones papilomatosas, pero pocos estudios han sido orientados hacia la identificación de dichas lesiones en el paciente pediátrico, lo que ha obligado al clínico a extrapolar las características presentes en las manifestaciones del adulto.

En Venezuela se han realizado trabajos identificando las lesiones papilomatosas originadas por la infección del VPH, cuyo diagnóstico se ha realizado utilizando diferentes métodos que van desde la observación al microscopio óptico hasta la hibridación del ADN, sin embargo hasta el momento no se ha estudiado la prevalencia del virus en la cavidad bucal de nuestros niños. Es de suma importancia el estudio tanto clínico como histopatológico, para determinar si se relaciona lo que se observa clínicamente con los resultados que arrojan los estudios histopatológicos y de esta manera obtener una buena documentación que pueda servir de base para futuras investigaciones.

Se debe resaltar la importancia de esta investigación, ya que el VPH se presenta cada vez con más frecuencia, y en Venezuela tanto la incidencia como la prevalencia en el adulto son altas, considerándose una de las enfermedades de transmisión sexual de más rápida dispersión en esta población, sobre todo en mujeres jóvenes que inician tempranamente su actividad sexual, con un bajo grado de instrucción y bajo nivel

socioeconómico así como en multíparas. Esta última variable es tomada en cuenta, no solo por la paridad en sí, sino porque representan más años de actividad sexual, con parejas probablemente promiscuas que funcionan como vector difusor de la enfermedad. En este caso, puede ocurrir la transmisión vertical de la infección madre - hijo a través de la contaminación transplacentaria durante el embarazo o en el momento del parto. Este tipo de transmisión está implicada en la Papilomatosis Laringea Juvenil y está relacionada con el VPH 11 ^{38, 39}.

Esta alta prevalencia en el adulto, destaca la urgente necesidad de contar con métodos confiables de detección y tipificación del VPH en el diagnóstico precoz de lesiones benignas en el paciente pediátrico, lo cual permitirá un tratamiento preventivo adecuado de la lesión, evitando así su transformación y progresión a lesiones premalignas y/o malignas de la cavidad bucal.

OBJETIVOS:

OBJETIVO GENERAL:

- Determinar la prevalencia del VPH en una población pediátrica que acude al Servicio de Clínica Estomatológica de la Facultad de Odontología de la U.C.V.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- 1.- Determinar la prevalencia del VPH por sexo y edad en una población pediátrica.
- 2.- Identificar la localización bucal de las lesiones producidas por la infección en niños.
- 3.- Determinar cual de las manifestaciones bucales de la enfermedad por VPH son más frecuentes en la población infantil.
- 4.- Determinar la correlación clínica histopatológica de las lesiones estudiadas.
- 5.- Determinar, empleando la técnica de RCP, los tipos de VPH que se encuentran en las lesiones estudiadas.

MATERIALES Y MÉTODOS:

TIPO DE INVESTIGACIÓN:

Para esta investigación se utilizó una metodología tipo descriptiva, ya que por medio de exámenes clínicos e histopatológicos se determinó la prevalencia de la infección por VPH en la cavidad bucal de la población infantil estudiada.

POBLACIÓN Y MUESTRA:

Para resolver la problemática planteada y dar cumplimiento al logro de los objetivos trazados, la población a ser sensible de estudio estuvo representada por todos los pacientes pediátricos que asistieron al Servicio de Clínica Estomatológica de la Facultad de Odontología de la UCV, en el período comprendido entre Marzo y Octubre del 2002.

En este sentido, de acuerdo al tipo de investigación, se toma una muestra opinática, representada por aquellas lesiones de la cavidad bucal que teóricamente se sospecha de la infección por VPH. Así la muestra queda representada por 21 casos, los cuales presentaban clínicamente lesiones papilomatosas; vale decir, Papiloma Bucal, HEF, Verruga Vulgar, Xantoma Verruciforme y Fibroma.

PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE LOS DATOS:

- Se examinó clínicamente la cara interna de ambos labios, carrillos, lengua (dorso, borde lateral y cara ventral), piso de la boca, pared posterior bucal, paladar blando y duro y por último la encía. Todo este examen se realizó por cuadrantes (superior derecho, superior izquierdo, inferior izquierdo e inferior derecho), siguiendo los criterios de la Cátedra de Clínica Estomatológica, para lo cual se utilizó guantes y dos baja lenguas.
- Se tomaron biopsias con técnica excisional.
- Todas las muestras fueron estudiadas histopatológicamente en el Laboratorio Central de Histopatología Bucal “Dr. Pedro José Tinoco Santaella”.
- Debido al alto costo del procedimiento, se le realizó RCP sólo a doce de las muestras obtenidas, para identificar y confirmar la presencia del virus, con el fin de tipificar a cual tipo o subtipo pertenece, tal como se describe en capítulo de revisión de la literatura.

DESCRIPCIÓN DE ESTADÍSTICOS:

Para medir la concordancia entre el diagnóstico definitivo y el diagnóstico provisional se utilizó el coeficiente de concordancia kappa para medidas nominales, las concordancias siguieron el criterio de Fleiss:

Kappa < 0,50: Pobre concordancia

Kappa entre 0,50 y 075: Buena concordancia

Kappa > 0,75: Excelente concordancia

Los intervalos de confianza para los coeficientes kappa se estimaron con un 95% de probabilidades^{83, 84}.

Se consideró un valor estadístico significativo si $p < 0,05$ y altamente significativo si $p < 0,01$.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS:

RESULTADOS:

- Las muestras mostradas en las tablas representan todos los casos comprobados histopatológicamente como VPH.
- Se estudiaron un total de 21 niños con edades comprendidas entre tres y quince años. Encontrándose una muestra a los 3, 4, 8, 10, 13 y 15 años respectivamente para un porcentaje de 4,76% en cada uno de los casos, dos a los 6, 9 y 11 para un porcentaje de 9,52% en cada uno de ellos, seis muestras a los 5 años para un porcentaje de 28,57% y tres a los siete años para un 14,28%. (Tabla I).

TABLA I

PACIENTES Y PORCENTAJES SEGÚN LA EDAD DE NIÑOS EXAMINADOS EN EL SERVICIO DE CLÍNICA ESTOMATOLÓGICA. FACULTAD DE ODONTOLOGÍA. UCV. MARZO-OCTUBRE 2002.

EDAD (años)	PACIENTES	PORCENTAJE
3	1	4,76
4	1	4,76
5	6	28,57
6	2	9,52
7	3	14,28
8	1	4,76
9	2	9,52
10	1	4,76
11	2	9,52
13	1	4,76
15	1	4,76
TOTAL	21	100 %

- En cuanto al sexo, el grupo más afectado fue el femenino donde se hallaron 12 casos que corresponde a un 57,1 % y en el masculino 9 lo cual da un porcentaje de 42,9 %. (Tabla II).

TABLA II.

PACIENTES Y PORCENTAJES SEGÚN EL SEXO DE NIÑOS EXAMINADOS EN EL SERVICIO DE CLÍNICA ESTOMATOLÓGICA. FACULTAD DE ODONTOLOGÍA. UCV. MARZO-OCTUBRE 2002.

SEXO	PACIENTES	PORCENTAJE
MASCULINO	9	42.9
FEMENINO	12	57.1
TOTAL	21	100

- En lo que se refiere a la localización de las lesiones, se encontraron ubicadas doce casos en la cara interna del labio que correspondieron a un 57,15%, cuatro casos en lengua para un 19,04%, en cara interna de mejilla tres casos con un 14,29%, 1 caso en comisura labial y en encía marginal para un 4,76% para cada uno de ellas. (Tabla III).

Tabla III

PACIENTES Y PORCENTAJES SEGÚN LA LOCALIZACIÓN DE LA LESIÓN EN NIÑOS EXAMINADOS EN EL SERVICIO DE CLÍNICA ESTOMATOLÓGICA. FACULTAD DE ODONTOLOGÍA. UCV. MARZO - OCTUBRE 2002.

LOCALIZACIÓN DE LA LESIÓN	PACIENTE	PORCENTAJE
LABIO	12	57,15
LENGUA	4	19,04
CARA INTERNA DE MEJILLA	3	14,29
ENCÍA MARGINAL	1	4,76
COMISURA LABIAL	1	4,76
TOTAL	21	100

- De los veintiún pacientes que acudieron al Servicio de Clínica Estomatológica con lesiones de VPH, se diagnosticaron provisionalmente a través del examen clínico 14 papilomas para un porcentaje de 66.66%, 4 casos de hiperplasia epitelial focal los que corresponden a 19.04%, un caso de xantoma verruciforme, un caso de verruga vulgar y un fibroma lo que da 4.76% para cada uno. (Tabla IV).

TABLA IV

PACIENTES Y PORCENTAJES SEGÚN EL DIAGNÓSTICO PROVISIONAL. SERVICIO DE CLÍNICA ESTOMATOLÓGICA. FACULTAD DE ODONTOLOGÍA. UCV. MARZO - OCTUBRE 2002.

DIAGNÓSTICO PROVISIONAL	PACIENTES	PORCENTAJE
PAPILOMA	14	66.66
HIPERPLASIA EPITELIAL FOCAL	4	19.04
XANTOMA VERRUCIFORME	1	4.76
VERRUGA VULGAR	1	4.76
FIBROMA	1	4.76
TOTAL	21	100

- De las veintiuna biopsias todas fueron analizadas histopatológicamente, reportando dieciséis papilomas para un porcentaje de 76,19%, 4 casos de hiperplasia epitelial focal que corresponde a un 19,04% y una verruga vulgar para un porcentaje de 4,76% . (Tabla V) .

TABLA V

**PACIENTES Y PORCENTAJES SEGÚN EL DIAGNÓSTICO DEFINITIVO.
SERVICIO DE CLÍNICA ESTOMATOLÓGICA. FACULTAD DE
ODONTOLOGÍA. UCV. MARZO - OCTUBRE 2002.**

Diagnóstico provisional	Diagnóstico definitivo				
	Papiloma	Xantoma verruciforme	HEF	Verruga vulgar	Fibroma
Papiloma	14	0	0	0	0
Xantoma verruciforme	1	0	0	0	0
Hiperplasia Epitelial Focal	0	0	4	0	0
Verruga vulgar	0	0	0	1	0
Fibroma	1	0	0	0	0
TOTAL	16	0	4	1	0
%	76.19	0	19.04	4.76	0
kappa = 0,79 (0,52 - 1,00)					
p = 0,001					

- De las doce muestras estudiadas por RCP, resultaron 9 casos positivo a VPH de bajo riesgo para Papiloma y 3 casos positivos a VPH de bajo riesgo para Hiperplasia Epitelial Focal. (Tabla VI).

TABLA VI.

PACIENTES Y PORCENTAJES ENTRE EL DIAGNÓSTICO DEFINITIVO Y LOS RESULTADOS DEL RCP REALIZADOS EN NIÑOS EXAMINADOS. SERVICIO DE CLÍNICA ESTOMATOLÓGICA. FACULTAD DE ODONTOLOGÍA. UCV. MARZO - OCTUBRE 2002.

Diagnóstico definitivo	RCP positivo Bajo Riesgo		RCP negativo	
	n	%	n	%
Papiloma	9	75.0	-	-
Hiperplasia epitelial focal	3	25.0	-	-
Verruga vulgar	-	-	-	-
TOTAL	12	100	-	-

DISCUSIÓN:

Se estudiaron 21 niños entre los tres y quince años en un período de 6 meses comprendidos entre Marzo y Octubre 2002, de los cuales 12 eran niñas y 9 correspondieron al sexo masculino, observándose una mayor prevalencia en el sexo femenino con un porcentaje de 57,1%. Resultados similares son presentados por Jiménez en el año 1998 en donde la mayor prevalencia se presentó en el sexo femenino (57,1 %) con respecto al masculino (42,9 %), pero difieren de los reportados por Lawton et al. en 1992, quienes encontraron un 60% en el sexo masculino con respecto al 40% del sexo femenino ^{34, 47}. Es de hacer notar que ambos autores reportaron trabajos realizados en población de adultos.

Con respecto a la edad, en este estudio se evaluaron niños entre tres y quince años, siendo entre los cinco y once años donde más se observaron lesiones. Padayachee et al en 1994 señalan que la prevalencia de la enfermedad se observa entre la primera y segunda década de la vida. En los reportes que Soneira y Fonseca hacen en poblaciones indígenas venezolanas también apuntan que las lesiones no se presentan en mayores de dieciocho años. Por el contrario Elamin et al. en 1998, reportan que en una población inglesa estudiada cuya edad oscila entre los diez y setenta años, la prevalencia fue mayor en la quinta década de la vida. Por su parte Mc Kraig et al. en 1999, dicen que la mayoría de los casos encontrados fue en adultos y sólo tres menores de dieciocho años, en una muestra de 285 pacientes estudiados ^{1, 30, 71, 85}.

En cuanto a la localización es posible apreciar en el presente estudio, que la mayor prevalencia de las lesiones se ubicaron a nivel de la cara interna de los labios (57,15%), seguida por la lengua (19,04 %) y cara interna de las mejillas (14,29%) respectivamente. Resultados similares en cuanto a la localización fueron reportados por Jiménez en 1998 ; Guerra en 1999 y Terai et al. en 1999. Sin embargo, D'Costa et al. en 1998, describen que la localización más frecuente se ubicó a nivel de la cara dorsal de la lengua y bordes laterales, seguido por el paladar ^{10, 27, 33, 34}.

Al evaluar cual de las manifestaciones bucales de la infección por VPH son más frecuentes en la población infantil, se demostró que el Papiloma Bucal, fue la lesión con mayor frecuencia (76,19 %) entre las muestras estudiadas. Resultados similares fueron reportados por Premoli y Chistensen en 1992; Vernon en el 2000. Mientras que Miller et al. en 1991, realizan un estudio en adultos de detección de ADN e infección de VPH en lesiones bucales reportando que el Papiloma Bucal se presenta en un 23,3 % con respecto al Condiloma Acuminado (73,3 %) y la Verruga Vulgar (28,3 %), relación que es contraria en el presente trabajo luego de un diagnóstico histopatológico en ambos estudios. También Badarraco en 1998 reporta que el Condiloma Acuminado se presenta con una prevalencia del 75%, seguido por el Papiloma con un 24% ^{12, 31, 44, 73}.

Entre las lesiones benignas producidas por el VPH se encuentra la HEF, entidad clínica que también se presentó en la población infantil estudiada, presentándose en un 19% de los casos distribuidos equitativamente en ambos sexos, con una localización preferencial a nivel de la cara interna de labios y mejillas. Datos similares a los nuestros, relativos a la localización, han sido reportados por Flaitz en el 2000 quien señala una localización similar en la mucosa de los labios y carrillos, aunque por otra parte reporta que la lesión se encuentra asociada más frecuentemente a la raza india del norte y sur América así como en esquimales ³⁶.

En el presente trabajo la Verruga Vulgar apareció en un 4,76% de los casos, ocupando el tercer lugar en cuanto a prevalencia, localizada en borde bermejo del labio. Ubicación que concuerda con el estudio realizado por Terai en 1999, quien reporta que estas lesiones se encuentran frecuentemente en labio, paladar, mucosa vestibular, lengua y encía en orden decreciente. Mientras que Lawton et al. en 1992 reportan que la mayor incidencia es en la raza blanca cuya localización de las lesiones se ubicaron principalmente a nivel de la mucosa vestibular (26,4 %) ^{10, 47}.

Al realizar la correlación clínica histopatológica de las lesiones estudiadas, se pudo observar que las lesiones diagnosticadas clínicamente como papilomas, todas fueron confirmadas como tal, a través del estudio histopatológico, situación ésta que se repite con la hiperplasia epitelial focal

y la verruga vulgar ($\kappa= 0,79$; IC 95%: 0,52-1,00; $p= 0,001$). Para las lesiones de xantoma verruciforme y fibroma que fueron diagnosticadas provisionalmente en el examen clínico, su estudio histopatológico reportó como resultado papiloma en ambos casos. El índice de concordancia kappa nos indica que hubo una buena correlación entre lo que se diagnosticó provisionalmente durante el examen clínico y el diagnóstico definitivo que se obtuvo a través del examen histopatológico y el RCP. Es necesario señalar la importancia que tiene la observación clínica basada en la experiencia en este tipo de estudio, ya que a través de esta se puede realizar un buen diagnóstico provisional que posteriormente va a ser confirmado o no por el estudio histopatológico. La apariencia clínico histopatológica de estas lesiones se corresponde a las descritas por Soneira y Fonseca; Premoli et al. y Guerra^{30, 31, 33}.

Lamentablemente por razones presupuestarias y los altos costos de la prueba del RCP, en este estudio no se pudo realizar a todas las muestras obtenidas la técnica de biología molecular recomendada por varios autores. Sin embargo, de las veintiuna muestras se le realiza RCP a doce de ellas, permitiendo determinar el grado de incidencia (riesgo), a través de la tipificación de las lesiones benignas producidas por el VPH. En las entidades clínicas Papiloma y HEF se pudo demostrar que son inducidas, en todos los casos a los cuales se le realizó RCP(100 %), por el VPH de bajo riesgo tipo 13. Otras investigaciones demuestran esta asociación en un porcentaje

menor al nuestro, como el reporte de Schneider et al. en 1992, que indica una relación de VPH como agente causal de la lesión en un 22,85 % ⁴⁰ .

En Venezuela, en un estudio realizado por Premoli et al., en la ciudad de Clarines Estado Anzoátegui encontraron HEF en asociación al VPH tipo 13. Se aprecia que estas lesiones papilomatosas son benignas y están asociadas a los VPH 13 y 32, sin embargo, debe descartarse la asociación de infección por VPH 16 y 18 que se relaciona con lesiones malignas de la mucosa bucal ³².

Es necesario señalar que el estudio histopatológico dispone de imágenes diferenciales determinantes para el diagnóstico de Papiloma, HEF y Verruga Vulgar, sin embargo varios autores han realizado estudios de tipificación en las mismas entidades clínicas ya que se requiere de este paso para hacer el diagnóstico diferencial, porque muchas veces resulta difícil de distinguir unas de otras, desde el punto de vista clínico histopatológico ^{12, 20, 29, 32} .

CONCLUSIONES:

- La prevalencia de la infección en la población infantil estudiada es alta, dado que todos los casos resultaron positivos.
- Las lesiones por VPH aparecen en niños cuyas edades están comprendidas entre cinco y once años, con predominio en el sexo femenino.
- La lesión clínica más frecuente fue el Papiloma Bucal, la HEF y la Verruga Vulgar en orden decreciente respectivamente.
- La localización preferencial de las lesiones producidas por la infección es la cara interna de los labios, la cual se presentó en esa zona en un 57,15% de los casos.
- La correlación clínica histopatológica que se realizó en este estudio utilizando el coeficiente de concordancia kappa, dio como resultado 0,79, la cual según criterios de Fleiss nos denota que hubo una buena concordancia entre lo que se diagnosticó provisionalmente a través del examen clínico y el diagnóstico definitivo que se obtuvo a través del examen histopatológico y el RCP.

- En todas las lesiones de Papiloma Bucal y HEF estudiadas por RCP se determinó la presencia del VPH 13.

RECOMENDACIONES:

- En base a los resultados se observa que el VPH tiene una alta prevalencia en la población infantil estudiada, sería interesante que estudios más amplios que abarcaran una población más representativa fueran realizados, con el fin de corroborar y contribuir a ampliar la epidemiología de la enfermedad en los niños venezolanos.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Elamin, F.; Steingimsdottir, H.; Wanakulasuriya, S.; Johnson, N, Tavassoli, M. (1998). **Prevalence of human papillomavirus infection in premalignant and malignant lesion of the oral cavity in U.K. subjects: a novel method of detection.** Oral Oncol. 34: 191-197.
2. Jenkins, D. (2001). **Diagnosis human papillomaviruses: recent advances.** Curr. Opin. In Infect. Dis. 14: 53-62.
3. Brocker, T.; Botcham, M. (1986). **Papillomaviruse restrospectives and prospectives.** Cancer.Surv. 4:17-36.
4. Carson, L.; Twigg, L.; Prem, K.; Potish, R. (1991). **Multimodality therapy for advanced recurrent vulvar squamous carcinoma. A pilot project.** J. Reprod. Med. 35: 1029.
5. Lazo, P. (1988). **Human Papillomaviruses in Oncogenesis.** Bioessay. 9: 158-162.
6. Pfister, H. (1984). **Biology and Biochemitry of Papillomavirus Types.** Rev. Phisiol. Biochem. Pharcaol. 99: 112-81.

7. Chang, S.; Delius, H.; Halpern, A.; Bernard, H. (1995). **Analysis of Genomic Sequences of 95 Papillomavirus Types: Uniting Typing Phylogeny and Taxonomy.** J. of Virol. 69: 3074-3083.
8. De Villiers, EM. (1989). **Heterogeneity of the Human Papillomavirus Group.** J. Virol. 65: 4898-4903.
9. Lorinez, A. (1996). **Molecular Methods for Detection of Human Papillomavirus Infection.** Obstet. Gynecol. Clin. of North Am. 23 (3): 707-715.
10. Terai, M.; Takagi, M.; Matsukura, T.; Sata, T. (1999). **Oral wart associated with human papillomavirus type 2.** J. Oral Pathol. Med. 28: 137-140.
11. De Villiers, EM.; Weidauer, H.; Otto, H.; Zur Hausen, H. (1985). **Papillomavirus DNA in human tongue carcinomas.** Int. J. Cancer. 36: 575-578.
12. Miller, C.; White, D. (1996). **Human papillomavirus expression in oral mucosa, premalignant conditions, and squamous cell carcinoma.** Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 82: 57-48.

13. Greespan, D.; De Villiers, E.; Greespan, J.; De Sousa, Y.; Zur Hausen, H. (1988). **Unusual HPV types in oral warts in association with HIV infection.** J. Oral Pathol. 17: 482-487.
14. Slupetzky, K.; Shafti-Keramat, S.; Lenz, P.; Brant, S.; Grassauer, A.; Kirbauer, R. "et al." (2001). **Chimeric papillomavirus-like particles expressing a foreign epitope on capsid surface loops.** J. General Virol. 82: 2799-2804.
15. Tomita, Y.; Shirasawa, H.; Sekine, H.; Simizu, B. (1987). **Expression of the human papillomavirus type 6b L2 open reading frame in Escherichia coli: L2-beta-galactosidase fusion proteins and their antigenic properties.** Virology. 158: 8-14.
16. Giri, I.; Danos, O. (1986). **Papillomavirus Genomes: from Sequence Data to Biological Properties.** Trends Genet. 2: 227-232.
17. Loning, T.; Reichart, P. (1985). **Occurrence of papillomavirus structural antigens in oral papillomavirus and leukoplakia.** J. Oral Pathol. 13: 155-165.
18. Wards, P.; Coleman, D.; Malcolm, A. (1989). **Regulatory mechanisms of the papillomaviruses.** Monitor, 5 (4): 801-802.

19. De Villiers, EM. (1992). **Hybridization Methods Other Than PCR: An Update in the Epidemiology of Cervical Cancer and Human Papillomavirus.** Lyon. IARC. 8: 137-142.
20. Chang, F. (1990). **Detection of human papillomavirus AND in oral squamous cell carcinomas by in situ hybridization and polymerase chain reaction.** Arch. Dermatol. Res. 282: 493-497.
21. Shirasawa, H. (1987). **Analysis of Genomic Sequence of Papillomavirus.** J. Gen. Virol. 65: 583-591.
22. Zur Hausen, H.; De Villiers, E. (1994). **Human Papillomavirus.** Annu. Rev. Microbiol. 48: 427-447.
23. Gross, G. (1990). **Virus Papiloma Humano.** En: Microbiología. 4ta Edición. Edi. Berlín. Buenos Aires. Cap.45. p. 837.
24. Capote, E. (1996). **Virus Papiloma Humano.** En: Ginecología. Edi. León. Barcelona (Esp). Cap. 2. p. 115-122.
25. Kleist, B.; Poetsch, M.; Bankau, A.; Wernwe, E.; Herrman, F.; Lorenz, G. (2000). **First hints for a correlation between amplification of the Int-**

- 2 gene and infection with human papillomavirus in head and neck squamous cell carcinomas.** J. Oral. Pathol. Med. 29: 432-437.
26. Guilligan, Mc. (1996). **Sexually Transmitted Diseases.** Healthy Devil
Online: 1-4.
27. D`Costa, J.; Saranath, D.; Dedhia, P.; Sanghvi, V.; Mehta, A. (1998).
Detection of HPV-16 genome in human oral cancers and potentially malignant lesions from India. Oral Oncology. 34: 413-420.
28. Chang, F. (1990). **Role of Papillomaviruses.** J. Clin. Pathol. 43: 269-276.
29. Feoli - Fonseca, JC.; Oligny, L.; Sijmard, P.; Falconi, S.; Yotov, W. (2001).
Human Papillomavirus (HPV) study of 691 Pathological Specimens from Quebec by PCR-Direct Sequencing Approach. J. Med. Virol. 63: 284-292.
30. Soneira, A. & Fonseca, N. (1964). **Lesión de la mucosa oral en niños indios de la Misión Los Angeles del Tokuko.** Venezuela Odontológica. XXIX (2): 109-122.

31. Premoli, G.; Chistesén, R. (1992). **Virus papiloma humano en boca con lesiones papilares-verruosas. Un estudio comparativo de histología, clínica e inmunohistoquímica.** J. Pathol. 84: 383-392.
32. Premoli, G. ; Galindo, Y.; Ramírez J.; Perrone, M.; Rivera, H. (1993) **Detection of human papillomavirus - related oral verruca vulgaris among Venezuelans.** J. Oral Pathol. 22: 3-7.
33. Guerra, ME. (1999). **Lesiones Papilomatosas Bucales Observadas en Niños Indígenas de la Etnia Pemón, Estado Bolívar- Venezuela.** Trabajo Especial de Grado para optar al título de Especialización en Odontología Infantil. U.C.V.
34. Jimenez, C. (1998). **Detección y Tipificación de VPH en un grupo de pacientes Venezolanos con entidades Clínicas Benignas de la Cavidad Bucal.** Trabajo Especial de Grado para optar al título de Maestría en Medicina y Clínica Estomatológica. U.C.V.
35. Viraben, R.; Aguiléña, C.; Brousset, P.; Basex. J. (1996). **Focal Epitelial Hiperplasia (Heck Disease) Associated with AIDS.** Dermatology. 193 (3): 261-262.

36. Flaitz, C. (2000). **Focal epithelial hyperplasia: A multifocal oral human papillomavirus infection.** Pediatric Dentistry. 22 (2): 153-154.
37. González, L. (1993). **Actualización sobre el diagnóstico y tratamiento de Papiloma Humano (VPH).** Folleto Schering Plough. Maracaibo. 60 pp.
38. Ferenczy, A.; Bergeron, C. (1989). **Human Papillomavirus in Fomites on Objects Used for the Management of Patients with Genital Human Papillomavirus Infections.** Obst. Gynecol. 74: 950.
39. Balsdon, M.; Herane, M. (1995). **Verrugas genitales en infección por Papilomavirus Humano.** Bol. Hosp. San Juan de Dios. 42(2): 64-71.
40. Schneider, A.; Kousky, L. (1992). **Natural history and epidemiological feature of genital HPV infection.** Lyon. IARC. 64: 25-52.
41. Richart, R (1987). **Causes and Management of Cervical Intraepithelial Neoplasia.** Cancer. 60: 195.
42. Kashima, H.; Mounts, P.; Kuhajda, H.; Loury, M. (1986). **Demonstration of human papillomavirus capsid antigen in carcinoma in situ of the larynx.** Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. 95: 603-607.

- 43.Puranen, M.; Yliskoski, M.; Saarikoski,S.; Syrjanen, K.; Syrjanen, S. (1996). **Vertical transmission of human papillomavirus from infected mothers to their newborn babies an persistence of the virus in childhood.** Am. J. Obstet. Gynecol. 174 (2): 694-699.
- 44.Badarraco, G.; Venuti, A.; Lonardo, A.; Scambia, G.; Mozzetti, S.; Benedetti, P. "et al". (1998). **Concurrent HPV infection in oral and genital mucosa.** J. Oral Pathol. Med. 27: 130-134.
- 45.Kellokoski, J.; Syrjanrn, S.; Yliskoski, M.; Syrjanen K. (1992). **Dot blot hybridization in detection of human papillomavirus infections in the oral cavity of woman with genital HPV infections.** Oral Microbiol. Immunol. 7: 19-23.
- 46.Kellokoski, J.; Syrjanen, S.; Chang, F.; Yliskoski, M.; Syrjanen K. (1992). **Southern blot hybridization and PCR in detection of human papillomavirus infections in the oral cavity of woman with genital HPV infections.** J. Oral Pathol. Med. 21: 459-464.
- 47.Lawton, G.; Thomas, S.; Schonrock, J.; Monsour, F.; Frazer, I. (1992). **Human papillomaviruses in normal oral mucosa: a comparision of methods for sample collection.** J Oral Pathol. Med. 21: 265-269.

48. Scully, C., Prime, S.; Maitland, N. (1985). **Papillomavirus their possible role in oral disease.** Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. 60: 166:174.
49. Ostwal, C.; Müller, P.; Barten, M.; Rutsatz, K.; Sonnenburg, M.; Langosh, M. "et al". (1999). **Human papillomavirus AND in oral squamous cell carcinomas and normal mucosa.** J. Oral Pathol. Med. 23: 220-225.
50. Smith, K.; Saveria, M. (1988). **The biology of Papillomaviruses and their role in Uncogenesis.** Anticancer Res. 5: 31-48.
51. Syrjanen, SM.; Syrjanen, K.; Happonen, R. (1988). **Human Papillomavirus (HPV) DNA in Oral Precanceronis Lesions and Squamous Cell Carcinoma Demonstrated by In Situ Hibridization.** J. Oral. Pathol. Med. 17: 273-278.
52. Atula, T.; Grénman R.; Klemi, P.; Syrjänen, S. (1998). **Human papillomavirus, Epstein- Barr virus, human herpesvirus 8 and human cytomegalovirus involvement in salivary gland tumours.** Oral Oncology. 34: 391-395.
53. Nishioka, S.; Fukushima, K.; Nishizaki, K.; Gunduz, M.; Tominaga, S.; Virus Papiloma Humano Fukazawa, M. "et al". (1999). **Human**

Papillomavirus as a Risk Factor for Head and Neck Cancers: A Case-control Study. Acta Otolaryngol (Stockh). Suppl 540: 77-80.

54.Syrjanen, K.; Syrjanen, S.; Pyrhonen, S. (1982). **Human papillomavirus antigens in lesions of laryngeal squamous cell carcinoma.** Otho-Rhino-Laryngol. 44: 323-334.

55.Premoli, G.;Ramírez, J. (2001). **High risk human papillomavirus in oral squamous carcinoma: evidence of risk factors in a Venezuelan rural population. Preliminary report.** J. Oral. Pathol. Med. 30: 355-361.

56.Wilczynski, S.; Bryan, T.; Lin, Y.; Xie, Y.; Paz, B. (1998). **Detection of human papillomavirus DNA and oncoprotein overexpression are associated with distinct morphological patterns of tonsillar squamous cell carcinoma.** Am. J. Pathol. 152(1): 145-156.

57.AL-Bakkal, G.; Ficarra, G.; McNeill, K.; Eversole, L.; Sterrantino, G.; Bireck, C. "et al". (1999). **Human papilloma virus type 16 E6 gene expression in oral exophytic epithelial lesions as detected by in situ rtPCR.** Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral Radiol. Endod. 87: 197-208.

58. Shaffer, WG.; Hine, ML.; Levy, BM. (1983). **A Text Book of Oral Pathology**. 4th. ed.. Philadelphia: WB. Saunders. Cap. 8. p. 255-260.
59. Abdler-Shorthz, K.; Newland, J.; Tessin, B.; Yeudall, W.; Shillitoe, E. (1986). **Identification of the human papillomavirus types in oral verruca vulgaris**. J. Oral. Pathol. Med. 15: 230-235.
60. Syrjanen, K.; Heinonen, U.; Kauraniemi, T. (1981). **Citological evidence of the association of the condylomatous lesions with the dysplastics and neoplastic changes in the uterine cervix**. Acta Cytol. 25: 17-22.
61. Gissraun, L.; De Villiers, E. (1982). **Analysis of Human Genital Warts (Condyloma Acuminata) and other Genital Tumors for Human Papillomavirus Type**. GDNA. Int. J. Cancer. 29: 143.
62. Shiffman, MH. (1994). **Epidemiology of cervical human papillomavirus infections**. Lyon. IARC. 119: 169-178.
63. Lorinez, A.; Reid, R.; Jenson, A.; Greenberg, M.; Lancaster, W.; Kurman, R. (1992). **Human papillomavirus infection of the cervix relative risk associations of 15 common anogenital types**. Obstet. Gynecol. 79: 328-337.

64. Reid, R.; Campion, M. (1988). **The biology and significance of human papillomavirus infection in the genital tract.** Yale. J. Bid. Med. 61: 307-325.
65. Syrjanen, K.; Gissman, L; Koss, L. (1987). **Biology of human papillomavirus (HPV) and their role in squamous cell carcinogenesis.** Med. Biol. 65:21-39.
66. Nuovo, G.; Friedman, D. (1990). **In situ hybridization analysis of HPV DNA segregation patterns in lesions of female genital tract.** Ginecol. Oncol. 36: 256-262.
67. Zurhausen, H. (1980). **El role of viruses in human tumors.** Adv. Cancer. Rev. 33: 77-107.
68. Zurhausen, H. (1989). **Papillomavirus as Carcinoviruses.** Adv. Viral. Oncol. 8: 1-26.
69. Zurhausen H.; Gissman, L. (1985). **Viruses in the etiology of human genital cancer.** Prog. Med. Virol. 30:170-186.

70. Syrjanen, SM. (1990). **Basic Concepts and practical applications of recombinant DNA techniques in detection of human papillomavirus (HPV) infection.** APMIS. 98: 95-110.
71. MC Kraig, R.; Baric, R.; Olshan, A. (1999). **Human papillomavirus and head and neck cancer.** *Epidemiology and molecular biology.* Head Neck. 20: 250-265.
72. Josefsson, A.; Livak, K.; Gyllensten, U. (1999). **Detection and quantitation of the human papillomavirus by using fluorescent 5' exonuclease assay.** J. Clin. Micro. 37: 490-496.
73. Vernon, S.; Unger, E.; Williams, D. (2000). **Comparison of human papillomavirus detection and typing by cycle sequencing, line blotting, and hybrid capture.** J. Clin. Microbiol. 38: 651-655.
74. Ramírez, JL.; Guevara, P.; Galindo, I.; Premoli, G.; Spagnuolo, L. (1993). **Nuevas Estrategias de Diagnóstico Usando Sondas de ADN en Blanco.** N. Eds. *Perspectivas Actuales y Futura de la Inmunología.* Fondo Editorial Acta Científica Venezolana. 50: 377-387.

75. Venuti, A.; Badaracco, G.; Marcante, L. (1995). **Detection and typing of human papillomavirus by single hybridization**. J. Virol Methds. 51: 115-124.
76. Nelson, JH; Hawkins, GA.; Edlung, K. (2000). **A novel and rapid PCR-based method for genotyping human papillomaviruses in clinical samples**. J. Clin.Micro. 38: 688-695.
77. Zinkernagel, R. ; Hengartner, H. (1997). **Antiviral immunity**. Immunology Today. 18: 258-260.
78. Mastrangelo, L. (2001). **Enfermedades Infecciosas**. En: Pediatría Fundamental. 4ta Ed. Disinlimed, C.A. Caracas. Cap. 4. p. 327-328.
79. Steger, G.; Schnabel, C.; Schmidt, HM. (2002). **The hinge of the human papillomavirus type 8 E2 protein activates the human p21 promoter via interaction with Sp1**. J. Virol. 83: 503-510.
80. CDC ATLANTA (1994). **Morbidity and Mortality Weekly Report. Recommendations and Report**. June; 46; N° RR12.
81. Regezi, J.; Sciubba, J. (2000). **Patología Bucal**. 3era ed.. Editorial McGraw-Hill Interamericana, S.A. México. Cap. 6.

82. Basu, J.; Pabon, PR.; Vermmunzel, SH.; Goldberg, GL.; Romnery, SL.(1991). **Plasmu Ascorbic Acid and B-Carotene Levels in Women Evaluated for HPV Infection Smoking and Cervix Dysplasia**. Cancer Detect. Prev. 15: 166.
83. Geoffrey R. Norman, David L. Streiner. (1996). **Bioestadística**. Cap 4. Harcout Brace. Mosby Year Book. St. Lois. Cap 4. p. 125-129.
84. Fleiss JL (1971). **Measuring nominal scale agreement among many raters**. Psychological Bulletin, 76: 378-382.
85. Padayachee, A. (1994) **Human Papillomavirus (HVP) types and 57 in oral verrucae demonstrated by IN SITU hibridization**. J. Oral. Pathol. Med. 23: 413-417.

ANEXOS:

ANEXO Nº 1:

**FOTOGRAFÍAS DE LESIÓN PRODUCIDA POR VPH DE UN CASO
CLÍNICO.**

EDAD: 9 AÑOS
SEXO: M
LESIÓN EN ENCÍA
INTERDENTAL



Vista de Frente



Vista Lateral Derecha

ANEXO Nº 2

FOTOGRAFÍAS DE LA TOMA DE BIOPSIA.

TOMA DE BIOPSIA





ANTES DE LA BIOPSIA



DESPUÉS DE LA BIOPSIA