

## VIRUS VPH Y PATOLOGÍAS BUCALES RELACIONADAS

*Mayocchi Karina;  
Dorati Pablo;  
Gómez María;  
Micinquevich Susana.*

**Facultad de Odontología UNLP.**  
Calle 51 e/ 1 y 115. La Plata. CP: 1900.

[susmic2003@yahoo.com.ar](mailto:susmic2003@yahoo.com.ar)

Financiamiento: UNLP

"Sin conflicto de interés".

### **PALABRAS CLAVE**

*Patologías Bucles  
VPH*

*Carcinoma Escamoso  
PCR*

### **KEYWORDS**

*Oral Patologyes  
HPV*

*Squamous Cell Carcinoma  
PCR*

### **RESUMEN**

Se estudiaron patologías bucales, potencialmente malignas y Carcinomas de células escamosas en relación a la presencia del Virus Papiloma Humano (VPH). La detección viral se realizó con técnica molecular PCR protocolo anidado, y la genotipificación por PCR-LIS-SSCP (polimorfismo en la conformación de cadena simple). En lesiones positivas para diferentes genotipos de VPH, se efectuó la detección y tipificación de Virus Papiloma Humano (HPV), mediante la amplificación de región (179 pb correspondiente a un fragmento del gen de la ADN polimerasa viral), detectándose los amplicones por corridas electroforéticas en minigeles de agarosa al 2% y poliacrilamida al 6% para la identificación del tipo. Se compararon resultados con hallazgos en cérvix. Los datos obtenidos en el estudio permitirían abrir líneas para diagnóstico y pronóstico en área disciplinar odontológica.

### **ABSTRACT**

Mouth pathologies will be analyzed, proliferative, potentially malignant, and neoplasics in relation to the presence of the Human Papilloma Virus (HPV). The viral detection will realize with molecular PCR technology sheltered protocol and the genotipification for PCR-LIS-SSCP (polymorphism in the conformation of simple chain). In positive neoplasics for HPV's different genotypes, the detection and classification of Herpes Simplex Virus, by means of the amplification of region 179 pb correspondent to a fragment of the gene of viral DNA polymerase, the amplicones being detected by electrophoretics bullfights in minigels of agarosa to 2 % and poliacrilamida to 6%. The results will be compared with findings in cervix. The results of the study would allow opening lines for diagnosis and forecasting in the odontologic area.

## INTRODUCCIÓN

Tanto el diagnóstico como el tratamiento de la infección por VPH (Virus del Papiloma Humano) y las patologías relacionadas, continúa siendo un tema candente en cuanto a investigación. Las principales dificultades radican en la identificación del tipo viral, la ausencia de una terapia antiviral efectiva y las altas tasas de recurrencia y persistencia de la infección. El VPH pertenece a la familia de los Papovaviridae, con una alta afinidad por los queratinocitos, como células target, pasibles de sufrir transformación oncogénica. Al menos unos 200 VPHs (cuando comenzamos a estudiar este virus hablábamos de 50 genotipos), se han identificado usando técnicas moleculares estableciendo su relación con tipos particulares de patologías cervicales y bucales (1). La replicación depende del grado de diferenciación de los queratinocitos. Las partículas virales maduras se detectan en los núcleos de los estratos granuloso y córneo. Los efectos citopáticos que se observan en el epitelio (presencia de inclusiones intracitoplasmáticas o nucleares-vacuolización perinuclear), son secundarios a la interferencia por el virus en la diferenciación de la célula huésped (2-3). El VPH codifica 9 a 10 tipos de proteínas, carece de proteasas, ADN polimerasa o de enzimas involucradas en el metabolismo de los nucleótidos. Las proteínas virales E6 y E7 participan en el proceso de oncogénesis. Las proteínas de los tipos 16 y 18 tienen la capacidad de interactuar con las proteínas celulares de la regulación del ciclo celular: p53 y Rb (4). Si bien, durante años se han citado innumerables factores como responsables del desarrollo neoplásico, actualmente existe suficiente evidencia para implicar al VPH como el factor más importante en la génesis del carcinoma de cuello uterino (5). El punto de partida del proceso neoplásico se inicia en las células basales, donde se produciría la infección por VPH a través de una solución de continuidad a nivel epitelial, por microtraumas. En mucosa bucal, se ha relacionado al VPH con una extensa lista de lesiones: proliferativas, potencialmente malignas, malignas (cáncer bucal) e incluso odontogénicas (6-7). En las lesiones benignas el ADN viral permanece en las células epiteliales en forma libre (episomal), en cambio, en la generalidad de los cánceres, el ADN se integra en forma estable al genoma de la célula huésped. El virus puede producir una infección transitoria o una infección persistente y ésta última puede provocar cambios a nivel del epitelio bucal. Sin dejar de considerar que el paso al fenotipo celular maligno requiere de otros factores. Si bien el VPH es responsable de la infección de transmisión sexual de mayor prevalencia, la transmisión también puede ser asexual. Ciertos genotipos son responsables de casi todos los casos de cánceres cervicales y otros a los de cabeza y cuello. Una forma más común y menos virulenta del virus causa verrugas genitales y de piel. Es de suma importancia a la hora de diagnosticar VPH en lactantes, la transmisión vertical. Por este motivo existen lesiones pediátricas que se asociaron al virus tanto de bajo como de alto riesgo para la transformación a la malignidad. Otra forma llamativa las constituyen las lesiones de estirpe odontogénica con infección por VPH. La técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) sigue demostrando su alta especificidad y sensibili-

dad para la identificación y sobre todo la genotipificación viral. Se reitera que el virus por si solo no es suficiente para el cambio al fenotipo celular maligno y se necesitan factores que actúen en sinergismo con aquel. El objeto del estudio fue identificar VPH en lesiones bucales mediante la utilización de la técnica molecular reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con material de archivo del Laboratorio de patología quirúrgica de la FOLP y dos casos pediátricos con diagnóstico clínico. Se aplicó la PCR para detectar el genoma viral con el agregado de LOW STRENGTH CONFORMATION para la identificación de tipo viral (Fig. 5).

Se utilizaron entre 1 y 3 secuencias de 10  $\mu$  de tejido paraafinado. Se desparafinó lavando con xilol luego etanol absoluto y se secó el tejido al aire. Se extrajo ADN de las muestras. Posteriormente se emplearon los Oligonucleótidos MY 09/11 como cebadores externos en la primera ronda de amplificación y GP 05/06 como cebadores internos en la segunda ronda de amplificación. Este conjunto de cebadores permite la genotipificación de un amplio es-



Fig. 1 y2- Liquen Atrófico-Erosivo labial con lesiones en mucosa del borde lingual, labial y gingival.



Fig. 3- Extenso tumor ulcerado localizado en mucosa palatina. Carcinoma a Células Escamosas.

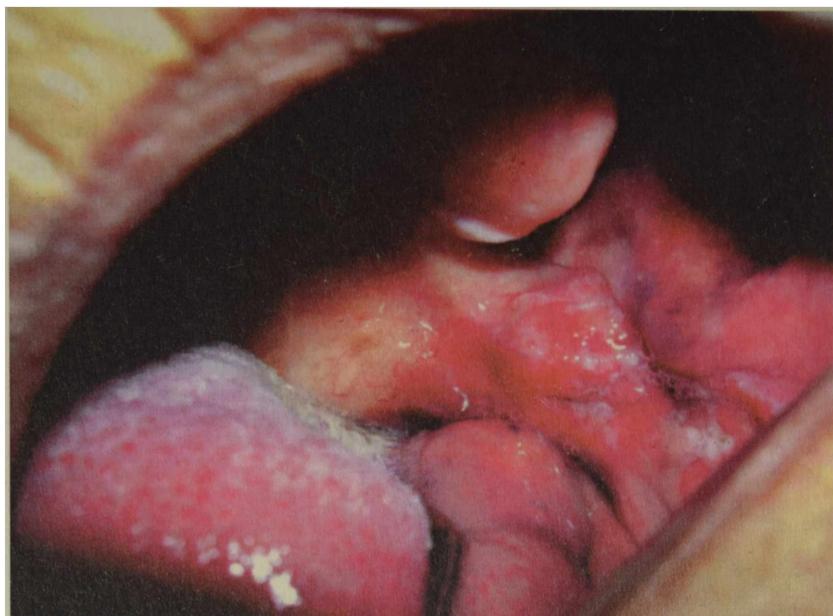


Fig. 4- Carcinoma a Células Escamosas en su forma ulecrovegetante en mucosa de trígono.

pectro de tipos virales del VPH. La detección de los amplificados se realizó por corrida electroforética en geles de agarosa al 2 %. Como controles positivos se utilizaron los ADN de los clones plasmídicos. La evaluación de los geles se efectuó por transiluminación con luz ultravioleta. Se tuvieron en cuenta 17 lesiones potencialmente malignas n =17(Fig. 1, 2), n =16 lesiones malignas (Carcinomas de Células Escamosas) (Fig. 3, 4), n=1 épulis congénito del recién nacido y n =1 nódulos de Bôhn. Se tuvieron en cuenta controles.

## RESULTADOS

Los resultados obtenidos fueron: 57 % de lesiones potencialmente malignas positivas, de las cuales 35% con identificación del VPH tipo 16. Los carcinomas escamosos mostraron positividad en el 68,1 % de los casos y el 54,5 % positivos para VPH 16. En el épulis congénito del recién nacido se identificó el VPH 16 y en los nódulos de Bôhn el genotipo 6. Estos rastreos basados en porcentajes de frecuencia relativa permitieron detectar en la serie de patologías bucales estudiadas el tipo de VPH prevalente: el 16, indicado como de alto riesgo en lo relativo a la transformación maligna y el tipo 6 de bajo riesgo.

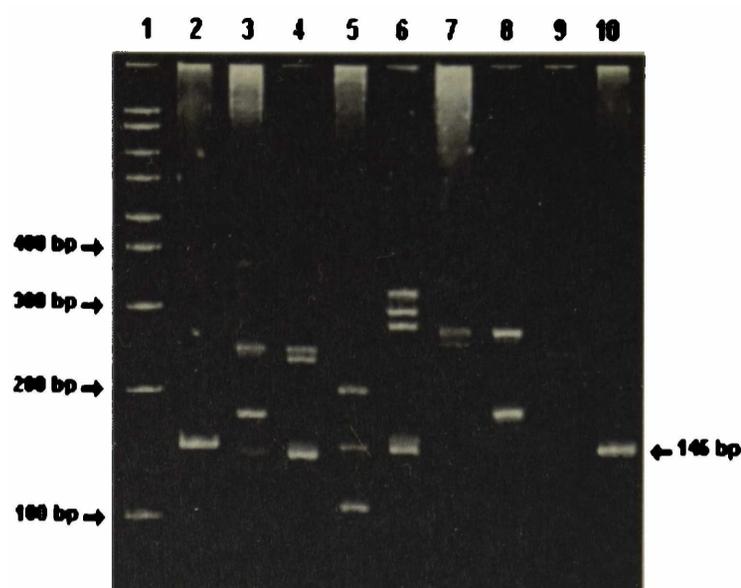


Fig. 5- Genotipificación – LISS-SSCP (Polimorfismo en la conformación de cadena simple)

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

La infección por VPH es considerada en la actualidad como la infección de transmisión sexual (ETS) más frecuente en el mundo. Si bien la gran mayoría de estas infecciones son asintomáticas o subclínicas y controladas por el sistema inmune, alrededor del 10% y 20% se vuelven persistentes, siendo estas las que tienen mayor potencial oncogénico. Estos datos son coincidentes con hallazgos de otros autores (2-6). En mucosa bucal clínicamente sana, se han identificado diferentes tipos de VPH. Sin embargo, la evidencia científica ha corroborado parámetros tales como:

- La prevalencia de detección se incrementa con la edad.
- La detección de VPH en carcinomas escamosos es casi el doble de la observada en mucosa bucal normal.
- La detección es más frecuente en el tejido tumoral que en el tejido no neoplásico.
- Las lesiones con VPH son clínicamente proliferativas.
- El tipo viral 16 fue el prevalente(7).

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Micinquevich S, Casariego Z, Golijow C, Gómez MA. Genotipificación de VPH en Carcinomas Bucales. Libro de Resúmenes IX Congreso Argentino de Ciencias Morfológicas. 2004; 1:55.
2. Leang X, Lewis J, Foote R. Prevalence and Significance of Human Papillomavirus in Oral Tongue Cancer: Titer Mayo Clinic Experience. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008; 66: 1875-80.
- Rischin D. Oropharyngeal Cancer, Human Papillomavirus and Clinical Trials. *Journal of Clinical Oncology.* 2010; 28 (1): 1-3.
3. Micinquevich S; Mayocchi K, Dorati P, Gómez M. La Célula Epitelial y la Infección por VPH. Morfología de la Célula Coilocítica por Microscopía Óptica y Electrónica de Transmisión. XLII Reunión Anual. Sociedad Argentina de Investigación Odontológica. San Luis. Argentina. Octubre 2009. Resumen 202.
4. Barrón A, Aranda C, Valenzuela S, Yuridia Paredes HV. Infección Cervical por Virus del Papiloma Humano: Genotipificación por Hibridación in situ y Análisis Ultraestructural por Microscopía Electrónica. *Perinatol Reprod Hum.* 2004; 18 (4):208-216.
5. Yang YY, Koh LW, Tsai CH, Wong EFC, Liw SJ. Correlation of Viral Factors with Cervical Cancer in Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect.* 2004; 37: 282-87
6. Syrjanen K, Syrjanen S. Human Papillomavirus (HPV) involvement in squamous cells lesions of the oral cavity. *Proc Finn Dent Soc* 1983; 79: 1-2.
7. Johnson N, Francesschi S, Ferlay J, Ramadas K, Schmid S, et al.. Tumours of the oral cavity and oropharynx, Squamous cell carcinoma. In: *Pathology and genetics of Head and Neck Tumours. World health Organization Clasification of Tumours*, Press Lyon, 2005. P 169.