



Quimiometría y caracterización de displasias causadas por VPH (Virus de Papiloma Humano) utilizando espectroscopia Raman.

1 línea en blanco

R. Avila Rodríguez^a, I. Compeán Martínez^a, M.B. Silva Cazares^a, M.C.de R. Terrones Gurrola^a, Carrizales Peña C.B.^a, I.García Guerrero^b, M. C. Gutiérrez Gil^b.

^aCoordinación Académica Región Altiplano de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Raquel.avila@uaslp.mx, Isaac.compean@uaslp.mx

^bHospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto de San Luis Potosí, fisraelgg@hotmail.com, mary_carmen_g@hotmail.com

RESUMEN

El Virus del Papiloma Humano (VPH) es una de las infecciones de transmisión sexual con más prevalencia a nivel mundial, y es considerada una condición precancerosa. Los principales métodos de diagnóstico son la prueba de Papanicolaou, el cual consiste en un raspado de células que se recogen del cérvix, para ser analizadas por un Médico Patólogo. Recientemente se están utilizando técnicas de espectroscopia óptica para la medición de muestras biológicas, las cuales proporcionan información química y estructural de la muestra analizada. En este trabajo se utilizó la técnica de espectroscopia Raman, la cual es una técnica fotónica de alta resolución donde la luz dispersada nos proporciona información sobre la muestra, se analizaron 18 muestras provenientes del cuello uterino, las cuales fueron colectadas de pacientes del Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto" de la Cd. San Luis Potosí, adquiriendo dos muestras por paciente, una para análisis de patología y la otra para la medición con espectroscopia Raman, los resultados de patología reportaron 8 sanas y 10 con un grado de displasia, estas mismas muestras se midieron con espectroscopia Raman. Los espectros Raman obtenidos contienen múltiples bandas que indican los grupos funcionales de proteínas, aminoácidos, carbohidratos y lípidos propios del crecimiento celular, por lo que podemos decir que es factible la utilización de espectroscopia Raman como un instrumento útil para la caracterización de muestras de VPH, así mismo como una técnica alternativa para la comprobación de los resultados arrojados de Patología en las pruebas de Papanicolaou, y donde los cambios de intensidad muestran relación con el crecimiento celular anormal propio de la presencia de displasia.

Palabras Clave: Virus del Papiloma Humano, Espectroscopia Raman.

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer cervicouterino es un problema mundial de salud y está relacionado con el virus del papiloma humano, que se genotipifica en virus de bajo y alto riesgo u oncogénicos. Los genotipos de cáncer cervicouterino más frecuentes en el mundo son los VPH-16 y 18. El 95% de ellos se origina por infección persistente del VPH y más del 95% de los casos se asocia con infección por virus del papiloma humano (VPH) [1]. Los virus del papiloma humano carecen de envoltura, su ADN es de doble cadena y pertenecen a la familia Papovavidae. El genoma del virus del papiloma humano está dentro de una cápside que contiene las proteínas tardías estructurales mayor (L1) y menor (L2) [2].

Actualmente se están utilizando las técnicas de espectroscopia óptica para la medición de muestras biológicas, como la detección de cáncer de mama, análisis de cambios de concentración de glucosa, determinación de colesterol e inmunoglobulina y caracterización de bacterias [3]. Una de las espectroscopias ópticas que ha demostrado tener gran aplicación en el área biomédica, es la espectroscopia Raman, ya que es una técnica de dispersión que proporciona en pocos segundos información química y estructural de casi cualquier material o compuesto orgánico y/o inorgánico [4].



2. TEORÍA

Cuando una radiación pasa a través de un medio transparente, una fracción del haz se dispersa en todas direcciones. En 1928 el físico hindú C.V. Raman descubrió que la longitud de onda de una pequeña fracción de la radiación dispersada por ciertas moléculas, difiere de la del haz incidente y, además, que los desplazamientos de la longitud de onda dependen de la estructura química de las moléculas responsables de la dispersión [4]. El análisis mediante espectroscopia Raman se basa en el examen de la luz dispersada por un material al hacer incidir sobre él un haz de luz monocromático. Una pequeña porción de la luz es dispersada inelásticamente experimentando ligeros cambios de frecuencia que son característicos del material analizado.

Los reportes epidemiológicos señalan que el VPH se presenta en 99.7% de los casos positivos de cáncer cervicouterino (CaCu), y en estudios nacionales se ha reportado que la prevalencia de VPH de alto riesgo aumenta 78 veces la probabilidad de presentar CaCu[5]. La infección cervical por VPH ocurre en 5 a 40% de las mujeres con vida sexual activa y guarda una estrecha correlación con la edad; de tal manera que 20% de las mujeres que tienen entre 20 a 25 años de edad y 6% de las mayores de 30 años se infectan con este virus[6].

3. PARTE EXPERIMENTAL

Las muestras de tejido cervicouterino fueron colectadas de 18 pacientes que acuden a la prueba de Papanicolaou del Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto de San Luis Potosí. Las muestras se analizaron en el laboratorio de patología del mismo hospital indicando 8 como sanas y 10 con un grado de displasia, las mismas muestras se midieron con el espectrómetro Raman el cual consiste de una fuente de luz láser de 785nm a 499mW que es la que excita la muestra, la luz dispersada es colectada por el espectrómetro, donde las frecuencias Raman son detectadas por una cámara CCD, la cual convierte las señales luminosas en señales eléctricas, para ser procesadas y observadas en una computadora, el esquema de medición se muestra en la figura 1. Se tomaron 3 mediciones por cada muestra, se promediaron y los resultados fueron analizados por una comparación visual de las muestras sanas y con displasia, estos resultados se muestran en la figura 2 donde podemos observar que existe diferencia en intensidad Raman, y se encontraron frecuencias Raman asignadas al modo vibracional C-O en 1144cm^{-1} y la de 1322cm^{-1} con lípidos y proteínas.



Figura 1 Arreglo experimental de las mediciones con Espectroscopia Raman.

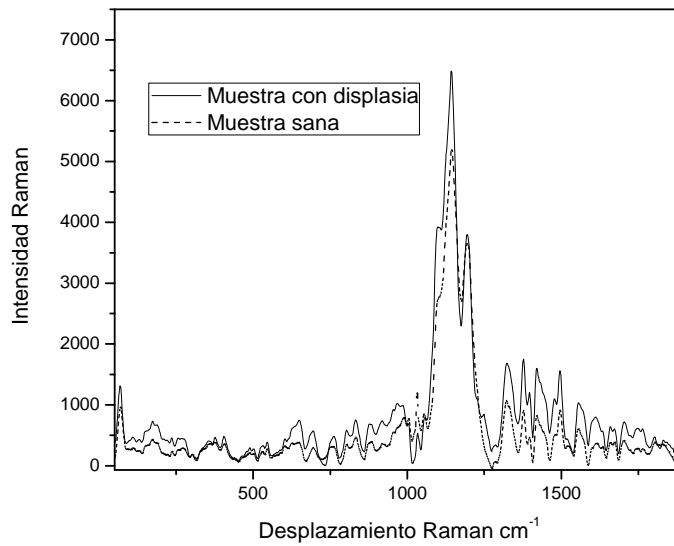


Figura 2. Espectros Raman de las muestras promediadas sanas y con displasia.

4. CONCLUSIONES

Las regiones Raman obtenidas se pueden asociar con la presencia de C-O, proteínas, OH, NH, lípidos y ácidos nucleicos y los cambios en intensidad de los espectros pueden estar relacionados con el crecimiento celular. Por lo que podemos decir que la espectroscopia Raman es una técnica útil que nos proporciona información de los cambios bioquímicos de la presencia o ausencia del VPH.

BIBLIOGRAFÍA

1. Vargas HVM, Vera GD, Acosta AG, Curiel VJJ. "Virus del papiloma humano. En: Cáncer en la Mujer 1st ed. México: Alfil; 2011.pp 615-636.
2. Víctor Manuel Vargas- Hernández, Gustavo Acosta Altamirano, "Prevención primaria del cáncer cervicouterino" *Cir Cir* 2012;80:291-300.
3. X.F Ling, Y.Z., F Weng, W.H.Li, X.U. shi, R.M Hammaker, W.g. Fateley, F.wang, Zhou, R.D Soloway, J.R Ferraro and J.G Wu, "Investigation of normal and malignant tissue sample from the human stomach using fourier transform Raman spectroscopy", 2002 *appl. Spectrosc* 56, 570-573.
4. Douglas A. Skoog., F.James Holler., y Timothy A.Nieman. "Principios de Análisis Instrumental" 1992 (5a Ed.). Editorial MC Graw Hill. Madrid.
5. Tirado Gómez L., Mohar Betancourt A., López Cervantes M., García Carranca A. "Factores de riesgo de cáncer cervicouterino invasor en mujeres mexicanas. *Salud Pública Mex* 2005; 47:342-350.
6. Matos E. Loria D., Amestory GM, Herrera L. et al. "Prevalence of human papillomavirus infection among women in Concordia, Argentina: a population-based study. *Sex Transm Dis* 2003; 30:593-9.



IV

CONGRESO NACIONAL DE TECNOLOGÍA APLICADA A CIENCIAS DE LA SALUD

"Generación de Nuevas Técnicas de Diagnóstico y Tratamiento"

6, 7 y 8 de Junio de 2013, Tonantzintla, Cholula, Puebla

