

El diagnóstico del virus del papiloma humano en el contexto de la vacuna

José de Jesús Curiel-Valdés

De acuerdo con los resultados presentados hasta la fecha, la vacuna profiláctica para el virus del papiloma humano es un instrumento que promete disminuir de manera importante la incidencia del cáncer cervicouterino,¹⁻⁴ el cual de acuerdo con datos de la Secretaría de Salud de México hasta julio de 2007 ocupaba el segundo lugar de muerte, rebasado ligeramente por el cáncer mamario; para el 2002, en el país cada dos horas moría una mujer por esta enfermedad.⁵

Es también conocido que el diagnóstico del cáncer cervicouterino en sus etapas iniciales se realiza mediante tres procedimientos: citología cervical, colposcopia y biopsia cervical dirigida por colposcopia, que deben utilizarse en este orden cronológico;⁶ de los tres, la última es el estándar de oro. En el ámbito de estos tres métodos, el virus del papiloma humano se considera sólo una enfermedad sin determinar el estadio de portador, para lo cual se emplean primordialmente dos métodos: la reacción en cadena de la polimerasa y la captura de híbridos, que si bien ayudan a definir el estadio no hacen el diagnóstico de NIC.⁷

Las vacunas actuales son dos: una tetravalente con los tipos 6, 11, 16 y 18 del virus; y otra bivalente, con los tipos 16 y 18; ambas tienen como objetivo crear anticuerpos neutralizantes en contra de la proteína L1 de la cápside del virus.^{8,9} Mediante el desarrollo de "partículas semejantes al virus" (estructuras no infectantes ya que no contiene ADN viral pero idénticas aparte de esta proteína L1), ambas vacunas logran desarrollar anticuerpos, lo que garantiza que sean muy seguras en su aplicación y con un nivel de anticuerpos neutralizantes muy superior al de la infección natural.⁸

El nivel de prevención de la enfermedad en las mujeres vacunadas contra el virus del papiloma humano ha sido muy elevado, casi de 100 % para los tipos 16 y 18; con la vacuna tetravalente también contra verrugas. Los virus 16 y 18 son los causantes de

más de la mitad de los casos de cáncer cervicouterino. En la bivalente, debido al adyuvante AS04 que contiene, existe una reacción cruzada que se extiende a otros tipos de virus y se estima que puede cubrir 70 a 80% de todos los casos de cáncer cervicouterino, es decir, un espectro mayor que la tetravalente y con niveles entre 15 y 17 veces superiores a la enfermedad natural.⁷

Con un esquema de vacunación adecuado con cobertura a la población más susceptible, teóricamente es posible que el efecto sea visible en 20 años, ya que las mujeres a quienes se recomienda vacunar son aquellas que no han tenido contacto sexual, sugiriendo como edad de inicio los 11 años.³ De tal forma, la mortalidad disminuiría cuando este grupo tenga más de 35 años, edad aproximada de mayor aparición del cáncer cervicouterino.⁹ En ese lapso nos enfrentaremos a la vacunación primordialmente de mujeres jóvenes, que de cualquier manera seguirán siendo vigiladas mediante citología cervical rutinaria y de ser detectada alguna anomalía, seguidas con colposcopia y biopsia cervical.

En este punto es necesario hacer algunas consideraciones. La citología tiene un promedio de 40 % de resultados falsos negativos y falsos positivos.¹⁰ La colposcopia tiene como criterio diagnóstico la presencia de manchas acetoblancas, gran parte de las cuales se debe a metaplasia y no al virus del papiloma humano. La biopsia cervical convencional con hematoxilina y eosina, estándar de oro para el diagnóstico de enfermedad por el virus del papiloma humano, tiene un error ya comprobado de 40 a 60 % y dista mucho de ser una herramienta realmente reproducible tanto intra como interobservador. Aunque dicho aspecto está bien documentado, ha sido minimizado por patólogos^{5,10} y resulta desconocido por la mayoría de los ginecólogos.

Las implicaciones de lo anterior son diversas: por un lado, pacientes sobretratadas y, por otro, pacientes consideradas con éxito terapéutico al no recurrir la enfermedad cuando en realidad nunca hubo enfermedad, o bien, consideradas con fracaso terapéutico dado que las metaplasias no maduran y persisten como manchas blancas. El principal riesgo es para las mujeres subdiagnosticadas, quienes se consideran sin lesión y al regresar a su siguiente visita o estudio se les detecta una lesión ya con un grado más avanzado; ésta es una de las razones de la elevada mortalidad en México. En este contexto tendríamos los resultados falsos negativos de la citología: citología negativa y biopsia mal interpretada como negativa.

¿Cuál es el contexto de la vacuna ante esto? Mujeres vacunadas que no esperan tener una displasia y que eventualmente acu-

Anatomopatólogo, Laboratorio Grupo Diagnóstico, S. C.

Solicitud de sobretiros:
Laboratorio Grupo Diagnóstico, S. C.,
Hamburgo 304,
Col. Juárez,
México, D. F.
Tel.: (55) 5211 4339.
E-mail: josecurielvaldes@hotmail.com

Recibido para publicación: 28-08-2007
Aceptado para publicación: 26-09-2007

den a estudio citológico que muestra la posibilidad de virus del papiloma humano, son llevadas a colposcopia donde se descubre una mancha blanca de la cual se obtiene una biopsia y se les formula el diagnóstico de NIC, generalmente displasia de bajo grado o, peor aún, NIC de alto grado. Si en las mujeres no vacunadas este diagnóstico es estresante, en una persona que se creía protegida puede ser devastador.

¿Cuál es la posibilidad real de este escenario? Diversos estudios demuestran que el error de la citología, la colposcopia y la biopsia es importante: en la biopsia puede ser de 50 %, es decir, cinco de cada 10 casos pueden ser diagnosticados erróneamente.^{6,10,11} Ante este panorama es indispensable asegurar el diagnóstico en la biopsia por métodos moleculares de inmunohistoquímica.^{6,11}

Son dos los marcadores más usados y recomendados para ello. El primero, que se perfila como un importante apoyo para el diagnóstico de certeza en NIC de alto grado, es el p16. Aunque es muy amplia la literatura en torno a este marcador^{6,11,12} y extenso y complicado su mecanismo, en forma resumida puede decirse que es una ciclina derivada del daño del E7 del virus del papiloma humano al gen Rb de la célula huésped, detectable por inmunohistoquímica y que no está presente en el cérvix normal o inflamatorio ni en metaplasia o atrofia, simuladoras de NIC. Esta reacción se debe observar en el tejido, tanto en el núcleo como en el citoplasma, y en su interpretación se debe reportar como esporádica si afecta a menos de 5 % de las células, focal si afecta de 5 a 25 % y difusa si afecta a más de 25 % y al espesor de las capas afectadas. En cuanto a la tinción, se califica como débil, moderada o intensa, tanto en núcleo como en citoplasma. De acuerdo con la literatura,¹¹ p16 es sensible y específico en un nivel de positividad focal y en grado de tinción de moderada a intensa en núcleo y citoplasma para virus del papiloma humano de alto riesgo. Indica NIC1, NIC2 o NIC3 si abarca un tercio, dos tercios o los tres tercios del espesor, respectivamente; esto se complementa con algunos parámetros de histología convencional, sobre todo para distinguir entre NIC2 y NIC3. Este marcador ha sido comparado con HIS para integración del virus del papiloma humano al genoma celular, siendo más sensible y específico.¹² Los reportes de la literatura lo sitúan como 100 % sensible y específico para virus del papiloma humano de alto riesgo y como un marcador que evita la discrepancia inter e intraobservador.^{6,11,12}

El segundo marcador es de proliferación celular y se denomina MBI o Ki67,¹³ el cual indica la positividad de las células que están en proceso de reproducción, es decir, en fase pre y posterior a la mitosis. Su aplicación se fundamenta en que el E7 del virus del papiloma humano al dañar al gen Rb y alterar las ciclinas y desregular el ciclo de las células, se reproduce más y por lo tanto es positivo. Es negativo a displasia si se aprecia positivo en la capa basal y en forma esporádica; orienta más a displasia si está en mayor número de células y en capas no basales. Hay otros factores independientes del virus del papiloma

humano que influyen en la presencia de Ki67, como está demostrado por su presencia aumentada en numerosas neoplasias malignas. La combinación de estos dos marcadores es altamente recomendada para un diagnóstico seguro de LAG, sobre todo en epitelio con atrofia en mujeres posmenopáusicas.

Es posible que existan otras implicaciones de continuar con un error diagnóstico en la biopsia, sin embargo, la generación de angustia en las pacientes y el desprestigio de un recurso tan importante como la vacuna del virus del papiloma humano son razones suficientes para ser más cautelosos en el diagnóstico de NIC.

La inmunohistoquímica es una herramienta cada vez más empleada para asegurar el diagnóstico correcto de las lesiones neoplásicas y algunas no neoplásicas en los laboratorios de patología, disponible en laboratorios que centralizan este recurso para aquellos que aún no lo tienen implementado. En México, el conocimiento de p16 como herramienta diagnóstica es amplio entre los patólogos, sin embargo, su difusión entre ginecólogos es todavía escasa y muy pocos médicos solicitan la determinación de este marcador, según se deduce de la ausencia de trabajos publicados al respecto.

Existe un círculo que no se ha podido romper: si la colposcopia muestra una mancha blanca y el resultado es NIC, aparentemente todo correlaciona. Sin embargo, de acuerdo con las cifras comentadas esto es cierto sólo en 50 % de las ocasiones, en este margen se fundamenta el diagnóstico actualmente. Las áreas acetoblancas en colposcopia y el error diagnóstico citohistológico son independientes de la vacunación y siempre van a existir a menos que se cambie la rutina diagnóstica. El uso de la reacción en cadena de la polimerasa y la captura de híbridos podría ser una solución, sin embargo, estos métodos ayudan al diagnóstico de NIC pero no lo hacen, ya que la presencia del virus no significa enfermedad; la enfermedad implica tener una lesión visible al microscopio o colposcopio como resultado de la alteración de las células del epitelio. Además, en México estas pruebas moleculares son más caras que una biopsia con inmunohistoquímica. Dado que el virus del papiloma humano en reposo existe en lesiones que simulan NIC, como la metaplasia y la atrofia, su identificación tampoco resulta confiable como prueba de diagnóstico al no distinguir cuando el virus está en una célula normal o una displásica; no es lo mismo tener el virus que tener una enfermedad (NIC) causada por el virus. Seguramente las dos vacunas referidas serán evaluadas en un futuro en cuanto a su capacidad para disminuir el número de displasias (NIC) y carcinomas en todo el mundo.

¿Que sucederá con los resultados falsos positivos de la biopsia? Sabemos que la metaplasia o la atrofia no evolucionan a cáncer, por lo tanto los casos que ahora son considerados como NIC al ser tratados podrían ser considerados con éxito terapéutico en la reacción cruzada de las vacunas. Precizando este concepto: una mujer es diagnosticada con NIC2 dado que el estudio citológico mostró atipias de significado incierto con posibilidad

de lesión de alto grado (ASC H), por colposcopia se identificó imagen acetoblanca y por biopsia se observó metaplasia inmadura; por su parte, la reacción en cadena de la polimerasa identificó el virus del papiloma humano 33 (de alto riesgo) en pocas copias. Seis meses o un año después, la metaplasia evoluciona y el epitelio madura y la mujer deja de tener una lesión acetoblanca, la biopsia indica ausencia de la displasia, pero la reacción en cadena de la polimerasa sigue mostrando virus del papiloma humano 33, igual en pocas copias. La interpretación de esto sería que la vacuna es capaz de controlar la lesión, más no de erradicar la persistencia del virus, cuando en realidad se trató de un sobrediagnóstico y nunca la vacuna "curó" una enfermedad: siempre fue un virus en reposo asociado a metaplasia.

En la realidad económica de nuestro país, un algoritmo diagnóstico ideal en mujeres vacunadas sería el uso de p16 en citología, capaz de detectar virus de alto riesgo tanto en reposo como en células displásicas, es decir, enfermedad real, de manera que se seleccione a pacientes a quienes realizar biopsia y de nuevo corroborar el diagnóstico con p16 en el tejido; en cualquier momento podrá hacerse la tipificación viral por reacción en cadena de la polimerasa para determinar el tipo del virus y la carga viral. Sólo así se lograría tener un seguimiento adecuado y saber qué sucede con las pacientes vacunadas.

A manera de conclusión: es importante actuar responsablemente y hacer diagnósticos certeros y no basar los diagnósticos sólo en la interpretación ordinaria de la biopsia, cuyo error está documentado en 40 a 60 % sin inmunohistoquímica. Para corregir este error y de esta forma hacer diagnósticos confiables y reproducibles en su totalidad, es necesario incorporar los recientes recursos evaluados como útiles, los cuales están disponibles directa o indirectamente y son de costo accesible.

Referencias

1. Wright TC, Van Dame P, Schmitt HJ, Meheus A. HPV vaccine introduction in industrialized countries. *Vaccine* 2006;24S3:122-131.
2. Kane MA, Sherris J, Coursaget P, Aguado T, Cutts F. HPV vaccine use in the developing world. *Vaccine* 2006;24(Suppl 3):132-139.
3. Lazcano-Ponce E, Rivera L, Arillo-Santillán E, Salmerón J, Hernández-Ávila M, Muñoz N. Acceptability of a human papillomavirus (HPV) trial vaccine among mothers of adolescents in Cuernavaca, Mexico. *Arch Med Res* 2001;32:243-247.
4. Paavonen J, Jenkins D, Bosch FX, et al. Efficacy of a prophylactic adjuvant bivalent L1 virus-like particle vaccine against infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: an interim analysis of a phase III double blind, randomized control trial. *Lancet* 2007;369:2161-2170.
5. Loustalot M. Presentado en congreso de Acapulco 17 a 21 de julio 2007.
6. Curiel-Valdés JJ. Biopsia de cérvix: ¿Es confiable y reproducible el diagnóstico histológico? La utilidad de p16 INK4A para lograrlo. *Ginecol Obstet Mex* 2007;75:615-620.
7. Moscicki AB, Schiffman M, Kjaer S, Villa L. Updating the natural history of HPV and anogenital cancers. *Vaccine* 2006;24S3:42-51.
8. Stanlet M, Lowy D, Frazer I. Prophylactic HPV vaccines: underlying mechanisms. *Vaccine* 2006;24(Suppl 3):106-113.
9. Parkin DM, Bray F. The burden of HPV-related cancers. *Vaccine* 2006;24(Suppl 3):11-25.
10. Kitchener HC, Castle PE, Cox T. Achievements and limitations of cervical cytology screening. *Vaccine* 2006;24(Suppl 3):63-70.
11. Klaes R, Brenner A, Friedlich T, et al. P^{16INK4a} immunohistochemistry improves interobserver agreement in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol* 2002;26:1389-1399.
12. Kong CS, Balzer BL, Troxell ML, Patterson BK, Longacre TA. P^{16INK4a} immunohistochemistry is superior to HPV in situ hybridization for detection of high-risk HPV in atypical squamous metaplasia. *Am J Surg Pathol* 2007;31:33-42.
13. Agoff SN, Lin P, Morihara J, et al. P^{16INK4a} expression correlates with degree of cervical neoplasia: a comparison with Ki-67 expression and detection of high-risk HPV types. *Mod Pathol* 2003;16:665-673.