

Artículo Original

“Genotipificación del Virus de Papiloma Humano de Alto Riesgo (VPH-AR) mediante PCR en pacientes de 25 a 34 años de edad con resultado de citología anormal”

Concepción Amador Pérez*, José Luis López Velázquez**, Joel Herrera Cintora*, Esperanza Tamariz Herrera***, Fernando E. De la Torre Rendón****, Fanny Barriga Araujo*, Luz Danae Mendoza Larios*.

*Médico Especialista en Ginecología y Obstetricia. Curso Universitario de Alta Especialidad en Patología del Tracto Genital y Colposcopia, **Médico Especialista en Ginecología y Obstetricia Adscrito a la Clínica de Colposcopia, *** Jefe del servicio de Citología, **** Jefe de Patología Quirúrgica.

Clínica de Colposcopia del H.R. “Lic. Adolfo López Mateos” del ISSSTE de la Ciudad de México.

Correspondencia: Dra. Concepción Amador Pérez. cona45@hotmail.com; enseñanza_alm@yahoo.com.mx

Av. Universidad 1321. Colonia la Florida. Delegación Villa Álvaro Obregón. CP. 01030 México D.F. Teléfono: 53222354

Nivel de evidencia: II3

RESUMEN.

Objetivo. La infección causada por el VPH se ha incrementado en los últimos 20 años y las tasas de mayor prevalencia son en adolescentes y mujeres jóvenes. El objetivo de este estudio fue el de conocer la prevalencia y distribución de VPH de alto riesgo en mujeres de 25 a 34 años con resultado de citología anormales.

Material y métodos. Se realizó un estudio observacional, transversal, descriptivo y clínico, incluyendo a 84 pacientes de 25 a 34 años de edad, con un resultado de citología anormal a las cuales se les practicó genotipificación de 14 genotipos del Virus del papiloma humano (VPH) de alto riesgo oncológico mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) con sistema COBAS 4800.

Resultados. El estudio citológico reportó a 15 (17.85%), mujeres con Atipia escamosa cervical (ASC-US), 64 (76.35%) con Lesión Intraepitelial de Bajo Grado (LEIBG), cuatro (4.7%) con Lesión Intraepitelial de Alto Grado (LEIAG) y una (1.1%) con Células Glandulares Atípicas (AGC). En cuanto a los resultados de genotipificación, se obtuvo lo siguiente: 66 casos (78.5%) fueron positivos para el panel o “pool” de alto riesgo (12 genotipos de alto riesgo), seis fueron positivos para el VPH-16 (7.14%), cinco positivos para el panel de Alto Riesgo (AR) más VPH-16 (5.95%), tres fueron positivos al VPH -18 (3.5%) y cuatro casos fueron negativos (4.76%). Al correlacionar las alteraciones citológicas con el tipo de VPH, se encontró que de los 15 ASC-US, 13 fueron positivas al panel de AR y 2 fueron negativas. De las 64 LIEBG: 51 fueron positivas al panel AR, 6 positivas al VPH-16, 3 positivas al VPH 18, 2 positivas al pool de AR más VPH-16 y 2 negativas. De las 4 LIEAG, 1 fue positiva al pool de AR y 3 positivas al pool AR más VPH-16. La paciente que presentó AGC fue positiva al panel de AR.

Conclusiones. La prevalencia de VPH de alto riesgo oncogénico es alta (95%) en las mujeres jóvenes con resultados anormales de citología. Este estudio muestra que la infección por varios tipos de VPH (“pool” de 12 genotipos) se encontró en 78.57% de los casos, mientras que los genotipos 16 y 18 sólo se encontraron en el 16.66% de las citologías anormales.

Palabras clave: VPH, PCR, lesión intraepitelial de bajo grado, lesión intraepitelial de alto grado.

ABSTRACT.

Objective. The HPV infection has increased in the last 20 years and the highest prevalence rates are in adolescents and young women. The objective of this study was to determine the prevalence and distribution of HPV high-risk in women between 25 and 34 with abnormal cytology result.

Material and methods. We performed an observational, transversal, descriptive and clinical study, including 84 patients of 25-34 years old, with abnormal cytology results that had been tested with genotyping of 14 genotypes of human papillomavirus (HPV) high cancer risk by Chain Reaction (PCR) with COBAS 4800 system.

Results. The results were 15 (17.85%), women with cervical squamous atypia (ASC-US), 64 (76.35%) with low-grade intraepithelial lesion (LSIL), 4 (4.7%) with High Grade Intraepithelial Lesion (HSIL) and 1 (1.1%) with Atypical Glandular Cells (AGC). For genotyping

results was obtained as follows: 66 cases (78.5%) were positive for the panel or "pool" of high risk (12 high-risk genotypes), six were positive for HPV-16 (7.14%), five panel positive for High Risk (HR) plus HPV-16 (5.95%), three were positive for HPV-18 (3.5%) and four cases were negative (4.76%). By correlating cytological abnormalities with HPV type, it was found that of the 15 ASC-US, 13 were positive for HR panel and 2 were negative. Of the 64 LSIL: 51 were positive for HR panel, 6 positive for HPV-16, HPV-positive 18, 2 HR-positive pool of more HPV-16 and 2 negative. Of the 4 HSIL, 1 was positive pool and 3 HR, and pool HR more positive HPV-16. The present patient was positive AGC AR panel.

Conclusions. The prevalence of high-risk oncogenic HPV is high (95%) in young women with abnormal cytology. This study shows that infection with multiple HPV types ("pool" 12 genotypes) was found in 78.57% of cases, while genotypes 16 and 18 was found in 16.66% of abnormal smears.

Keywords: HPV, PCR, low-grade intraepithelial lesion, high-grade intraepithelial lesion

INTRODUCCIÓN

La historia natural del cáncer cervicouterino es una alteración celular que se origina en el epitelio del cuello del útero y que se manifiesta inicialmente a través de lesiones precursoras de lenta y progresiva evolución.¹ Estas pueden ser neoplasias leve, moderada o severa, y evolucionar hasta un cáncer in situ o invasor cuando se rebasa la membrana basal. Este sigue siendo un problema grave de salud para todas las mujeres en los países económicamente atrasados.¹

La infección por el Virus del Papiloma Humano (VPH) es la única asociada directamente con el desarrollo de cáncer en el tracto anogenital, señalándosele como agente etiológico del mismo. La infección persistente por VPH oncogénico es la causa principal de este tipo de neoplasia y es la enfermedad de transmisión sexual más frecuente en el mundo.^{1,2} La infección causada por el VPH se ha incrementado de forma alarmante en los últimos 20 años y las tasas de mayor prevalencia son en adolescentes y mujeres jóvenes, con incremento en los casos de lesiones intraepiteliales en este grupo.² La mujer joven tiene factores que predisponen a la infección, como: la inmadurez del sistema inmunológico, una gran eversión glandular en el cuello uterino con una metaplasia escamosa muy activa, la inadecuada producción de moco cervical.² Existen más de 100 diferentes tipos de VPH, casi 40 de éstos tipos infectan superficies mucosas, incluyendo el epitelio anogenital, se dividen de acuerdo a su capacidad oncogénica en: Bajo Riesgo (BR): 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72, 73, 81; y Alto Riesgo (AR): 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 82.^{3,4}

La exposición al VPH produce típicamente una infección de transmisión sexual (ITS), la gran mayoría de éstas ITS (>90%) se resuelven

espontáneamente en dos años. Una minoría de infecciones por VPH-AR persiste durante 5 a 20 años, y estas infecciones persistentes son las verdaderas precursoras del cáncer. La infección persistente por los VPH-AR es un paso necesario para el desarrollo de algunos cánceres.⁵

La infección por VPH es altamente prevalente en las poblaciones jóvenes y sexualmente activas, con una incidencia de hasta el 20%.⁶ La infección es casi pasajera, con una duración media de unos ocho meses en los tipos de VPH-BR y de 13 meses en los tipos carcinógenos de VPH. En una minoría de individuos infectados, los tipos carcinógenos de VPH se vuelven persistentes y predisponen a las mujeres al cáncer 10 a 40 años más tarde. Se ha demostrado un pico máximo de presentación en mujeres menores de 25 años, reportando una prevalencia de 16.7% de ADN-VPH en este grupo de edad y en mujeres menores de 35 años la prevalencia de VPH fue de 12.8% y de 7.1 entre los 35 y 54 años.^{7,8}

Para el cribado del cáncer cervical se ha utilizado tradicionalmente la citología o prueba del Papanicolaou, sin embargo, su sensibilidad para detectar lesiones es baja, aproximadamente 55.4%. En comparación, la prueba de detección del ADN de los genotipos VPH-AR en muestras cervicales tiene una sensibilidad hasta del 96.6% para detectar lesiones precancerosas aunque es menos específica que la citología.⁹ Sin embargo, el verdadero valor de la prueba de detección del ADN de los VPH-AR es su altísimo valor predictivo negativo cercano al 100% que permite espaciar los cribados con la seguridad de no desarrollar NIC 3 en por lo menos tres años y algunos autores aseguran que hasta 5 años.^{9,10} La prueba de VPH

comienza a ser una herramienta de detección principalmente a partir de los 30 años de edad, a medida que baja la incidencia de las infecciones por VPH y el riesgo subyacente de que pueda ocurrir algo clínicamente importante es más alto cuando los resultados de la prueba de VPH son positivos.^{10,11}

La aplicación extensa del cribado por citología cervical ha reducido dramáticamente la incidencia y las muertes por cáncer cervico-uterino en la mayoría de los países desarrollados. Ya que la infección aparece muchos años antes que la neoplasia, la prueba de detección de ADN del VPH ofrece la posibilidad de reducir mucho más la incidencia del cáncer si se aplica razonable y extensamente.^{10,11} Algunos de los usos reconocidos de la prueba del ADN del VPH incluyen el manejo de mujeres con citología que reporta células epidermoides atípicas de significado indeterminado (ASC-US), el seguimiento tras el tratamiento a modo de prueba de curación y el cribado rutinario basado en la población de las mujeres en riesgo.¹⁰ La mayoría de las estrategias de cribado del VPH demandan la prueba de ADN del VPH en mujeres mayores de 30 años, aunque algunos autores han sugerido recientemente que la prueba puede tener utilidad clínica para cribar a las mujeres a partir de los 25 años.¹¹

El objetivo de este estudio fue conocer la prevalencia y distribución de VPH de alto riesgo en mujeres de 25 a 34 años utilizando para su detección el sistema Cobas 4800 HPV Test, es un sistema automatizado de PCR a tiempo real que detecta separadamente los tipos 16 y 18, además de otros doce genotipos de alto riesgo (pool de alto riesgo), la prueba utiliza la amplificación del fragmento de ADN objetivo, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la hibridación de ácidos nucleicos para la detección de 14 tipos de VPH de alto riesgo (AR) en un único análisis y asociar estos resultados con los estudios de citología anormales para conocer el grado de alteración citológica con el genotipo de VPH.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional, transversal, descriptivo y clínico. Se incluyeron en el estudio a las pacientes de 25 a 34 años de

edad, derechohabientes, con un resultado de citología anormal que fueron referidas de las clínicas de medicina familiar del ISSSTE al servicio de colposcopia del Hospital Regional Licenciado Adolfo López Mateos en el periodo comprendido de abril a septiembre del 2012. El criterio de inclusión fueron mujeres de 25 a 34 años de edad, con resultado de citología anormal. Mediante una hoja de recolección de datos se investigaron los siguientes datos: edad, practica de tabaquismo, edad de la menarca, edad a la que iniciaron vida sexual activa, número de parejas sexuales, número de embarazos, partos, cesáreas y abortos, método de planificación familiar, resultado de citología, resultado de PCR y hallazgos colposcópicos. La genotipificación de Virus de Papiloma Humano se realizó en el laboratorio de citología mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) con sistema COBAS 4800. Cuyos resultados podían ser, Positivo a genotipo 16, positivo a genotipo 18, positivo al pool de Alto Riesgo (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 82), mezclas de éstos o resultado negativo. La toma de la muestra para estudio de PCR y citología, se realizó se secreciones cervicales de la zona de transformación mediante la brocha Colpotre® desechable, hecha polietileno, flexible, que permite tomar en una sola maniobra muestra celular endocervical y exocervical.

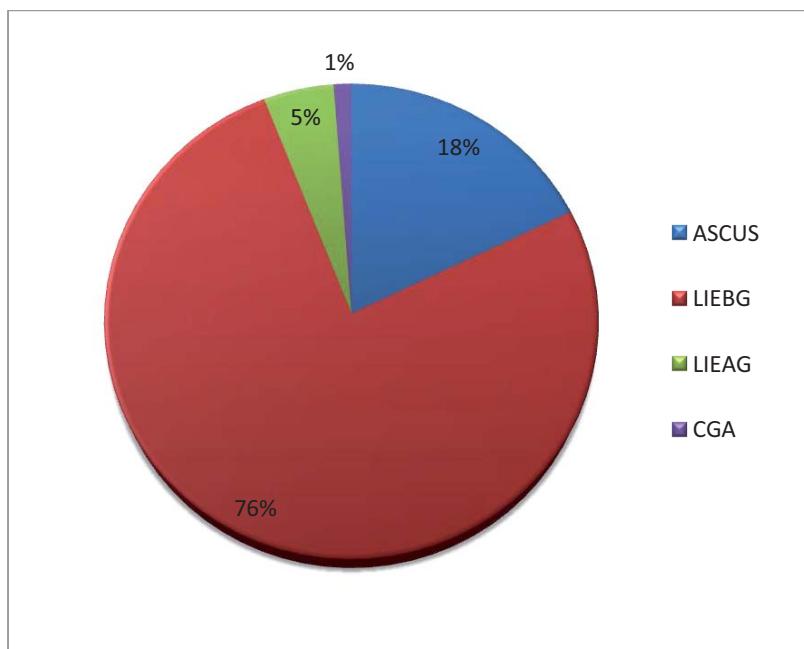
Para el análisis de los resultados se utilizó estadística descriptiva y medidas de tendencia central.

RESULTADOS

Se estudiaron 84 mujeres con los siguientes resultados, el promedio de edad fue de 27.9 años, la práctica de tabaquismo se encontró presente en 41 pacientes (48.80%). La edad promedio al inicio de vida sexual activa fue de 18.8 años, el promedio en el número de parejas sexuales fue de 2.92, el promedio de gestaciones fue de 1.67%. Los resultados anormales de las citologías fueron, 15 con ASCUS (17.85%), 64 con lesión Intraepitelial de Bajo Grado (76.35%), 4 con lesión Intraepitelial de Alto Grado (4.7%) y una con Células Glandulares Atípicas (AGC) (1.1%). (Tabla1), *Gráfica1*.

Tabla 1. Resultados del Estudio Citológico

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
ASC-GUS	15	17,9	17,9	17,9
LEIBG	64	76,2	76,2	94,0
LEIAG	4	4,8	4,8	98,8
AGC	1	1,2	1,2	100,0
Total	84	100,0	100,0	

Gráfica 1. Porcentaje de citologías anormales.

En cuanto a los resultados de genotipificación, se obtuvo lo siguiente: 66 casos fueron positivos para el "pool" de alto riesgo (78.5%), seis casos fueron positivos para el VPH genotipo 16 (7.14%), cinco casos fueron positivos para el pool de Alto riesgo más genotipo 16 (5.95%), 3 casos fueron positivos al VPH genotipo 18 (3.5%) y cuatro casos fueron negativos (4.76%) (Tabla 2.), Gráfica 2. Al correlacionar las alteraciones citológicas con el

tipo de VPH, se encontró que de los 15 ASC-US: 13 fueron positivas al "pool" de AR y 2 fueron negativas. De las 64 LIEBG: 51 fueron positivas al "pool" AR, 6 positivas al VPH-16, 3 positivas al VPH 18, 2 positivas al "pool" de AR más VPH-16 y 2 negativas. De las 4 LIEAG, 1 fue positiva al pool de AR y 3 positivas al "pool" AR más VPH-16, una paciente que presentó AGC fue positiva al "pool" de AR. Gráfica 3.

Tabla 2. Resultados de la Genotipificación

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
"Pool" de Alto Riesgo	66	78,6	78,6	78,6
Genotipo 16	6	7,1	7,1	85,7
Genotipo 18	3	3,6	3,6	89,3
Negativo	4	4,8	4,8	94,0
"Pool" de Alto Riesgo + Genotipo 16	5	6,0	6,0	100,0
Total	84	100,0	100,0	

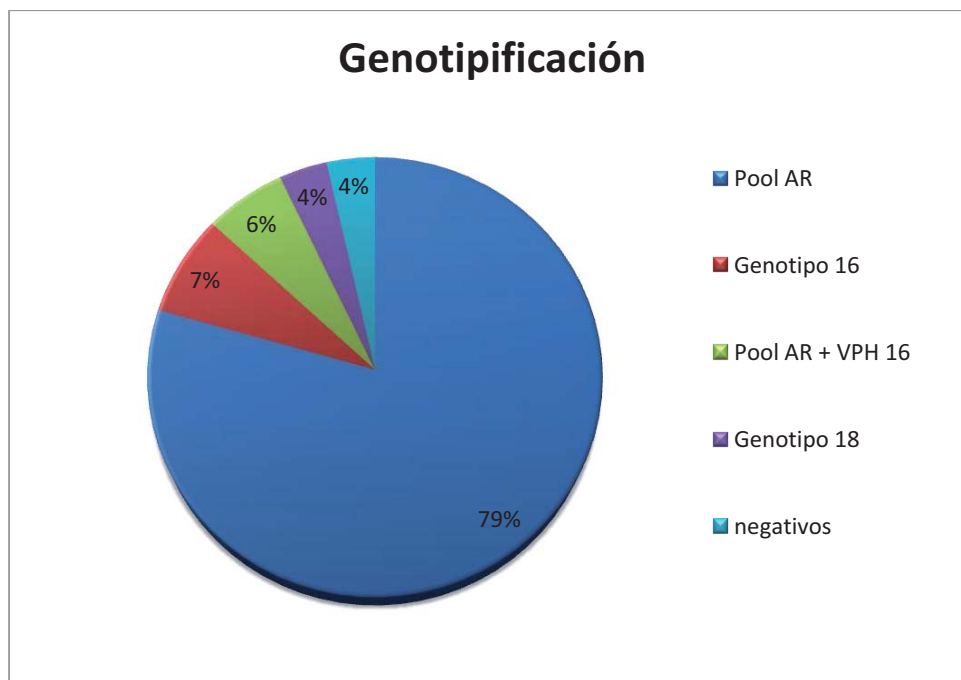
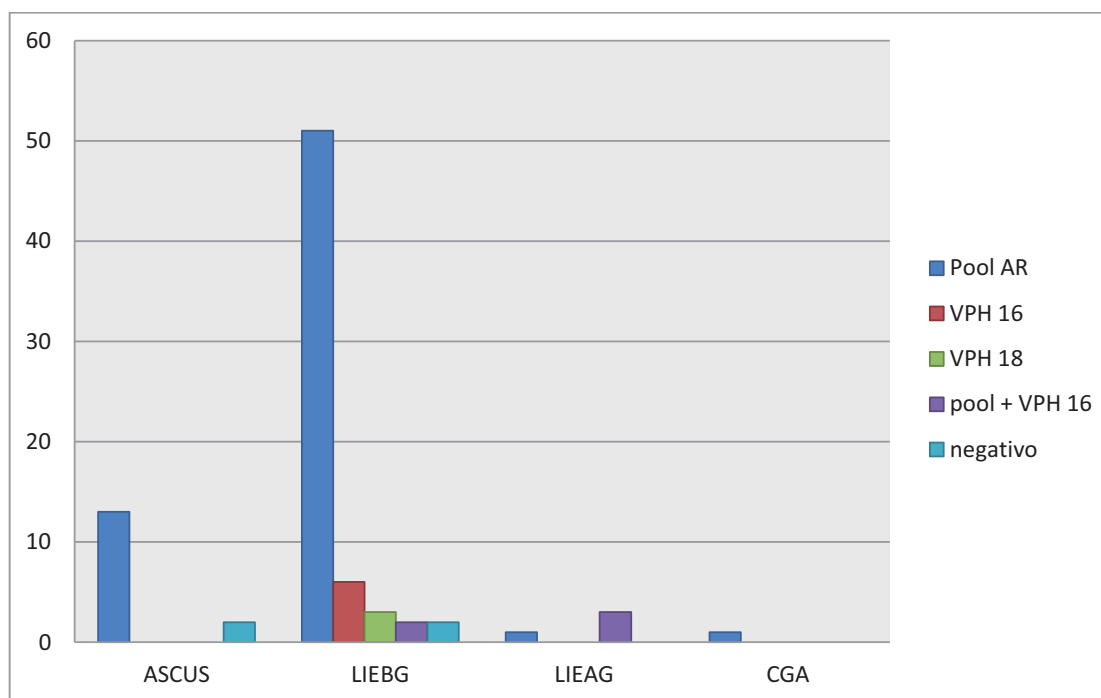
Gráfica 2. Porcentaje de casos positivos a la prueba de PCR

Tabla 3. Correlación de la citología con la prueba de Genotificación.

Resultado Citológico	Genotipificación				
	(+)"Pool" AR	(-)"Pool" AR	(+)VPH-16	(+)VPH 18	(+)"Pool" AR (+)VPH-16
ASC-US	13	2	0	0	0
LEIBG	51	0	6	2	0
LEIAG	1	0	0	3	4
AGC	1	0	0	0	1

Gráfica 3. Correlación entre alteración citológica y genotipificación de VPH

DISCUSIÓN

El cáncer de cuello uterino seguirá siendo una de las principales causas de muerte en mujeres a nivel mundial, principalmente en países en vías de desarrollo. El agente etiológico asociado al cáncer cervical es el Virus de Papiloma Humano (VPH), esencialmente los tipos oncogénicos. Generalmente, se trata de una neoplasia altamente curable si se detecta a tiempo. Hasta el momento

se han aislado más de 118 tipos diferentes de VPH que incluyen aquellos de alto riesgo oncogénico los cuales son el 16,18,35,39,45,51,52,56,58,59,68,73 y el 82. Para la detección temprana del cáncer cervical, se ha utilizado tradicionalmente la citología de la zona de transformación del cervix. Aunque la citología cervical ha contribuido enormemente a la

reducción de la morbilidad del cáncer cervical, su sensibilidad para detectar lesiones precursoras de cáncer es muy baja, aproximadamente del 55,4%. En comparación, la prueba de detección del ADN de los genotipos VPH-AR en muestras cervicales tiene una sensibilidad de hasta el 96,6%. Por esta razón, como en este estudio es importante implementar nuevas estrategias que lleven al conocimiento de factores virales moleculares con valor predictivo, con capacidad para indicar que personas muestran alto riesgo de desarrollar este tipo de neoplasias, con el propósito de implementar nuevas guías sectoriales de prevención y tratamientos oportunos. Es importante la identificación de las pacientes cada vez más jóvenes con lesiones cervicales NIC 3+ como objetivo principal de las campañas de detección para la prevención del cáncer cervical. Cuando se utilizan ambas pruebas, la citología y la detección de PCR para VPH-AR, hay un importante número de mujeres con resultados citológicos negativos y detección de ADN de VPH-AR positivo. El verdadero valor de la prueba de detección del ADN de los VPH-AR es su altísimo valor predictivo negativo cercano al 100% que permite espaciar los cribados con la seguridad de no desarrollar NIC 3+, por lo menos de 3 a 5 años.

En mujeres jóvenes infectadas con los genotipos 16 y 18 tiene un riesgo muy importante de presentar NIC 3+ entre 20% y el 17% respectivamente frente al 1-2% si están infectadas con otros VPH-AR. Cada día se considera que la infección por VPH es una causa necesaria, pero no suficiente, para el desarrollo de esta neoplasia. Alrededor del 99% de mujeres con cáncer cervical presentan esta infección. Está confirmada la sospecha de que los cánceres cervicales invasivos ocasionados por los genotipos 16 y 18 se presentan en mujeres más jóvenes que los

producidos por otros genotipos. Por esto es imprescindible utilizar los instrumentos adecuados como es la brocha de polietileno desechable, para garantizar una buena toma cervical y una prueba de detección de ADN de AR-VPH, esto con el propósito de un expedito envío a un servicio de colposcopia para su evaluación.

CONCLUSIONES

La prevalencia de VPH oncogénicos en mujeres jóvenes de 25 a 34 años de edad con resultados anormales de citología fue de 95.2%. A diferencia de lo reportado en la literatura donde se menciona que el VPH genotipo 16 junto con el genotipo 18 son responsables del 70% de las neoplasias intracervicales y los cánceres, este estudio muestra que la infección por varios tipos de VPH ("pool" de 12 genotipos) se encontró en 78.57% de los casos, mientras que los genotipos 16 y 18 sólo se encontraron en el 16.66% de las citologías anormales.

Pese a ser considerada una alteración de gravedad menor con regresión espontánea hasta en 80% de los casos, las lesiones cervicales por VPH en mujeres adolescentes y jóvenes tiene una significancia clínica relevante. No puede olvidarse que son mujeres con riesgo relativo aumentado a desarrollar lesiones intraepiteliales de alto grado, en comparación con la población normal. La prueba de detección del ADN de los genotipos AR-VPH tomadas de muestras cervicales adecuadas con los instrumentos adecuados (brocha de polietileno), tiene una sensibilidad de hasta el 96,6% para detectar lesiones precancerosas aunque es menos específica que la citología. Actualmente se ha confirmado que los cánceres cervicales invasivos ocasionados por los genotipos 16 y 18 se presentan en mujeres más jóvenes que los producidos por otros genotipos.

Bibliografía

1. Stanley M. Pathology and epidemiology of HPV infection in females. *Gynecol Oncol* 2010; 117:S5-10.
2. Sam-Soto S, Ortiz de la Peña-Carranza A, Lira – Plascencia J. Virus del papiloma humano y
3. adolescencia. *Ginecol Obstet Mex* 2011;79(4):214-224.
4. Apgar BS, Brotzman GL, Spitzer M. *Colposcopia Principios y Práctica*, El Sevier Saunders, 2ª edición, 2009, 21-29.

5. Human Papillomavirus: HPV information for clinicians. Centers for Disease Control and Prevention, 2007, 1-36.
6. Boch FX, Lorincz A, Muñoz N, et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002; 55:244-265.
7. Ho GYF, Bierman R, Beardsley L, et al. Natural history of cervico-vaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 1998;338:423-428.
8. Ronco G, Giordi-Rossi P, Carozzi F, et al. Human papillomavirus testing and liquid-based cytology in primary screening of women younger than 35 years: Results at recruitment for a randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2006;7: 547-555.
9. Lazcano-Ponce E. Epidemiology of HPV infection among mexican women with normal cervical cytology. *Int. J Cancer*: 2001;91: 412-420.
10. Twiggs LB, Hopkins M. High-Risk HPV DNA testing and HPV-16/18 Genotyping: what is the clinical application? *J Low Genit Tract Dis* 2011;15:224-230
11. Mateos ML, Chacón de Antonio J, Rodríguez-Domínguez M, et al. Evaluación de un sistema de PCR a tiempo real (cobas 4800) para la detección separada de los genotipos 16 y 18 y otros genotipos de alto riesgo del virus del papiloma humano en la prevención del cáncer cervical. *Enfer Infecc Microbiol Clin*. 2011;29(6):411-414.
12. Maynard MH, duarte Franco E: Rodríguez J, Stephen DW, Hanley J, Ferenczy A, et al. For the Canadian Cervical Cancer Screening Trial Study Group. Human Papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer. *N Engl J Med*. 2007; 357:1579-88.



H.R. "Lic. Adolfo López Mateos" del ISSSTE. de la Ciudad de México