

Validez de tres métodos utilizados para la detección incipiente del cáncer cervicouterino

Esperanza Rosalba Rodríguez-Reyes,¹
Ricardo M. Cerda-Flores,²
Juan M. Quiñones-Pérez,³
Elva I. Cortés-Gutiérrez²

¹Maestro en Ciencias,
Coordinador
de Educación e

Investigación en Salud

²Doctor en Ciencias,
División de Genética,
Centro de Investigación
Biomédica del Noreste,
Monterrey, Nuevo León

³Ginecólogo-oncólogo,
Clínica de Displasias

Autores 1 y 3,
Hospital General de
Zona 46, Gómez Palacio,
Durango

Instituto Mexicano
del Seguro Social

Comunicación con:
Esperanza Rosalba
Rodríguez-Reyes.
Tel: (871) 723 4158.
Fax: (871) 723 4645.
Correo electrónico:
esperanza.rodriguezr
@imss.gob.mx;
rrrjmqp@hotmail.com

RESUMEN

Objetivo: evaluar la validez (sensibilidad, especificidad y exactitud) de tres métodos de tamizaje utilizados en la detección incipiente del cáncer cervicouterino en México. **Material y métodos:** se incluyó una muestra seleccionada de 107 mujeres atendidas en el Programa de Detección Oportuna de Cáncer Cervicouterino en el Hospital General de Zona 46, Instituto Mexicano del Seguro Social en Gómez Palacio, Durango, durante 2003. La aplicación de ácido acético, el diagnóstico citológico (papanicolaou) y la toma de biopsia dirigida fueron realizadas en todas las pacientes al momento de la exploración ginecológica. La detección molecular del virus de papiloma humano se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa y la tipificación mediante el análisis de polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción (RFLP). El diagnóstico histopatológico fue considerado el estándar de oro. La evaluación de la validez se llevó a cabo mediante el método bayesiano para pruebas de diagnóstico. **Resultados:** los casos positivos para ácido acético, diagnóstico citológico y reacción en cadena de la polimerasa fueron 47, 22 y 19, respectivamente, mientras que los valores de exactitud fueron 0.70, 0.80 y 0.99. **Conclusión:** dada la alta sensibilidad, especificidad y exactitud de la técnica molecular de reacción en cadena de la polimerasa, esta prueba debe ser incorporada al Programa de Detección Oportuna de Cáncer Cervicouterino en México. Sin embargo, para validar esta conclusión se deben llevar a cabo estudios transversales en diversas regiones del país.

SUMMARY

Objective: to evaluate the validity (sensitivity, specificity, and accuracy) of three screening methods used in the early detection of the cervical carcinoma versus the histopathology diagnosis. **Methods:** a selected sample of 107 women attended in the Opportune Detection of Cervicouterine Cancer Program in the *Hospital de Zona 46, Instituto Mexicano del Seguro Social* in Durango, during the 2003 was included. The application of Papanicolaou, acetic acid test, and molecular detection of human papillomavirus, and histopathology diagnosis were performed in all the patients at the time of the gynecological exam. The detection and tipification of the human papillomavirus was performed by polymerase chain reaction (PCR) and analysis of polymorphisms of length of restriction fragments (RFLP). Histopathology diagnosis was considered the gold standard. The evaluation of the validity was carried out by the Bayesian method for diagnosis test. **Results:** the positive cases for acetic acid test, Papanicolaou, and PCR were 47, 22, and 19. The accuracy values were 0.70, 0.80 y 0.99, respectively. **Conclusion:** since the molecular method showed a greater validity in the early detection of the cervical carcinoma we considered of vital importance its implementation in suitable programs of Opportune Detection of Cervicouterine Cancer Program in Mexico. However, in order to validate this conclusion, cross-sectional studies in different region of country must be carried out.

Palabras clave

- ✓ carcinoma
- ✓ cérvix uterino
- ✓ frotis vaginal
- ✓ ácido acético
- ✓ reacción en cadena de la polimerasa

Key words

- ✓ cervix uteri
- ✓ carcinoma
- ✓ vaginal smears
- ✓ acetic acid
- ✓ polymerase chain reaction

Recibido: 20 de febrero de 2007

Aceptado: 18 de junio de 2007

Introducción

El cáncer cervicouterino es uno de los principales problemas de salud pública en México ya que es la enfermedad neoplásica más frecuente y responsable aproximadamente de 36 % de todos los cánceres que se presentan en el sexo femenino entre los 25 y 44 años.¹

Evidencias clínicas y de laboratorio son consistentes en que algunos tipos de papilomavirus son el principal factor etiológico de esta neoplasia.² La frecuencia de infección con este virus en mujeres entre los 15 y 25 años es de más de 50 % en los primeros tres a cuatro años de haber iniciado su vida sexual.

El periodo de incubación una vez que se instala el virus es muy variable, por lo general a los tres meses, pero puede durar años en etapa subclínica.³ En los casos de persistencia, aproximadamente 25 % desarrolla lesiones de bajo grado, aunque la mayoría de las lesiones transcurren sin ser aparentes y desaparecen sin dejar evidencias de la infección. Un porcentaje de 5 a 10 % de estos casos evoluciona a lesiones displásicas o neoplásicas.⁴

Es imperante reconocer que el cáncer cervicouterino requiere atención inmediata ya que se trata de una enfermedad cuyas complicaciones se pueden prevenir casi en su totalidad mediante programas de diagnóstico temprano con metodologías de tamizaje válidas.⁵ La validez es una propiedad de toda medición que consta de cinco elementos: sensibilidad, especificidad, valor predictivo de una prueba positiva (VP+), valor predictivo de una prueba negativa (VP-) y exactitud.⁶

Como sabemos, una prueba de tamizaje permite la identificación de un factor de riesgo asociado a una enfermedad o de la misma enfermedad, y es parte de las actividades primarias de prevención. Este tipo de pruebas debe presentar alta sensibilidad, especificidad, simplicidad, bajo costo, seguridad y aceptabilidad.⁷

Actualmente el método tradicional de tamizaje utilizado en la detección oportuna de cáncer cervicouterino en México es el estudio citológico de cérvix con tinción de papanicolaou; desde su introducción en el Programa de Detección Oportuna de Cáncer Cervicouterino, la mortalidad por esta causa se ha reducido 70 %, aunque se ha identificado 15 a 25 % de resultados

falsos negativos, de los cuales aproximadamente 80 % son por causa de una mala toma de muestra o una interpretación inadecuada. La *Agency for Health Care Policy and Research* reporta una sensibilidad del diagnóstico citológico de solo 50 %.⁸ Además, está asociado con una tasa variable de falsos negativos y falsos positivos, habiendo permanecido sin cambios por 50 años sin seguir el avance tecnológico en otras áreas.⁸

Debido a esto, existen métodos alternativos como la aplicación de ácido acético al cérvix y la detección molecular del virus de papiloma humano (captura de híbridos y reacción en cadena de la polimerasa); todas estas pruebas se ven confirmadas por el diagnóstico histopatológico (estándar de oro).⁹ A continuación se describen las características de estos métodos.

1. La técnica de ácido acético consiste en la aplicación de ácido acético a 5 % al epitelio cervical al momento de la exploración ginecológica. El ácido acético penetra en el epitelio con conexiones laxas como el epitelio con alteraciones celulares. Esta reacción se debe a cambios de ionización, provocando coagulación y precipitación de algunas proteínas (citoqueratina), lo que da una apariencia blanquecina.¹⁰ Estudios recientes sugieren que debido a su alta sensibilidad y bajo costo, esta técnica puede ser útil en la detección temprana del cáncer cervicouterino. El problema consiste en que tiene una baja especificidad, lo que incrementa el número de análisis de biopsias innecesarias.¹¹
2. La técnica molecular PCR-RFLP (reacción en cadena de la polimerasa-polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción) permite la identificación y tipificación del virus de papiloma humano con gran precisión y exactitud (una sola partícula viral puede ser detectada en 100 mil copias analizadas).¹² Debido a esto, se ha sugerido como un método molecular de gran utilidad en el diagnóstico y seguimiento de la presencia y persistencia del virus de papiloma humano de alto riesgo, y, en consecuencia, de lesiones cervicales que culminan con cáncer cervicouterino.¹³

A pesar de las diferentes acciones de las instituciones de salud en México destinadas a mejorar la detección oportuna del cáncer cervico-

uterino, todavía se observa una alta tasa de mortalidad (5.27/100 mil), lo que hace necesario el establecimiento de técnicas de tamizaje con mayor validez.

Dado lo anterior, es fundamental evaluar la validez del método convencional de diagnóstico citológico y los dos métodos mencionados, para que en nuestra región el Programa de Detección Oportuna de Cáncer Cervicouterino incluya técnicas altamente confiables y equiparables con la prueba estándar de oro. De ser así, se tendría un diagnóstico oportuno, un tratamiento y un seguimiento adecuado de estos pacientes.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la validez del diagnóstico citológico, ácido acético y PCR-RFLP, utilizados en la detección incipiente del cáncer cervicouterino en México *versus* el diagnóstico histopatológico (estándar de oro).

Material y métodos

Mediante muestreo por conveniencia a las mujeres que acudían a medicina preventiva, como parte del Programa de Detección Oportuna de Cáncer Cervicouterino de la Unidad de Medicina Familiar 10, Instituto Mexicano del Seguro Social en Gómez Palacio, Durango. Se invitó a las mujeres a participar en el proyecto, informándoles del objetivo del mismo y de los exámenes a realizar. Una vez que aceptaron y firmaron consentimiento informado, se les citó en la consulta de la Clínica de Displasias del Hospital General de Zona 46, del mismo estado, de enero a julio de 2003, para el desarrollo del protocolo del presente estudio.

La muestra incluyó 107 mujeres entre 19 y 45 años, con vida sexual activa, que aceptaron participar en el estudio, sin antecedentes de displasia o neoplasia cervical previa o al momento del estudio; no se incluyeron pacientes en menopausia, con tratamiento hormonal, embarazadas o con histerectomía. A todas las mujeres se les realizó:

1. Aplicación del ácido acético de acuerdo con el procedimiento descrito por Megevand y colaboradores.¹⁴ La apariencia acetoblanca fue considerada indicadora de positividad.¹⁵
2. Diagnóstico citológico, de acuerdo con el Sistema de Clasificación Bethesda.¹⁶ Fue realiza-

do en el centro de análisis de citologías de la unidad médica donde se llevó a cabo el estudio.

3. Biopsia cervical dirigida por hallazgos colposcópicos¹⁷ y diagnóstico histopatológico.¹⁸ Se efectuó en la unidad de referencia (Instituto Mexicano del Seguro Social, Unidad Médica de Alta Especialidad 71, Torreón, Coahuila) y revisada por diferente patólogo al que interpretó la citología.
4. Detección y tipificación molecular del virus de papiloma humano. El ADN del exudado cervicovaginal fue obtenido mediante extracción fenólica.¹⁹ La amplificación génica del papilomavirus se realizó con reacción en cadena de la polimerasa,¹⁹ utilizando los iniciadores MY09 y MY11. Además, se utilizó como control interno el gen de la betaglobina (PO4 y G20). Los productos amplificados fueron tipificados mediante el análisis de RFLP. Para ello, inicialmente se utilizaron las enzimas de restricción Hae-III, Pst-I y Rsa-I, y si era necesario se utilizaron Hae-III, Hinf-I, Xba-I, Acc-I, Pst-I y Kpn-I.¹⁹ La clasificación de los tipos de papilomavirus se realizó de acuerdo con el nivel de riesgo de desarrollar cáncer cervicouterino: papilomavirus 6, 11, 43, 53, y 66, de bajo riesgo; papilomavirus 16, 18 y 45, de alto riesgo.

El presente estudio fue aprobado por el Comité de Ética y Bioseguridad del Centro de Investigación Biomédica del Noreste, Instituto Mexicano del Seguro Social.

Análisis estadístico

La validez de cada prueba de tamizaje se realizó en forma computarizada mediante el método bayesiano (<http://www.hutchon.freeseve.co.uk/Diagnostic-test.htm>).

Resultados

El cuadro I muestra los valores de validez de los tres métodos de tamizaje para la detección del cáncer cervicouterino *versus* el diagnóstico histopatológico (referencia).

El número de casos positivos para ácido acético, diagnóstico citológico y reacción en ca-

**Esperanza Rosalba
Rodríguez-Reyes et al.
Métodos para detectar
cáncer cervicouterino**

Cuadro I
Valores de validez de cuatro métodos de tamizaje para la detección temprana del cáncer cervicouterino en un grupo de 107 mujeres

Método	Casos+	Casos–	Sensibilidad	Especificidad	VP+	VP–	Exactitud
Diagnostico histopatológico	18	89	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Prueba de ácido acético	47	60	1.00	0.65	0.32	1.00	0.70
Papanicolaou	22	85	0.53	0.85	0.36	0.92	0.80
Reacción en cadena de la polimerasa	19	88	1.00	0.99	0.95	1.00	0.99

VP = valor predictivo

dena de la polimerasa fueron 47, 22 y 19; los valores de exactitud fueron de 0.70, 0.80 y 0.99, respectivamente.

En el cuadro II se observa que el diagnóstico histológico reveló que de las 107 mujeres estudiadas, 89 no presentaron alteraciones cervicales (87 fueron negativas a papilomavirus y dos presentaron papilomavirus de bajo riesgo) y las 18 mujeres restantes tuvieron lesiones escamosas intraepiteliales (LEI): 12 con LEI de bajo grado, tres con LEI de alto grado, y tres con carcinoma invasor. De estas, 17 fueron positivas a papilomavirus y una resultó negativa.

Al realizar la tipificación por PCR-RFLP, de 19 mujeres positivas a papilomavirus 13 presentaron papilomavirus de bajo riesgo (tipos 6, 11, 40, 53 y 66) y seis de alto riesgo (16, 18, 31 y 45).

Cuadro II
Distribución de los tipos de virus de papiloma humano (VPH) (bajo y alto grado) de acuerdo con el diagnóstico histopatológico en 107 mujeres

Diagnóstico	VPH–	Infección por VPH		Total
		BR*	AR**	
Sin lesión	87	2	0	89
NIC 1	0	10	2	12
NIC 2/3	1	1	1	3
Invasor	0	0	3	3
Total	88	13	6	107

BR = mujeres con VPH de bajo riesgo (tipos 6, 11, 43, 53 y 66)

AR = mujeres con VPH de alto riesgo (tipos 16, 18 y 45)

NIC = neoplasia intraepitelial cervical

Discusión

Nuestros resultados demuestran que el método molecular de PCR-RFLP presenta mayor validez que los métodos morfológicos, lo cual coincide con reportes previos realizados en Noruega por Lie y colaboradores,²⁰ y Gjoen y colaboradores,²¹ quienes observaron que la reacción en cadena de la polimerasa es un método más confiable que el tamiz citológico.

La reacción en cadena de la polimerasa mostró una sensibilidad de 100 %, una especificidad de 99 % y un valor predictivo negativo de 100 % respecto al diagnóstico histopatológico. Estos resultados coinciden con los de tres estudios previos:

1. Schneider y colaboradores,²² quienes en 4761 mujeres de Thuringia informaron valores de 89.4, 93.9 y 99.6 %, respectivamente.
2. Blumental y colaboradores,²³ en 2199 mujeres de Harare, Zimbabwe, señalaron valores similares de 73, 75.5 y 96.3 %, respectivamente.
3. Lynette y colaboradores,²⁴ en 2944 mujeres de Khayelitsha, Sudáfrica, identificaron 73 % de todos los casos con lesiones intraepiteliales escamosas confirmadas por biopsia.

Cabe señalar que en este estudio no se encontraron individuos con resultados falsos negativos, similar a un estudio previo.²⁵

En conclusión, dada la alta sensibilidad, especificidad y exactitud de la técnica molecular de PCR-RFLP, esta prueba debe ser incorporada al Programa de Detección Oportuna de Cáncer

Cervicouterino en nuestro país. En naciones económicamente similares al nuestro, e incluso con economías menos favorecidas, como India y Sudáfrica,²⁶ se están llevando a cabo estudios para demostrar el impacto de la prueba del virus de papiloma humano sobre las tasas de cáncer cervicouterino, apoyando estos nuevos enfoques para el tamizaje y prevención del cáncer cervicouterino.²⁶ Sin embargo, para validar esta conclusión en nuestro medio se deben realizar estudios de costo-beneficio en diversas regiones del país.

Cabe señalar algunas ventajas que se tendrían al incorporar esta técnica al Programa de Detección Oportuna de Cáncer Cervicouterino:

1. Se disminuiría los momentos de tamiz en mujeres negativas a papilomavirus. En la Guía provisional de neoplasia cervical intraepitelial y de la ASCCP, sobre la detección del papilomavirus como prueba complementaria a la citología tradicional, se sugiere que cuando la citología y la prueba de papilomavirus sean negativas, el siguiente cribado podrá realizarse tres a cinco años después.²⁷
2. Se proporcionaría un mejor diagnóstico y pronóstico, es decir, se podría prevenir la progresión de la lesión en mujeres con papilomavirus de alto riesgo o evitar tratamientos innecesarios en pacientes con papilomavirus de bajo potencial de progresión.²⁸
3. Se disminuiría el número de biopsias dirigidas innecesarias.
4. Se disminuiría el gasto económico del seguimiento y tratamiento de pacientes con neoplasia intraepitelial cervical. Estudios de costo-beneficio demuestran que esta técnica molecular puede reducir a bajo costo hasta 90 % la mortalidad del cáncer cervicouterino.²⁹
5. Se disminuiría el impacto psicológico y social en estas pacientes.³⁰
6. Con la introducción de la vacuna contra el papilomavirus en nuestro país, la detección molecular del virus puede ser una herramienta de gran utilidad en la selección de mujeres candidatas para ser vacunadas, así como para validar la efectividad de la vacuna en cuanto a la persistencia del papilomavirus.²⁶

Referencias

1. Salmerón-Castro J, Franco-Marina F, Salazar-Martínez E, Lazcano-Ponce EC. Panorama epidemiológico de la mortalidad por cáncer en el Instituto Mexicano del Seguro Social: 1991-1995. *Salud Publica Mex* 1997;39(4):266-273.
2. Rivera R, Aguilera J, Larrain A. Epidemiología del virus de papiloma humano. *Rev Chil Obstet Ginecol* 2002;(67)60:501-506.
3. Moscicki B. VPH y la mujer adolescente. *HVP Today* 2004;5:8-10.
4. Kuhn L, Denny L, Pollack A, Lorincz A, Richart RM, Wright TC. Human papillomavirus DNA testing for cervical cancer screening in low resource settings. *J Natl Cancer Inst* 2000;92(10):818-825.
5. Bosch FX, Manos MM, Muñoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, et al. The International Biological Study on Cervical Cancer Study Group: Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. *J Natl Cancer Inst* 1995;87 (11):796-802.
6. Elwood M. Critical appraisals of epidemiological studies and clinical trials. UK: Oxford University Press; 1998. p. 107-113.
7. Fletcher RH, Fletcher SW, Wagner EH. Prevention. En: Fletcher RH, Flecher SW, Wagner EH, editors. *Clinical epidemiology*. Second edition. Baltimore: Williams & Wilkins; 1996. p. 165-185.
8. Bednov YM, Brosky KR, Sidawy MK. Comparison of the efficacy of the Thinprep method with the conventional cervical smear. *Lab Invest* 1998;78 (1):36-38.
9. Denny L, Kuhn L, Pollack A, Wainwright H, Wright TC Jr. Evaluation of alternative methods of cervical cancer screening for resource-poor settings. *Cancer* 2000;89(4):826-33.
10. Maddox P, Szarewski A, Cuzick J. Cytokeratin expression and acetowhite change in cervical epithelium. *J Clin Pathol* 1994;47(1):15-17.
11. Rodríguez-Reyes ER, Cerda-Flores RM, Quiñones-Pérez JM, Velazco-Rodríguez V, Cortés-Gutiérrez EI. Acetic acid test: a promising screening test for early detection of cervical cancer. *Anal Quant Cytol Histol* 2002;24(3):134-136.
12. García-Carranca A, Gariglio P. Aspectos moleculares de los papilomavirus humanos y su relación con el cáncer cérvico-uterino. *Rev Invest Clin* 1993;45(1):85-92.

**Esperanza Rosalba
Rodríguez-Reyes et al.
Métodos para detectar
cáncer cervicouterino**

13. Leal-Garza CH, Cortés-Gutiérrez EI. Detección molecular del virus del papiloma humano en mujeres con cáncer cervicouterino. *Gac Med Mex* 1996;132(3):295-318.
14. Megevand E, Denny L, Dehaeck K, Soeters R, Bloch B. Acetic acid visualization of the cervix: An alternative to cytologic screening. *Obstet Gynecol* 1996;88(3):383-386.
15. Walter P, Dexeus S, de Palo G, Barrasso R, Campion M, Girardi F, et al. International terminology of colposcopy: an updated report from the International Federation for cervical pathology and colposcopy. *Obstet Gynecol* 2003;101(1):175-177.
16. Lundberg GO. The 1988 Bethesda system for reporting cervical/vaginal cytological diagnoses. *JAMA* 1989;262(7):931.
17. Reid R. Preinvasive disease. En: Berek J, Hacker NF, editors. *Practical gynecologic oncology*. Baltimore: Williams and Wilkins; 1989. p. 199.
18. Creasman W. New gynecologic cancer staining. *Obstet Gynecol* 1990;75(2):287-288.
19. Bauer H, Greer C, Manos M. Detection of human papillomavirus infection using PCR. En: Herrington CS, McGee JO'D, editors. *Diagnostic molecular pathology: a practical approach*. Oxford, UK: Oxford Univ Press; 1992. p. 131-152.
20. Lie AK, Skjeldestad FE, Hagen B, Johannessen E, Skarsvag S, Haugen A. Comparison of light microscopy, in situ hybridization and polymerase chain reaction for detection of human papillomavirus in histological tissue of cervical intraepithelial neoplasia. *APMIS* 1997;105(2):115-120.
21. Gjoen K, Sauer T, Olsen AO, Orstavik I. Correlation between polymerase chain reaction and cervical cytology for detection of human papillomavirus infection in women with and without dysplasia. *APMIS* 1997;105(1):171-175.
22. Schneider A, Hoyer H, Lotz B, Leistritz S, Kühne-Heid R, Nindl I, Müller B, Haerting J, Dürst M. Screening for high-grade cervical intra-epithelial neoplasia and cancer by testing for high-risk HPV, routine cytology or colposcopy. *Int J Cancer* 2000; 89(6):529-534.
23. Blumenthal PD, Gaffikin L, Chirenje ZM, McGrath J, Womack S, Shah K. Adjunctive testing for cervical cancer in low resource settings with visual inspection, HPV, and Pap smear. *Int J Gynecol Obstet* 2001;72(1):47-53.
24. Lynette D, Kuhn L, Pollack A, Wainwright H, Wright TC. Evaluation of alternative methods of cervical cancer screening for resource-poor settings. *Cancer* 2000;89(4):826-833.
25. Zazove P, Reed BD, Gregoire L, Ferenczy A, Gorenflo DW, Lancaster WD. Low false negative rate of PCR analysis for detecting human papillomavirus related cervical lesions. *J Clin Microbiol* 1998;36(9):2708-2713.
26. Anonymous. Development of screening programs in the last 20 years. Interview with Prof Nick Day. *HVP Today* 2005;6(April):1,3.
27. Anonymous. Interim guidance on the use of HPV testing combined with cytology in primary cervical screening. Interview with Cox Thomas. *HVP Today* 2005;6(April):4-5.
28. Cortés-Gutiérrez EI, Cerda-Flores RM, Leal-Klevezas DS, Hernández-Garza F, Leal-Garza CH. Validating polymerase chain reaction for detecting HPV in cervical intraepithelial neoplasia. *Ann Quant Cytol Histol* 2003;25(2):115-118.
29. Mandelblatt JS, Lawrence WF, Gaffikin L, Limpahayom KK, Lumbiganon P, Warakamin S, et al. Cost and benefits of different strategies to screen for cervical cancer in less-developed countries. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:1469-1483.
30. Prevención del cáncer cervicouterino. Alliance for cervical cancer prevention. Disponible en http://www.path.org/files/RH_accp_conclusions_fs_sp.pdf 