

DETECCION DEL ADN DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO MEDIANTE PCR EN PACIENTES CON CITOLOGIA DE ASC-US. INSTITUTO DEL CANCER SOLCA-CUENCA DURANTE LOS AÑOS 2005-2006

Picón Gabriela ¹, Neira Hernán ², Sanchez Isabel ³, Campoverde Alfredo⁴ Cordero Leonico⁵, Ugalde Jorge⁶.

Publicación: Revista Oncología. Vol. 16. Diciembre 2006.
www.pub.ecua.net.ec/solca

RESUMEN

El cáncer cérvico-uterino es el segundo en frecuencia en la población femenina mundial. El objetivo del presente estudio fue, determinar la presencia de HPV en pacientes diagnosticadas por PAP de ASC-US; relacionándolo con el grado, tipo viral y edad. Se incluyeron 70 pacientes; mediante técnica de PCR, se determinó la presencia del virus. Los resultados mostraron un 55,71% (39casos) de casos positivos para DNA viral. El rango de edad estuvo comprendido entre los 39-48 años. De los 39 casos, 22 fueron positivos para DNA viral de alto grado (31.43%); para grado intermedio 13 casos (18.57%); y bajo grado 4 (5.71%). En los de alto grado (31,43%) el tipo 16 fue el de mayor frecuencia. La alta incidencia de HPV de alto riesgo oncogénico sugiere que debe considerarse la determinación del DNA viral como un método complementario en las pacientes con diagnóstico citológico de ASC-US.

SUMMARY

The objective of the present study was to determine the presence of HPV in patients with diagnostic of ASC-US by PAP related with the grade, viral type and age. We included 70 patients, by PCR technique we identificate virus precense. The resoults showed positivity for viral DNA in 55,71% (39cases). Range age was 39-48 years. The 39 cases, 22 were consider of high grade viral DNA (31,43%); 13 cases for moderate grade (18,57%) and 4 cases for low grade (5,71%). For the high grade virus (31,43), 16 type was the most frequent.

The high incidence of HPV of high oncogenic risk suggests that it should be considered like a complementary method to evaluate to the cervical biopsies with diagnosis of ASC-US.

¹ Médico Residente II Patología.

² Ginecólogo. Solca-Cuenca.

³ Doctora en Bioquímica. Biología Molecular. Solca-Cuenca.

⁴ Licenciado en laboratorio clínico. Biología Molecular.

⁵ Patólogo. Solca Cuenca

⁶ Patólogo. Jefe servicio de Patología.

INTRODUCCIÓN

El cáncer cérvico-uterino es el segundo en frecuencia en la población femenina mundial.

El 80% de éstos se presentan en países en vías de desarrollo, con una tasa de incidencia de 44,2 x 100000 habitantes; en nuestro cantón (Cuenca) la tasa estandarizada es del 22,1 x 100000 hasta el 2002. (11)

La infección uterina por HPV es una enfermedad de transmisión sexual; en la mayoría de las mujeres con HPV, la infección se produce antes de los 25 años, suele durar 8-10 meses, y en condiciones de inmunidad habituales es eliminada en la mayoría de los casos; solo en el 10% la infección permanece hasta los 35 años. (1-2), el cuello uterino es el órgano diana para este tipo de infecciones potencialmente graves, que puede llevar al desarrollo de un carcinoma invasivo y que, por sí solo, es responsable de aproximadamente el 5% de muertes por cáncer en la mujer. (3) Es una infección frecuente en la especie humana existe una gran variedad de lesiones desde la común y benigna verruga vulgaris hasta el cáncer cervical (4) La tasa de mortalidad por cáncer cérvico uterino ha ido disminuyendo debido a la aplicación de programas de prevención citológica. El Sistema Bethesda (TBS), clasifica las anomalías celulares epiteliales en 4 grupos: (Bethesda 2001)

- 1.- Células escamosas atípicas:
 - De significado indeterminado (ASC-US).
 - No puede excluirse H-SIL (ASCH).
- 2.- Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (L-SIL) comprendiendo:
 - Displasia leve/NIC I
 - HPV.
- 3.- Lesión intraepitelial escamosa de alto grado (H-SIL) comprendiendo:
 - Displasia moderada, severa y CIS/CIN 2 y 3.
 - Con características sugestivas de invasión.
- 4.- Carcinoma epidermoide. (5-12).

El diagnóstico de ASC-US comprende aquellos casos que tienen características definidas, en las células epiteliales, no debe rebasar del 3%, depende de los criterios diagnósticos utilizados y de la experiencia del observador. Este diagnóstico abarca aquellos cambios citológicos que, aunque son claramente anormales, no son lo suficiente severos como para hacer el diagnóstico de una lesión intraepitelial escamosa y son más severos que los vistos en la categoría de cambios celulares benignos. (6) El Sistema Bethesda indica que, para informar la citología cervical se deberá ver cambios en células maduras como diferenciación escamosa, aumento de la relación núcleo-citoplasma e hiper cromasia nuclear con cromatina granular fina, uniformemente distribuida y contornos nucleares finos. (7). Además, la Sociedad Americana de Colposcopia y Patología proponen que, la consecuencia de este informe citológico debe ser la búsqueda del HPV oncogénico.

Si resulta negativa, no es necesario remitir a la paciente a colposcopia ni a biopsia ya que el valor predictivo negativo del HPV es de casi un 100%. (7)

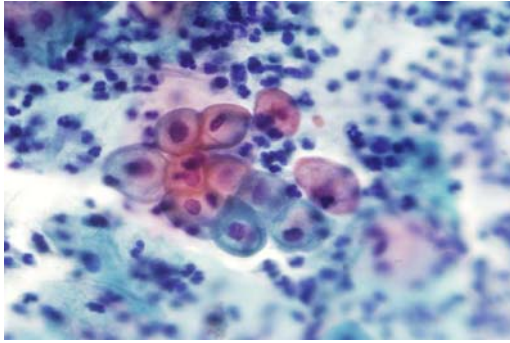


Figura1. CITOLOGIA ASC-US. PAP.

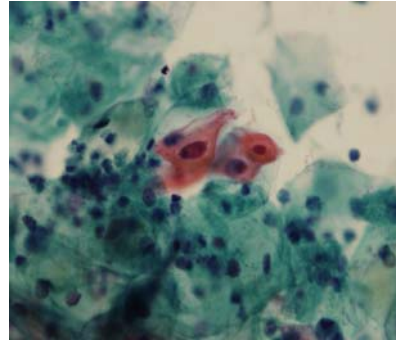


Figura 2. PAP. ASC-US.

El HPV es un virus epiteliotropo del grupo papovaviridae. Su estudio se ha realizado actualmente mediante procedimientos de laboratorio basados en la biología molecular y fundamentalmente mediante la hibridación, Southern blot y la reacción de la cadena de la polimerasa (PCR). (1) (Fig. 3) Hasta el momento se han aislado cerca de 100 tipos diferentes de HPV que incluyen aquellos de bajo y alto riesgo oncogénico, mencionándose también un riesgo intermedio. Al grupo de bajo riesgo pertenecen el 6,11,40,42,43,44,54,61,70,72,81, los de alto riesgo son el 16,18,35, 39,45,51,52,56,58,59,68,73,82 y los de riesgo intermedio el 31, 33. Los denominados de bajo riesgo se relacionan con lesiones benignas y condilomas, en cambio los de alto riesgo están relacionados y se los encuentra en lesiones intraepiteliales y cáncer de cuello siendo el tipo 16 el de mayor frecuencia. (8-9)

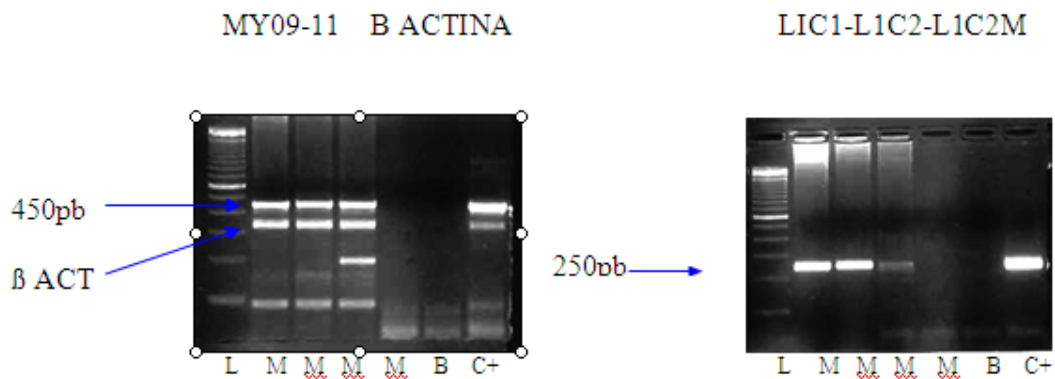


FIG. 3. Gel de agarosa 2%. Regiones MY-L1C1. Positivo 41 43, derecha C+ para MY (450pb). Positivo 41 43, derecha C+ para L1C1 (261pb).

En la actualidad las técnicas de biología molecular permiten el diagnóstico certero de infección por virus del papiloma humano basándose en el análisis de secuencias de ADN viral que puede ser realizado mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con una sensibilidad y especificidad muy altas; permitiéndonos diagnosticar VPH mucho tiempo antes que la lesión celular se haga evidente y que sea observada por el estudio citológico.

El presente estudio es de tipo descriptivo transversal con una muestra de 70 pacientes del Instituto del Cáncer SOLCA-Cuenca con diagnóstico citológico de ASCUS en los años 2005-2006, se analizó la presencia de HPV mediante PCR demostrándose que el 55,71% fueron positivas para este virus. El análisis se hizo en base pruebas estadísticas de frecuencia absoluta y relativa.

OBJETIVO

Determinar la presencia de HPV y sus tipos mediante biología molecular (PCR) en pacientes diagnosticadas de ASC-US por citología en el Hospital de SOLCA-Cuenca durante los años 2005-2006.

MATERIALES Y METODOS

Se revisaron 70 registros de pacientes con diagnóstico de ASC- US en el sistema de cómputo e historias clínicas en el departamento de estadística, citología y biología molecular del Instituto del Cáncer SOLCA-Cuenca a las que se realizó PCR. La información se ingresó en una base de datos en Microsoft EXCEL para su tabulación presentación y análisis. Las variables fueron: edad, positividad a HPV y tipo.

RESULTADOS

La muestra es de 70 mujeres con una edad comprendida entre los 19 y 78 años con una media de 44 años; procedentes de zona urbana como rural que acuden al instituto para control de cáncer.

El análisis de los resultados es el siguiente:

Tabla # 1

PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE ASCUS DE ACUERDO A EDAD Y HPV. INSTITUTO DEL CANCER SOLCA-CUENCA. 2005-2006

EDAD	HPV				TOTAL GENERAL	PORCENTAJE
	NEGATIVO	PORCENTAJE	POSITIVO	PORCENTAJE		
19-28	2	2,86	2	2,86	4	5,71
29-38	5	7,14	7	10,00	12	17,14
39-48	11	15,71	14	20,00	25	35,71
49-58	10	14,29	8	11,43	18	25,71
59-68	3	4,29	6	8,57	9	12,86
69-78		0,00	2	2,86	2	2,86
Total general	31	44,29	39	55,71	70	100,00

Fuente: Base de datos.

Elaborado por: Dra. Gabriela Picón.

De 70 pacientes estudiadas se ha encontrado que 39 (55,71%) presentan HPV positivo, la edad más frecuente de presentación está entre los 39-48 años con un porcentaje del 20% de todos los casos y el 35,89 % de los casos positivos.

Tabla # 2

PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE ASCUS Y HPV DE ACUERDO AL GRADO EN PACIENTES DEL INSTITUTO DEL CANCER SOLCA-CUENCA DURANTE LOS AÑOS 2005-2006

HPV		
GRADO	Total	PORCENTAJE
ALTO GRADO	22	31,43
BAJO GRADO	4	5,71
GRADO INTERMEDIO	13	18,57
NEGATIVO	31	44,29
Total general	70	100,00

Fuente: Base de datos

Elaborado por: Dra. Gabriela Picón.

De 70 pacientes, se observó, 39 casos positivos, (55.71%), 22 fueron positivos para DNA viral de alto grado (31.43%); para grado intermedio 13 casos (18.57%); y bajo grado 4 (5.71%); fueron negativos 31 casos (44,29%).

Tabla # 3

PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE ASCUS CON HPV POSITIVO DE ACUERDO A EDAD Y GRADO EN PACIENTES DEL INSTITUTO DEL CANCER SOLCA-CUENCA DURANTE LOS AÑOS 2005-2006

EDAD	HPV							
	ALTO GRADO	PORCENTAJE	BAJO GRADO	PORCENTAJE	G. INTERMEDIO	PORCENTAJE	Total general	PORCENTAJE
19-28	2	2.86		0.00		0.00	4	5.71
29-38	5	7.14		0.00	2	2.86	12	17.14
39-48	8	11.43	1	1.43	5	7.14	25	35.71
49-58	3	4.29	2	2.86	3	4.29	18	25.71
59-68	3	4.29	1	1.43	2	2.86	9	12.86
69-78	1	1.43		0.00	1	1.43	2	2.86
Total	22	31.43	4	5.71	13	18.57	70	100.00

Fuente: Base de datos

Elaborado por: Dra. Gabriela Picón.

De 39 pacientes con diagnóstico de ASC-US y HPV positivo se determinó que 22 de tienen HPV de alto grado (31.43%) y que de éstas la edad más frecuente de presentación está entre los 39 y 48 años, seguido por los de 29 a 38 años, el valor restante corresponde a mujeres que tuvieron resultado negativo para HPV.

Tabla # 4

PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE ASCUS Y HPV DE ACUERDO AL TIPO DE HPV EN PACIENTES DEL INSTITUTO DEL CANCER SOLCA-CUENCA DURANTE LOS AÑOS 2005-2006

TIPO	HPV	
	Total	PORCENTAJE
16	5	19,23
18	1	3,85
35	2	7,69
39	2	7,69
42	1	3,85
43	3	11,54
45	1	3,85
52	4	15,38
56	3	11,54
58	1	3,85
68	3	11,54
Total general	26	100,00

Fuente: Base de datos

Elaborado por: Dra. Gabriela Picón.

La tabla # 4 muestra los subtipos de HPV observados mediante PCR, las 26 pacientes fueron positivas para alto y bajo grado se puede ver que el tipo 16 es el más frecuente con un valor de 5 (19,23%); los restantes corresponden a otros tipos no determinados dentro de nuestro protocolo.

DISCUSIÓN

El carcinoma de cuello uterino representa la segunda patología en nuestro medio después del cáncer de piel en la mujer, nuestra tasa es del 22,1 por 100000; en Chile la tasa de incidencia es del 42 por 100000 (11). La citología cervical es una técnica confiable para el diagnóstico de lesiones preinvasivas, objetivo fundamental en oncología, Bethesda en el 2001 normaliza ASC-US como grupo citológico definido; Almeida y colaboradores valoran 346 citologías con ASC-US mediante estudio citológico comparativo, encontrándose un índice de concordancia de un 80%. La aplicación de la biología molecular en la observación de genoma de HPV, ha demostrado una prevalencia global de la infección por este virus en aproximadamente el 40% de los casos (Lacruz C), nosotros observamos en el 55,71%, creemos que la prevalencia aumentada está en relación a nuestra tasa de

incidencia relacionada con el cáncer cervical.

La edad de presentación de las lesiones citológicas suelen ser más tardías que la presencia del genoma viral a nivel genital, García y col, observan lesiones citológicas de ASC-US entre los 18 y 48 años, nuestro grupo mayor está entre los 39 y 48 años correspondiendo al 20%. Otro factor a considerarse puede ser la presentación de factores de riesgo más tardía. El tipo viral observado con mayor frecuencia, de acuerdo al grado de agresividad es el de alto grado con un 31.43%, dato que concuerda con lo encontrado en el estudio realizado por Lacruz, y col. en donde el HPV de alto grado es el que predomina (9). La mayoría de pacientes de nuestro estudio presentó un HPV tipo 16 (19,23%), que concuerda con lo observado en otros estudios (García J, 9-10).

García y col. en su investigación muestran una frecuencia del 19,95%

para HPV de alto riesgo y del 5;29 para bajo riesgo, los hallazgos variables pueden deberse a múltiples factores que deben ser analizados mediante variables de importancia ambiental.

En conclusión parece que la detección de HPV y su tipificación debe añadirse a los estudios de lesiones cervicales preinvasivas, con

el fin de reducir el número de mujeres referidas a tratamiento con múltiples controles por citologías anormales (ASC-US) así como para predecir con mayor precisión el riesgo potencial de la lesión (García J).

Bibliografía

1. Gámez e; Gámez m, Conde S, Maganto E, Navío S, Allona A, Infección por papiloma virus en el Hombre. Estado actual. Servicio de Urología, Servicio de microbiología, Hospital Ramón y Cajal . Madrid-España. 2005 365-362.
2. Binkin,N.J., Kaplan,J.P., Cabes,W. PRC Venting Neonatal Herpes. The Value of Weekly Viral Cultures in Pregnant Women with Recurrent Genital Herpes. *Jama* 1994; 251:2816.
3. Vinay Kumar , Abul Abbas, Nelson Fausto, Patología estructural y funcional, Séptima edición . Madrid-España, 2006.
4. Gutierrez E, Witvrun J, Sanchez G, Gaspar J, Garza F, Cerda F, Detección moledcular del Virus del Papiloma Humano en mujeres con condilomas cervicales tratadas con ácido acético. *Revista de Gineco obstetricia*, Vol 73, num 3, Mexico, marzo 2005.
5. Solomon D, Nayar R, Definiciones, criterios y notas aclaratorias. El sistema Bethesda para informar la citología cervical. Ediciones Journal, New York.2005.
6. Barbara S, Zoschnick L, The 2001 Bethesda System Terminology. *Am. Fam. Physician*. 2003.
7. García J, Vilaplanna E, López D, Meisels A, Vilaplana E, ASCUS en citología cervicovaginal de rastreo y captura Híbrida II, *Revista Española de Patología* 2003; Vol 36, nº 1:59-64.
8. Almirón S, Navarro S, Rojas M, Szczerba S, Martín M, Correlación Citohistológica de la expresión de la infección por virus del papiloma humano en lesiones premalignas y malignas del cuello uterino, *Revista de Patología* num 134 México. 2003.
9. Lacruz C, Martino B, Alvares E, incidencia de los diferentes tipos de papiloma virus humano (HPV) en las lesiones escamosas del cérvix uterino, *Revista Española de Patología*, 2003, Vol 36, nº1, 2003.
10. Sotlar D, Diemer A, Dethleffs Y, Hack A, Detection and Typing of Human Papilomavirus by E6 Nested Multiplex PCR, *Jornal of Clinical Microbiology*, July 2004, Vol 42, nº 7, 3176-3184.

11. Fabián Corral C, Patricia Cueva A. José Yépez; Epidemiología del Cáncer en Quito y en otras regiones del Ecuador, Registro nacional de tumores, Quito-Ecuador. 2004.
12. Lacruz C, Fariña J, Citología Ginecológica, de Papanicolaou a Bethesda, Editorial Complutense, España 2003.