

Infección por el virus papiloma humano (HPV) y cáncer cérvico uterino (CCU)

 16 min.



El cáncer cérvico-uterino (CCU), que está fuertemente asociado a la infección por virus del papiloma humano (VPH), sigue siendo un problema de salud en nuestro país y el resto de Latinoamérica. En el siguiente trabajo profesionales del Laboratorio de Infectología Molecular de Laboratorios MANLAB nos revelan la gran variedad de pruebas disponibles para la detección del VPH, su clasificación y las recomendaciones realizadas por diferentes sociedades internacionales para el screening primario de la infección.



García, María G.*,
Marina Medina **,
Pirola Daniel A. **

*Bióloga. Jefa de laboratorio. Infectología Molecular y Filiaciones - MANLAB.

**Bioquímica. Laboratorio de Infectología Molecular - MANLAB.

** Bioquímico. Asesor de Infectología - MANLAB.



E-mail: gabriela.garcia@manlab.com.ar



Situación actual

A pesar de los valiosos avances alcanzados en estos últimos años, especialmente con la incorporación de la vacunación, la infección por HPV sigue siendo en la actualidad la enfermedad de transmisión sexual más frecuente en el mundo y representa una gran preocupación en materia de salud pública en nuestro país y el resto de Latinoamérica.

Si bien en la mayoría de los casos la infección se resuelve espontáneamente existen aproximadamente un 5% de mujeres entre los 35-40 años donde la infección con un genotipo de HPV de alto riesgo oncogénico (tabla 1) persiste. Este grupo constituye el de mayor riesgo para el desarrollo de lesiones escamosas intraepiteliales de alto grado (HSIL) y cáncer cervical(1).



Tabla 1: Genotipos de alto y bajo riesgo oncogénico.

Alto riesgo oncogénico: 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 69, 70, 73, 82/MM4, 82/IS39, 69.

Bajo riesgo oncogénico: 6, 11, 34, 40, 42, 43, 44, 54, 55, 57, 61, 62, 64, 71, 72, 74, 81, 83, 84, CP6108.

La infección viral por HPV es condición necesaria para el desarrollo del CCU, pero no es la única responsable, por eso se considera a esta enfermedad como una patología de origen multifactorial ya que existen otros factores, entre los cuales

podemos mencionar co-infecciones con otros patógenos como HIV, Herpes simplex, factores genéticos, inmunológicos y otros propios del huésped, que determinan la evolución o la regresión espontánea de una lesión producida por HPV(2).

En la actualidad mueren aproximadamente 266.000 mujeres por año a nivel mundial como consecuencia de esta enfermedad, representando el CCU el cuarto cáncer más frecuente en la población femenina, con una tasa de incidencia de 528.000 casos por año, de los cuales más del 85% corresponde a países en desarrollo, que incluye a la Argentina(3) con aproximadamente 4.900 nuevos casos por año, de los cuales alrededor de 2.100 mujeres mueren a causa de esta enfermedad(4).

Diagnóstico molecular

Debido a que a diferencia de otros virus el HPV no puede propagarse en medios de cultivo, las pruebas para el diagnóstico de la infección se basan en la detección de ácidos nucleicos virales por métodos moleculares.

La detección de ADN por técnicas moleculares poseen una sensibilidad mucho mayor que la citología en la detección de neoplasias intraepiteliales de alto grado (CIN-2 y CIN-3), carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma de cuello uterino, y fundamentalmente en resultados de citología indeterminada como ASC-US (células escamosas atípicas de significado incierto) y ASC-H (células escamosas atípicas donde no se puede excluir lesión escamosa

intraepitelial de alto grado)(5,6,7).

En los últimos años se han incorporado una gran variedad de técnicas en la práctica clínica para la detección de HPV, y se estima que actualmente hay disponibles en el mercado más de cien pruebas comerciales(8). Estas pruebas pueden ser clasificadas en aquellas que: a) detectan ADN viral de los genotipos más frecuentes de HPV de alto y/o bajo riesgo, sin genotipificación individual, b) detectan ADN de algunos genotipos de HPV de alto riesgo con la concomitante genotipificación parcial de algunos de los principales tipos de alto riesgo y, c) detectan ARNm de las oncoproteínas E6 y E7 de algunos genotipos de HPV de alto riesgo.

Recientemente representantes de organizaciones científicas incluyendo the Society of Gynecologic Oncology, the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, the American College of Obstetricians and Gynecologists, the American Cancer Society, the American Society of Cytopathology, the College of American Pathologists, and the American Society for Clinical Pathology, publicaron recomendaciones preliminares para el screening primario de la infección por genotipos de alto riesgo del virus HPV como forma de prevención del cáncer cervical.

Dos ensayos están siendo usados

localmente para tal fin, Digene HC2 High-Risk HPV DNA Test(Qiagen)detecta a los genotipos de alto y bajo riesgo más frecuentes y Cobas 4800 HPV Taqman (Roche Molecular Diagnostics) que detecta solo a los genotipos de alto riesgo más frecuentes (tabla 2).



Tabla 2: Genotipos más frecuentes.

Metodología	Riesgo/Genotipos	Genotipo
Digene HC2 High-Risk HPV DNA Test	Alto riesgo	16,18,31,33,35,39,45,51,52,58
Digene HC2 Low-Risk HPV DNA Test	Bajo riesgo	6,11,42,43,44
Cobas 4800 HPV Taqman	Alto riesgo	16,18,31,33,35,39,45,51,52,58

Genotipos más frecuentes en citología normal y lesiones del cuello uterino de distinto grado

En mujeres con citología cervical normal, la positividad para HPV oscila entre 10 y 15% a nivel mundial. Se puede identificar una amplia variedad de tipos virales; en general el HPV 16 ocupa el primer lugar, aunque sin un predominio marcado(9,10).

En las lesiones intraepiteliales de bajo grado (LSIL), también llamadas neoplasias intraepiteliales cervicales grado 1 (CIN 1), puede encontrarse gran diversidad de tipos virales. En un metaanálisis mundial realizado se observó que el HPV 16 fue el tipo más frecuente (26,3%), seguido del HPV

31 (11,5%), HPV 51 (10,6%) y HPV 53 (10,2%)(11).

En las lesiones intraepiteliales de alto grado (HSIL), que comprende la neoplasia intraepitelial cervical grado 2 (CIN 2) y neoplasia intraepitelial cervical grado 3 (CIN 3), el espectro de tipos virales es más restringido, con predominio de los HPV de alto riesgo (HPV-AR), en especial HPV 16 y 18 (50%)(12,13).

El mayor metaanálisis realizado en América Latina y el Caribe que incluyó más de 5.500 CCU confirmó que en esta patología, los tipos virales que ocupan el primero y segundo lugar son los HPV 16 y 18, respectivamente, que juntos alcanzan alrededor del 70% de la etiología de las neoplasias a nivel mundial siendo los seis siguientes más comunes los HPV 31, 45, 33, 52, 58 y 35(14).

Basados en estos resultados se puede decir que un alto porcentaje de los casos de infección por HPV serán detectados por los métodos en uso actualmente.

Detección de HPV por PCR/secuenciación

En los últimos años hemos procesado en nuestro laboratorio basados en la metodología de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) y posterior secuenciación en sistema ABI 3500 (secuenciación capilar), 1248 muestras de cepillados cervicales, de



Chlamydia Trachomatis Plus

tecnolab

Detección de ADN del genoma de C. trachomatis y de región de plásmido críptico por Real-Time PCR



Consulte por kits disponibles!

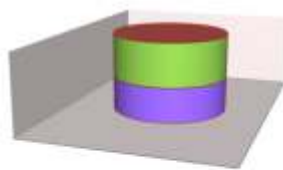
- Detección de ADN de C. trachomatis en muestras de orina, hisopado ocular, hisopado endocervical o uretral y semen
- Comprobación de inhibición de PCR por el control interno incluido en el kit
- Incluye control positivo y negativo
- Excelente especificidad
- Robustez, precisión y reproducibilidad testeado
- Alta sensibilidad analítica. Límite de detección analítica incluyendo el método de purificación: 300 be/ml ($p=0,05$)
- Kits de purificación validados para muestras de orinas (#52904) y muestras de semen e hisopados (#51304)
- Presentación: 24 ó 96 reacciones
- Listo para usar
- Marcado CE- IVD. Aprobado por ANMAT

las cuales 536 han sido detectables para el virus de HPV.

De las 536 muestras detectables, 236 (44,03%) corresponden a genotipos de alto riesgo oncogénico, 297 (55,41%) corresponden a bajo riesgo oncogénico y 3 (0,56 %) a genotipos cuyo riesgo oncogénico no se conoce aún.



Figura 1: % de muestras detectables y con riesgo oncogénico alto, bajo e indeterminado.



Detectables

- Alto riesgo
- Bajo riesgo
- Riesgo indeterminado

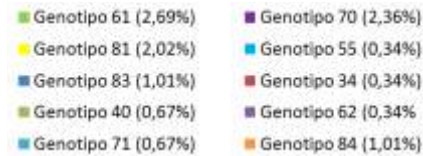
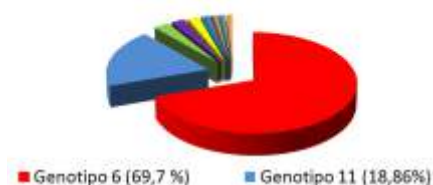
Los genotipos de bajo riesgo oncogénico detectados (figura 2A) fueron :6,11,61,70,81, 83, 84, 40, 71, 55, 34, 62 y de alto riesgo oncogénico: 16, 31, 58,18, 53,33, 66,56, 45,39,73, 59, 69, 82, 51,52, 68 y 35 (figura 2A), ambos grupos en ese orden de frecuencia.

Los genotipos detectados con riesgo oncogénico indeterminado (0,56 %) fueron el 62, 85 y 102 con el 0,18 % cada uno.

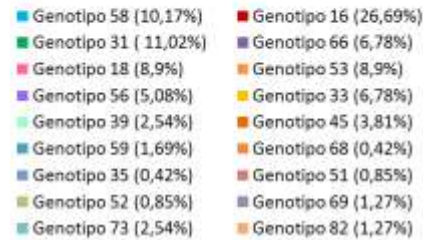


Figura 2A y 2B: genotipos de bajo riesgo y de alto riesgo oncogénico detectados por PCR/secuenciación.

Genotipos de bajo riesgo oncogénico



Genotipos de alto riesgo



Las metodologías de tamizaje de origen comercial mencionadas en la tabla 2 no hubieran detectado los genotipos de bajo riesgo 61,70,81,55,83,84,34,40,62,71 y 84 ni los genotipos de alto riesgo 53,69,73 y 82 detectados en nuestro ensayo mediante la metodología de PCR/secuenciación con un porcentaje de positividad del 11,45% y 13,98% para cada grupo respectivamente.

Es importante resaltar entonces la importancia de considerar técnicas suplementarias a los métodos de screening primarios comerciales, especialmente en los casos de lesiones clínicamente demostrables por estudios colposcópicos o citológicos ya que de otra manera no serían detectados.



Referencias

- ZurHausen H, 1982: Human genital cancer; synergism between two virus infections and/or synergism between a virus infection and initiating events? *Lancet* II, 1370–1372.
- ZurHausen H. 1999: Papillomaviruses in human cancers. *Proc. Assoc. Am. Physicians* 111: 581–5.
- Ministerio de Salud de la Nación. Programa nacional de prevención de cáncer cérvico uterino. (<http://www.msal.gov.ar/cancer-cervico-uterino>).
- Harper DM, Williams KB. Prophylactic HPV vaccines: current knowledge of impact on gynecologic premalignancies. *Discov Med.* 2010; 10:7-17.
- Sotlar K, Stubner A, et al. Detection of high-risk human papillomavirus E6 and E7 oncogene transcripts in cervical scrapes by nested RT-polymerase chain reaction. *J. Med. Virol.* 2004; 74 (1), 107-116.
- Lie AK, Risberg B, et al. DNA-versus RNA-based methods for human papillomavirus detection in cervical neoplasia. *Gynecol. Oncol.* 2005; 97(3), 908-915.
- Castle PE, Dockter J, et al. A cross-sectional study of a prototype carcinogenic human papillomavirus E6/E7 messenger RNA assay for detection of cervical precancer and cancer. *Clin. Cancer Res* 2007; 13(9), 599-2605.
- Poljak M, Cuzick J, Kocjan BJ, Iftner T, Dillner J, Arbyn M. Nucleic acid tests for the detection of alpha human papillomaviruses. *Vaccine* 2012; 30 Suppl 5: F100-6.
- Bruni L, Diaz M, Castellsagué X, Ferrer E, Bosch FX, de Sanjosé S. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J Infect Dis* 2010; 202: 1789-99.
- Deluca GD, Basiletti J, González JV, Díaz Vásquez N, Lucero RH, Picconi MA. Human papilloma virus risk factors for infection and genotype distribution in aboriginal women from Northern Argentina. *Medicina (B Aires)* 2012; 72: 461-6.
- Clifford GM, Rana RK, Franceschi S, Smith JS, Gough G, Pimenta JM. Human papillomavirus genotype distribution in low-grade cervical lesions: comparison by geographic region and with cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 1157-64.
- Clifford GM, Smith JS, Aguado T, Franceschi S. Comparison of HPV type distribution in high-grade cervical lesions and cervical cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2003; 89: 101-5.
- Ciapponi A, Bardach A, Glujovsky D, Gibbons L, Picconi MA. Type-specific HPV prevalence in cervical cancer and high-grade lesions in Latin America and the Caribbean: systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2011; 6: e25493.
- Sin Hang Lee*, Veronica S Vigliotti, Jessica S Vigliotti et al. Validation of human papillomavirus genotyping by signature DNA sequence analysis.

MANLAB®
Diagnóstico Bioquímico y Genómico