Actualidades sobre el Virus Papiloma Humano

Maria Eugenia Cavazza
cavazzaster@gmail.com
mcavazza@yahoo.com
Maria Correnti
mcorrentip@yahoo.com
Venezuela

CONOCIMIENTOS BASICOS SOBRE EL VIRUS PAPILOMA HUMANO

Los papillomavirus tienen un tamaño de 50 nm con una estructura icosaedrica compuesta por 72 capsomeros formados mayoritariamente por la proteína L1 y posee un genoma de ácido dexosidoribonucleico (ADN) . Aunque su estructura es similar a la de los poliomavirus , han sido erróneamente clasificados dentro de la familia Papovaviridae. Ambos géneros son funcionalmente distintos y por ello se han dividido en dos familias diferentes.

Existen muchas divisiones dentro del género papillomavirus , con diferentes animales especie específica como hospedador para varios subgrupos. El virus de papiloma humano (VPH) comprende un gran subgrupo con mas de 100 tipos denominados *tipos* clasificados por homología genómica algunos de los cuales tienen potencial carcinogénico y otros causan usualmente lesiones epiteliales no malignas [1] . Estos virus son difíciles de cultivar rutinariamente en el laboratorio . Las pruebas serológicas experimentales no han demostrado ser lo suficientemente sensibles y específicas para emplearse como sistemas de detección ó uso clínico [2]

El Virus Papiloma Humano (VPH) es un virus transmitido sexualmente que ha sido estudiado principalemente como un agente biológico capaz de modificar el creciminto y diferenciación celular y como factor de riesgo epidemiológico de cáncer cervical.[1-3] La infección por VPH es la infección de transmisión sexual viral más prevalente a nivel mundial, se estima que infecta 1 millón de personas cada año, la data revela que en los Estados Unidos aproximadamente el 1% de los adultos sexualmente activos presentan clínicamente verrugas genitales visibles y el 15% revelan infección subclínica ó latente. Desde Julio de 1995, 77 genotipos diferentes de VPH han sido identificados y el número está continuamente expandiéndose con más de 100 tipos.[2-4] Más de

veintiocho genotipos infectan el epitelio mucosal y la gran mayoria se han detectado en la mucosa del tracto anogenital, asociados a lesiones benignas y malignas y a pesar de que la mayoría de las lesiones asociadas al este agente parecen ser benignas y algunas desaparecen espontáneamente, ciertos papilomas cutáneos y mucosales están implicados en lesiones malignas que pueden desarrollarse en carcinomas in situ. [5,6,7,8] . Los tipos anogenitales de VPH se han dividido en dos clases, en base a la capacidad de transformación celular: virus de bajo y alto riesgo de oncogenicidad. Los de bajo riesgo de oncogenicidad incluyen principalmente los tipos 6 y 11 detectados en la mayoría de los casos de condiloma acuminado, pero rara vez se asocian con lesiones neoplásicas intraepiteliales del cérvix (NIC) ó con cáncer cervical; la categoría de alto riesgo oncógenico incluye tipos como el VPH 16, 18 y 33 que están asociados a lesiones NIC y cáncer cervical. Existen un grupo de genotipos (26, 30, 31, 35, 39, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 61, 64, y 68) que son considerados de riesgo medio y que a menudo se encuentran en lesiones NIC pero rara vez en cáncer cérvical.[7] Existe una alta prevalencia de infecciones genitales (20% a 40%) en grupos etáreos con actividad sexual activa y de estas del 80 al 90% se mantienen no evidentes desde el punto de vista clínico contribuyendo a la diseminación viral[8-9] . La prevalencia de la infección con VPH en el cérvix ha sido variablemente definida en estudios epidemiológicos por medio de la evidencia clínica de verrugas, lesiones visualizadas colposcópicamente ó por cambios citológicos e histopatológicos que sugieren una infección por VPH. Las pruebas de ADN para el VPH brindan la objetividad requerida

para aclarar aspectos difíciles de tratamiento en pacientes que requieren vigilancia en la evolución de la enfermedad, que presentan anomalía citológicas de bajo grado (ASCUS y LSIL), así como frotis de Papanicolaou no correlacionados, y para la valoración de lesiones no diagnosticadas en la porción inferior del aparato genital y aseguramiento de la calidad de estudios citológicos e histológicos.[9,10] Los sistemas de amplificación de ADN actualmente se aplican para la detección de agentes infecciosos, pues permiten identificar un número pequeño de microorganismos con una altísima especificidad [11]

La técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) es una de las técnicas moleculares que con mayor frecuencia se utiliza en el área de diagnóstico e investigación, la cual consiste en la repetición cíclica de las tres etapas de amplificación del ADN blanco, desnaturalización, hibridación y extensión para finalmente obtener millones de fragmentos del genoma que se desea estudiar[9] .La PCR es una de las técnicas moleculares que con mayor frecuencia es utilizada para detectar el ADN viral del VPH en células cervicovaginales permitiendo conocer de esta manera la prevalencia de la infección en mujeres citológicamente normales y en aquellas con enfermedades (displasia ó cáncer). A través de estos métodos se ha hecho evidente que el ADN del VPH constituye el factor de riesgo más significativo para el desarrollo de estas enfermedades; de igual forma se ha demostrado la presencia del ADN viral en mujeres citológicamente normales, la mayoría de las investigaciones arrojan porcentajes de prevalencia entre 10% y 35%, la variabilidad de estos estudios está relacionado al método de detección utilizado y a la

edad y características de la población[12] .Al considerar la alta prevalencia de la infección por VPH en la población general y la convincente relación que existe entre este y el desarrollo de cáncer cervicouterino es de interés en este estudio aplicar el uso de la técnica de PCR con el fin de cumplir los siguientes objetivos:

1. Identificar el genoma del Virus Papiloma Humano en células cervico-vaginales a través de la técnica de PCR
2. Estimar la prevalencia de la infección.
3. Determinar la prevalencia y la variabilidad de genotipos circulantes en nuestra población.
4. Relacionar el genotipo de VPH con el tipo de lesiones genitales.

La detección y tipificación del VPH se ha convertido en los últimos años en una herramienta importante y necesaria la cual el clínico utiliza para esclarecer y determinar si los cambios neoplásicos del cerviz en determinados casos pudiesen estar relacionados etiológicamente a este agente, y de esta manera definir las conductas terapéuticas y de control en los casos que se identifique la presencia del virus.

Las tasas de prevalencia de la infección por VPH son difíciles de determinar ya que varían substancialmente debido a la variabilidad de métodos moleculares y a las características de la población estudiada. En los países Occidentales la prevalencia del VPH por PCR esta entre el 10% y 25%, estas tasas son aún más altas en la población joven sexualmente activa donde se reporta un 40% a 65%.[2]

A pesar que las metodologías varían entre un estudio y otro los resultados en general convergen con los de este estudio y demuestran que en la población general la mayor prevalencia de las infecciones por VPH son producidas por genotipos de alto riesgo oncogénico. En diversas publicaciones se reportan infecciones mixtas por VPH (infecciones con más de un genotipo de VPH) , donde prevalecen los genotipos de alto riesgo oncogénico, la mayoría de estos estudios demuestran ó infieren que la razón de éstos casos, está en la posibilidad de infecciones repetidas por la existencia de múltiples compañeros sexuales, sin embargo en nuestro estudio la gran mayoría de las pacientes afirmaron ser monógamas por lo que se considera que en los casos detectados de infecciones mixtas este estudio podría estar involucrado la promiscuidad de la pareja. Para comprobar esta hipótesis se debería realizar un estudio minucioso donde involucre el análisis del comportamiento sexual del paciente y su pareja, en los casos que la tenga.

Por otro lado, es importante señalar que la positividad de VPH en la población estudiada declinaba al mismo tiempo que aumentaba la edad de la paciente, presumiblemente esto puede ser debido al cambio en el comportamiento sexual, disminuyendo la frecuencia sexual y el número de compañeros sexuales. Sería importante realizar estudios prospectivos en una población femenina sana donde se detecte la infección por VPH relacionando esta, con factores de riesgo como la actividad sexual, entre otros.

Los datos del presente estudio demostraron una prevalencia significativa de infección por VPH en mujeres con lesiones preinvasivas del cuello uterino, indicando una correlación directa entre la infección con VPH de alto riesgo y el desarrollo de este tipo de lesiones, por otra parte se pudo

conocer la prevalencia y variabilidad de los genotipos de VPH que circulan en nuestra población, logrando obtener una visión epidemiológica general de este tipo de infección viral en nuestra población femenina, sin embargo se hace necesario un estudio epidemiológico más amplio donde se incluyan un mayor número de pacientes y el análisis de diversos factores relacionados a este tipo de infección.

Cada año se detectan 3.000 casos nuevos de cáncer de cuello uterino en mujeres en edades comprendidas entre 25 y 64 años. La afección además de ser la más frecuente, es la primera causa de muerte oncológica en las mujeres venezolanas.

Estudios epidemiológicos realizados en países desarrollados y en vías de desarrollo presentan indicios que los virus genotipo específico de VPH están asociados a la patogénesis de lesiones itraepiteliales escamosas (LIE) y al cáncer invasor cervicouterino. Igualmente se ha demostrado que la progresión de LIE a cáncer invasivo suele estar asociada a la infección viral persistente por VPH.

Algunas de las pacientes infectadas por VPH no desarrollan cáncer cervical aún cuando se encuentran infectadas por uno ó más tipos oncogénicos ; sugiriendo que se requieren eventos adicionales para la transformación neoplásica . Se han propuesto que uno de los factores importantes que propician la progresión es la persistencia de la infección y la habilidad que posee el virus de expresar determinados genes por tiempo prolongado, independientemente de que la infección tenga manifestaciones clínicas ó subclínicas .

ESTUDIOS DE GENOTIPIFICACION DE VPH Y SU ASOCIACION CON LESIONES INTRAEPITELIALES POBLACION JUVENIL EN VENEZUELA

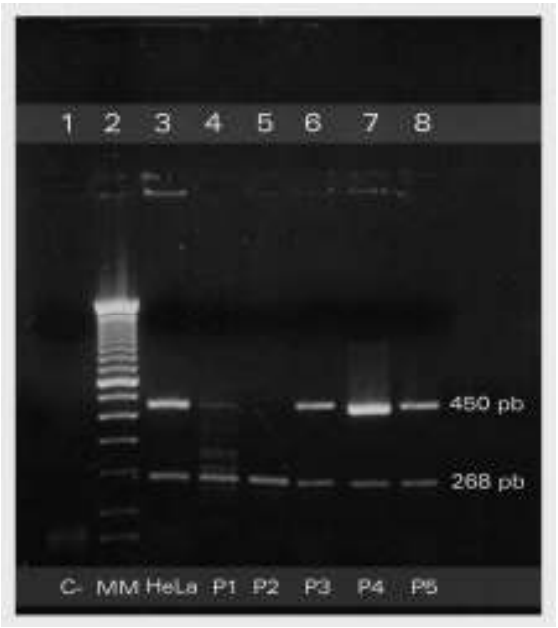
Actualmente existen en Venezuela varios grupos de investigación, servicios públicos y privados en donde es posible realizar las pruebas de biología molecular para la detección y genotipificación del virus del papiloma humano en diferentes entidades como lo son: ginecológicas , bucal y piel .

Mediante el esfuerzo de los distintos grupos se ha podido establecer en diferentes zonas del país la prevalencia de la infección en la población femenina. Correnti y col . (2001)[13] estudiaron 1046 mujeres y reportan una prevalencia de VPH variable en la zona Oriental : 85 % ; zona Occidental : 40 % y área metropolitana : 67 % . En un análisis de la población femenina estudiada se observó una alta prevalencia de VPH de alto riesgo oncogénico (70 %) asociados a lesiones de LIEbg y LIEag; un hallazgo, importante fue la observación de un 45 % de muestras positivas para VPH de genotipos de alto riesgo oncogénico y citología normal. . El genotipo de mayor circulación en Venezuela es el VPH del tipo 16 , el cual es uno de los genotipos con mayor potencial oncogénico .

El grupo de investigación ha estudiado 120 pacientes seleccionadas de servicios de salud privados, a las cuales se les pudo realizar todos los exámenes de biología molecular , colposcopia e histopatología (la edad promedio fue de 24 años) , distribuidas en los siguientes grupos :

Grupo I : pacientes con cambios morfológicos sugestivos de infección

por VPH y/o pacientes sin alteraciones clínico patológicas en quienes la presencia de lesiones en su pareja condujo al estudio de la detección y tipificación viral ; Grupo II ; pacientes con lesiones intra epiteliales escamosas de bajo grado ; Grupo III ; pacientes con lesiones intra epiteliales escamosas de alto grado .Todas las muestras fueron analizadas mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) , empleando oligonucleótidos cebadores consenso mediante los cuales se puede detectar la mayoría de los tipos de VPH ; el material de amplificación tiene un peso molecular de 450 pb y puede ser visualizado en un gel de agarosa al 1 % teñido con bromuro de etidio (Foto No. 1) . Además los resultados fueron corroborados mediante la metodología de Híbrido de captura (única prueba aprobada por el FDA- USA para la genotipificación de VPH)



Carril 1 **C -** Control negativo
Carril 2 **MM** Marcador de peso molecular (lambda leader 100 pb)
Carril 3 **HeLa** ADN del control positivo Para VPH

Carril 4 , 6, 7, 8

P1, P3, P4,P5 : Pacientes positivos para VPH
Carril 3
P2 : paciente negativo

Banda de 450 pb : presencia de genoma viral

En el grupo de pacientes estudiados se observó que el 66.6 % de los pacientes presentaron genoma viral. El análisis de tipificación viral en las muestras PCR positivos, mostró que el 45 % presentaron VPH de alto riesgo oncogénico , 26. 6 % con infección mixta, 5 % presentaron VPH de bajo riesgo oncogénico y el 23.40 % de las muestras fueron no tipificables . En la tabla I se observa que existe una menor frecuencia de VPH de alto riesgo oncogénico en las pacientes sin cambios morfológicos sugestivos de VPH en la citología (23.3 %) con respecto al grupo de pacientes con LIEbg y LIE ag (56.25 % y 50 % respectivamente) , siendo las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.00001$).

Tabla I

Pruebas de Biología Molecular	GRUPOS DE PACIENTES		
	Sin cambios morfológicos sugestivos de VPH	LIE de bajo grado (NIC I)	LIE de alto grado (NIC II)
PCR + AR +	7 (23. 3 %)	45 (56. 25 %)	5 (50.0 %)
PCR + BR +	1 (3. 3 %)	3 (3. 75 %)	0 (0. 0 %)
PCR + AB -	4 (13. 3 %)	12 (15 %)	3 (30 %)

PCR -	18 (60. 0 %)	20	(25	%)	2 (20 %)
TOTAL = 120	N = 18	N = 80			N = 10

En un esfuerzo conjunto que se realiza entre la Organización de Bienestar Estudiantil de la Universidad Central de Venezuela , el Vicerrectorado Académico – UCV, Instituto de Oncología y Hematología del Ministerio de Salud y Desarrollo Social , Instituto de Biomedicina (Caracas) y FONACIT , se ha establecido desde 1996 un programa de atención a los estudiantes de UCV en el área de ginecología e urología para la detección de VPH y su asociación con lesiones intraepiteliales del tracto genital femenino y masculino . En este estudio se han atendido aproximadamente 2.259 estudiantes en el servicio de Obstetricia y Ginecología de la Organización de Bienestar Estudiantil (OBE) - UCV y en esta población se seleccionaron 107 pacientes que presentaron un diagnóstico clínico e histopatológico de lesiones sugestivas de VPH y/o NIC I, II, III. La edad promedio fue de 25 años (rango de 16 – 35 años).

En la población estudiada, se observó que el 60,75% de las pacientes (65/107) presentó el genoma viral. La infección viral se detectó en el 59% (41/70) de las muestras cervicales y 65% (24/37) de las muestras vulvares; la diferencia no fueron estadísticamente significativa .

En las muestras de cervix positivos para VPH, el 80,5% (33/41) fueron VPH- AR; el 2,5% (1/41) correspondió a VPH- BR y el 17% (7/41) no fue tipificable. En vulva el 75% (18/24) se relacionó a VPH-

AR, mientras que en el 8,33% (2/24) se evidenció VPH- BR; en el 16,67% (4/24) no se identificó el tipo viral.

En relación al estudio Histopatológico se observó: en cervix, el 64,28% (45/70) de las pacientes presentaron cambios sujestivos por VPH; 28,57% (20/70) NIC I; 5,72% (4/70) NICII; 1,43% (1/70) NICIII. En vulva se evidenció en el 89,19% (33/37) infección por VPH, mientras que el 10,81% (4/37) correspondió a NIV I. .

Se observó, que las pacientes con diagnóstico de cambios sujestivos por VPH presentaron virus de alto riesgo en un 81% (17/21) en las muestras cervicales y 77% (17/22) en las muestras de vulva. En las lesiones de NIC II y NIC III, la tipificación correspondió en su totalidad a la presencia de virus de papiloma de alto riesgo oncogénico.

En relación a los hallazgos colposcópicos, se encontró que el Epitelio Blanco al Acético (EBA) fue la atipia más frecuente, representando el 67,14% (47/70) y detectándose el genoma viral en el 57,44% (27/47) de estas pacientes. En vulva, el condiloma fue la lesión colposcópica más relevante (83,7%;31/37), demostrándose la infección viral en el 64,51% (20/31). (Gráficos 1 y 2).

GRÁFICO No. 1

ASOCIACIÓN DE LOS TIPOS DE VPH Y LOS HALLASGOS COLPOSCÓPICOS EN CERVIX

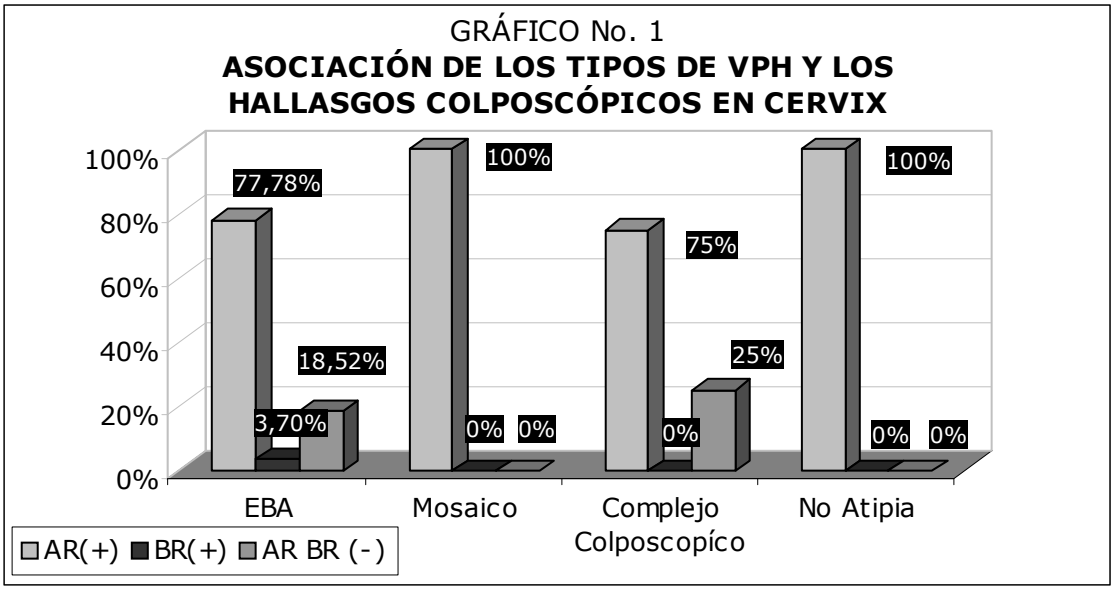
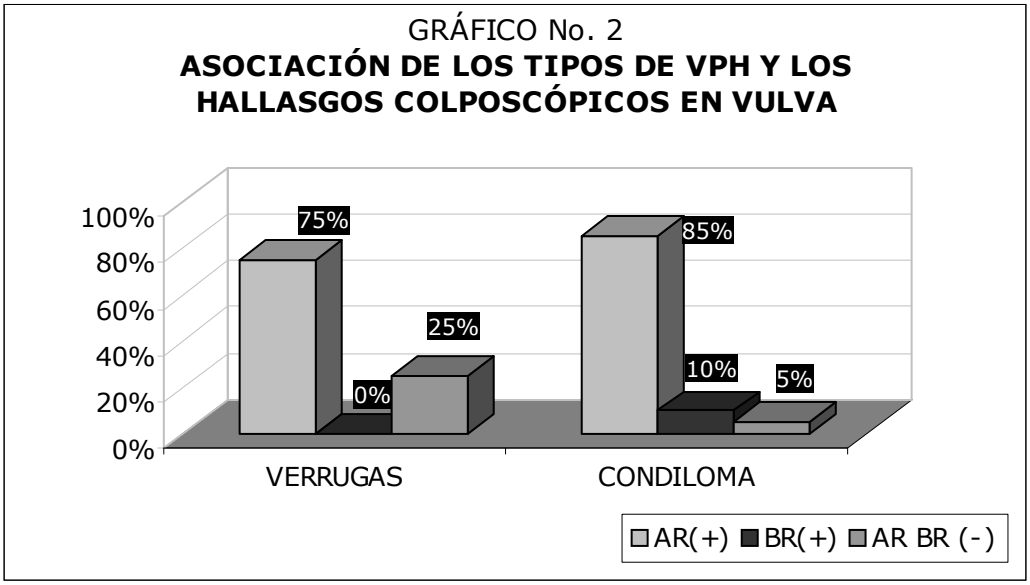


GRÁFICO No. 2

ASOCIACIÓN DE LOS TIPOS DE VPH Y LOS HALLASGOS COLPOSCÓPICOS EN VULVA



En este mismo estudio se han analizado 42 parejas sexuales mediante la toma de citologías uretrales y de pene en los jóvenes masculinos y 42 muestras cervicales de las jóvenes. La presencia de genoma viral fue detectada en el 62 % de las muestras femeninas y 58 % en las muestras masculinas ($p>0.001$,n.s.).En el análisis de las parejas sexuales se encontró VPH en el 58 % de las muestras apareadas estudiadas. En las jóvenes fueron detectados VPH-AR en

el 81 % de las muestras y un 75 % en los jóvenes. En todos los casos analizados el tipo de VPH era el mismo en la pareja sexual.
Los resultados anteriores señalan la importancia del estudio de la infección no solamente en las mujeres sino que este tipo de enfermedad se ha convertido en un problema que no discrimina entre hombre y mujer, además usualmente en el sexo masculino no se presentan síntomas y lesiones visibles pero son portadores del virus de papiloma humano .

IMPORTANCIA DE LAS TECNICAS DE DIAGNOSTICO Y GENOTIPIFICACION DE VPH

El método convencional para la pesquisa de cáncer cervicouterina ha sido la citología cervico-vaginal y su interpretación se basa en la clasificación de Papanicolaou. Una evaluación anual de manera óptima permitiría prevenir hasta un 70 % de las neoplasias cervicales. Sin embargo , el método tiene limitaciones importantes entre las cuales se encuentra el impedimento de una automatización completa de la técnica , variaciones constante para mejorar su sensibilidad y la sobre valoración de los hallazgos citológicos , sobre todo en las evaluaciones de los cambios morfológicos , aunado a que la citología únicamente permite sugerir la presencia de una infección por VPH pero hasta ahora no es posible hacer la detección certera del virus , indicar si hay infección mixta viral y los genotipos correspondientes . Lo anterior ha conllevado a : 1. Diagnóstico de cambios atípicos ambiguos que no pueden ser confirmados; 2. tratamientos excesivos

por Papanicolaou dudosos y 3. manejo inadecuado de pacientes con lesiones cervicales cuyo Papanicolaou fue negativo.

La clasificación de Papanicolaou no comunica de manera totalmente confiable la información de relevancia clínica, además que no se corresponde con los puntos de vista actuales de las lesiones preinvasoras , la distribución de VPHs y las pautas vigentes del manejo clínico . Lo anterior condujo a una nueva clasificación citológica : Sistema Bethesda ; en sustitución de la clasificación de Papanicolaou. Esta clasificación incluye dos subgrupos designados como Lesiones intraepiteliales de bajo grado (LIEbg) y lesiones intraepiteliales de alto grado (LIEag) para clasificar las lesiones escamosas preinvasoras .

En base a los estudios clínico-patológicos y moleculares se conoce que la infección viral pasa por un *continuum* morfológico : LIEbg (VPH y-o NIC I) infección activa producida por algunos de los tipos de VPH frecuentemente asociados al tracto genital femenino y LIEag (NIC II – NIC III) asociado a genotipos restringidos de VPHs , usualmente VPH 16 y VPH 18 . Usualmente , las LIEbg regresan ó persisten , mientras que la mayoría de los LIEag progresan a neoplasia cervical .Por lo tanto , el sistema de Bethesda aunado a las técnicas de biología molecular permiten un mejor análisis de los aspectos morfológicos de las lesiones preinvasoras y los conocimientos actuales de la infección por VPH, le trasmite al clínico sospechar el potencial oncogénico de los mismos . La utilización de las técnicas de biología molecular contribuye a detectar la presencia del genoma viral en material de citología y biopsias aún si la infección es oculta ó el número de partículas virales es bajo.

TIPOS DE PRUEBAS MOLECULARES BASADAS EN SONDAS DE ACIDOS NUCLEICOS

Las pruebas basadas en sondas pueden dividirse en tres grandes grupos : 1.- pruebas sin amplificación . 2.- pruebas con la secuencia diana amplificada . 3.- pruebas con señales químicas de visualización amplificada . En la tabla No. 1 se señalan las pruebas moleculares mas importantes

Tabla No. 1

Pruebas moleculares para la detección de secuencias de ADN y/o ARN

Categoría Molecular	Pruebas
Amplificación de secuencias	
Amplificación de la señal	Reacción en cadena de la polimerasa (RCP) Reacción en cadena de la Ligasa (RCL) Amplificación de la secuencia de ácido nucleico (NASBA) Sistema del Híbrido de captura (SHC) ADN Ramificado (ADNb)

Sin amplificación de secuencias	Southern Blot (SB)* Dot blot (DT) * Hibridación *in situ* sobre filtro (HISF) Hibridación *in situ* en muestras biológicas (HIS) Southern Blot reverso * (SBR) Northern Blot * (NB)

*Se ha colocado el nombre en inglés para un mejor entendimiento en el texto

La técnica de ISH únicamente detecta VPH en células y esta al mismo nivel del Papanicolaou. Algunas infecciones latentes de VPH se muestran a mayores niveles

El eje de las y representa el total del numero de genomas en una muestras cervicales de aproximadamente 500.000 células. Está demostrado que en una muestra citológica puede haber entre 50.000 a 5 millones de células. Este fenómeno produce una gran variación entre los diferentes métodos de diagnóstico e introduce una variabilidad impredecible. La forma del gráfico en cada una de las

entidades sugiere la distribución de los niveles de VPH en las categorías . Por ejemplo , el ensanchamiento de la forma correspondiente a al grupo LIE representa el hecho que muchos LIEs tienen un alta carga viral de VPH y por lo tanto puede ser detectada en forma confiable por FISH y SBR, los que tiene baja carga viral pueden ser analizados únicamente por técnicas muy sensibles. La infección latente de VPH es 10 veces mas común y detectable por RCP que el diagnóstico de LIE, pero este rango varía en la medida que las pruebas son mas sensibles. En general en población femenina joven el 50 % de las muestras presentan infección latente de VPH analizada por RCP pero la prevalencia declina con la edad [14]. Las muestras diagnosticadas como cáncer y carcinoma in situ tienen menor número de copias de ADN-VPH que los LIEs, y alrededor del 5 % de las muestras son negativas aun por RCP ultrasensible , el cual es capaza de detectar hasta 10 copias de ADN-VPH .

Los falsos VPH se encuentran asociados por fallas metodológicas y contaminación en el procesamiento de las muestras , particularmente cuando se emplean técnicas de alta sensibilidad como el RCP ultra cuantitativa y RCP simple , de aquí la importancia de estructurar laboratorios de biología molecular con las pautas correctas para la infraestructura y funcionamiento .En la figura No. 1 se observa la detección por RCP de muestras clínicas empleando los iniciadores universales de la región L1 y L2 viral , los cuales permiten detectar la presencia de VPH mas no su genotipo . El genotipo puede ser realizado posteriormente por una nueva RCP con iniciadores específicos para los genotipos mas importantes como el VPH 16, 18, 6, 11, 31 y 33 ó mediante el uso de enzimas de restricción analizando

los fragmentos de digestión cuyo patrón es característico para cada genotipo de VPH .

Valoración con ácido nucleico de señal amplificada

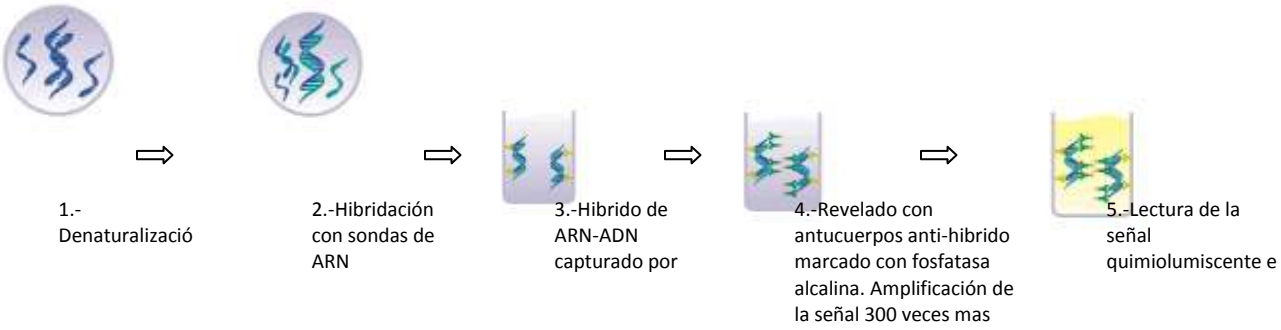
La única prueba del VPH disponible comercialmente, la valoración Hybrid Capture II (HC II) de la empresa Digene Corporation, recurre a la amplificación de señales para detectar el ADN del VPH. Proporciona una sensibilidad cercana a la reacción en cadena de la polimerasa (RCP). La HC II detecta 13 tipos de VPH de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51,52, 56, 58, 59 y 68) y 5 tipos de VPH de bajo riesgo oncogénico , está estandarizada y es sumamente reproducible. La prueba HC II consiste en un proceso de laboratorio que produce señales de luz aproximadamente proporcionales a la cantidad de ADN del VPH presente en la muestra (Figura No 2). El proceso exige equipo, que comprende desde suministros básicos de laboratorio hasta equipo tecnológicamente avanzado, como una computadora conectada a un luminómetro para la lectura de las placas.

El híbrido de captura II permite además un análisis semicuantitativo de las copias de ADN viral, el cual representa un parámetro muy importante en el momento del tratamiento , seguimiento de las pacientes y la evaluación de las posibles vacunas contra la infección por VPH de alto y bajo riesgo oncogénico.

Estas condiciones actualmente hacen el uso de HC II únicamente en laboratorios especializados y con personal entrenado. En nuestro país

existen cuatro laboratorios que cuentan con la capacidad tecnológica para realizar esta prueba.

Figura No. 2. Prueba de captura híbrida II (HC II)



El híbrido de captura II sin embargo no es una metodología adecuada para el estudio de la infección por VPH en la entidad bucofaríngea ya que existen asociaciones con genotipo de VPH como el 13 y el 32 , que no son detectables mediante el formato actual del sistema ya que no incluye las sondas específicas para estos tipos virales .

Autorecolección de muestras

Los estudios indican que las mujeres son capaces de autorrecoletar muestras vaginales para la detección del ADN del VPH. El automuestreo puede ser más aumentando la eficacia del programa al obtener una cobertura más extensa de la población. Según estudios para evaluar la prueba HC II, la especificidad de las muestras autorrecogidas era más baja, pero la sensibilidad era comparable a la de la prueba citológica convencional para detectar las LIEAG en mujeres de 35 años o mayores.6 Las muestras

autorrecolectadas por las mujeres y sometidas a examinación arrojaron resultados de sensibilidad satisfactoria, dato suficiente para justificar una evaluación más amplia [15,16] .El impacto de las muestras autorrecolectadas para la eficacia del programa, en cambio, todavía no ha sido evaluado.

Características de las pruebas

Los métodos de detectar el ADN de VPH, HCII y RCP requieren el transporte de la muestra (y uso de un medio de transporte) al laboratorio, almacenamiento, y tiempo de procesamiento en el laboratorio. Estas características de las pruebas tendrán implicaciones programáticas. La prueba del VPH es objetiva con resultados rápidos y en corto tiempo. Sin embargo , el control de la calidad para el uso de pruebas de VPH precisa de más evaluación.

Desempeño de las pruebas

Las investigaciones indican que las pruebas del ADN del VPH podrían llegar a convertirse en un método de tamizaje primario de las mujeres de 30 a 35 años o mayores. En estas mujeres, la sensibilidad de una única valoración HC II en su vida para detectar la displasia de alto grado ha sido de cerca de 80 a 90 por ciento (más elevada que la de la prueba citológica) y la especificidad ha oscilado de 57 a 89 por ciento [17,18,19] . Además, la HC II puede ser más eficaz que la prueba citológica convencional o la inspección visual con ácido acético para el tamizaje de las mujeres posmenopáusicas. Sin embargo, cuando se usa para detectar las LIEAG, la especificidad de la prueba es

solamente moderada, en el mejor de los casos, en particular en las menores de 30 años. La prueba tiene un valor predictivo negativo alto

Microordenadores de ADN

La aplicación de la metodología de ADN-microordenadores (en inglés microarrays) permitirá estudiar la regulación y la expresión de los genes virales en las diferentes estadios de la infección viral y su relación con la expresión de proteínas celulares de los diferentes tejidos en los cuales este virus es capaz de replicarse . En otros aspectos se podrán definir con mejor precisión los virus mutantes , el proceso de diferenciación en líneas celulares en cultivo y la respuesta del hospedador .
Actualmente se está empleando la metodología de microordenadores en el estudio de la infección por VPH para identificar marcadores celulares de progresión en pacientes infectados. Otro desarrollo es lo microordenadores de tejidos en donde se relocaliza el tejido a partir de los bloques histológicos de parafina y se puede visualizar los resultados de múltiples pacientes ó bloques sobre una misma lámina

PERSPECTIVAS DE LAS VACUNAS PARA VPH

La infección por el VPH se transmite durante las relaciones sexuales y puede prevenirse (aunque no al 100%) con el uso de preservativo. Sólo algunos tipos del VPH tienen una relación causal con el cáncer de cérvix, sobre todo los tipos 16 y 18, ambos cubiertos en las 2 vacunas hasta ahora existentes (Gardasil® y Cervarix®) y que vienen a estar relacionados con algo más de dos tercios de los

cánceres de cérvix . Algunos tipos de VPH se han asociado con otros cánceres (de ano, pene, vagina, vulva, boca, orofaringe, laringe, conjuntiva), así como con enfermedades no malignas (como las verrugas genitales) [20].

El paso de la infección por el VPH al cáncer de cérvix es muy lento, y pueden transcurrir entre 15 y 30 años. Por este motivo, el cribado es efectivo y se recomienda en todas las mujeres, ya que permite detectar lesiones precancerosas que pueden eliminarse fácilmente, evitando así que se transformen en cánceres invasivos. Además, la infección por un tipo de VPH de alto riesgo es una causa necesaria pero no suficiente de cáncer de cérvix.

Conocimientos e incertidumbres acerca de los efectos de la vacuna

Hay 2 vacunas de las que hay ensayos clínicos en fases II y III publicados actualmente: Gardasil® (la vacuna que se está utilizando en España, que cubre los tipos 6, 11, 16 y 18 del VPH) y Cervarix® (aprobada recientemente en Europa y que cubre los tipos 16 y 18). En una revisión sistemática publicada en noviembre de 2007, centrada en ensayos en fase III y cuya búsqueda de la bibliografía cubrió hasta julio de este mismo año, se encontraron 5 ensayos clínicos con asignación aleatoria que comparaban la vacuna con placebo: 2 de Cervarix® (que sumaban cerca de 20.000 mujeres de 15 a 25 años) y 3 de Gardasil® (que sumaban casi 19.000 mujeres de 16 a 26 años). En ninguno de estos ensayos hay seguimiento suficiente (el máximo es de 3 años) para demostrar ningún efecto de la vacuna en la reducción de los 2 resultados principales: incidencia de cáncer de cérvix y mortalidad [21].

Es más, estos efectos no podrán demostrarse aún durante muchos años, dado el largo tiempo de latencia entre la infección y las lesiones precancerosas, y entre éstas y el cáncer. En estos mismos ensayos clínicos no se han encontrado diferencias en los efectos adversos entre la vacuna y el placebo, salvo en términos de reacciones locales en el sitio de la inyección. Por tanto, con los datos que hay hasta ahora, la vacuna parece segura. Esto no descarta, sin embargo, que con el empleo masivo en la población se puedan encontrar efectos secundarios que, por ser muy raros, aún no se han mostrado diferentes entre las mujeres que en los ensayos han recibido la vacuna y las que han recibido el placebo.

En la cadena causal, antes del cáncer invasivo están las lesiones precancerosas. Ambas vacunas han mostrado un efecto protector frente a lesiones precancerosas totales (de cualquier grado) y frente a lesiones precancerosas de grado alto (que mezcla grados 2 y 3),causadas por los tipos de VPH frente a los que cubren. Comparado con placebo, las *odds ratio* (OR) de Gardasil ® son de 0,16 (intervalo de confianza [IC] del 95%, 0,11-0,25) para el total de lesiones precancerosas y de 0,135 (IC del 95%, 0,07-0,25) para lesiones de grado alto.

Estos resultados son menos impactantes en términos absolutos, sobre todo si la incidencia de este tipo de lesiones es baja en la población (hay que tener en cuenta que la OR es una medida de eficacia relativa).

En una revisión publicada en agosto de 2007 se incluyen, –además de los ensayos en fase III– algunos ensayos en fase II sobre ambas

vacunas, que llegan a un seguimiento mayor (hasta 5 años)10. La información que estos ensayos añaden es, fundamentalmente, acerca de la duración de la respuesta inmunitaria (seropositividad frente a los tipos del VPH incluidos en las vacunas): con Cervarix® la seropositividad sigue siendo del 100% frente a los tipos 16 y 18 del VPH a los 51-53 meses de seguimiento; con Gardasil ® la duración máxima estudiada de la respuesta inmunitaria llega a los 24 meses, donde un 96% de los vacunados era seropositivos frente a los tipos 6, 11 y 16 del VPH,pero la respuesta frente al tipo 18 había bajado al 68%. No hay estudios que lleguen más allá en el tiempo, por lo que se desconoce cómo variará la respuesta inmunitaria después de los 2 años con Gardasil® y después de los 4,5 años con Cervarix®10 y, por tanto, no es posible saber si será necesaria la revacunación ni cuántas veces a lo largo de la vida. El tema de la necesidad de revacunar es clave. La vacuna frente al VPH es cara (464 euros las 3 dosis de 1 vacunación) y si su coste-efectividad es ahora dudoso, lo será mucho más si es necesario poner nuevas dosis.

Hay aún otras muchas más preguntas sin responder acerca del impacto de la vacuna. En primer lugar, aspectos relacionados con el contexto real (diferente al de los ensayos clínicos): ¿será efectiva la vacuna cuando se administre al mismo tiempo que otras vacunas?, ¿será efectiva y segura en personas con comorbilidades o algún tipo de problemas de salud? En segundo lugar, no se sabe si la inmunidad conseguida a corto plazo con la vacuna puede alterar la historia natural de la infección por el VPH (esto ha ocurrido con la varicela, donde los casos que aparecen en personas mayores están siendo más graves que los que se dan en los niños) [21], ni si se pueden

producir cambios en los tipos de VPH no cubiertos por la vacuna, como la proliferación de otros virus de alto riesgo oncológico o la transformación de los de bajo riesgo. Por otra parte, y quizás más importante, un motivo de preocupación es si la vacuna va a dar una falsa sensación de seguridad que lleve a un menor uso del cribado y de los preservativos (con posible incremento de embarazos no deseados y de las enfermedades de transmisión sexual).

A modo de resumen, puede decirse que lo que está demostrado hasta ahora es que la vacuna es eficaz para reducir la incidencia de lesiones precancerosas debidas a los tipos del VPH cubiertos. Aun si en el futuro se demostrara que esto se traduce en una reducción de la incidencia de cáncer y de la mortalidad, lo que sí puede preverse es que en España, donde la incidencia es baja, el número de personas que hay que vacunar para evitar un caso de cáncer o una muerte será muy alto [22] .

El coste de oportunidad de la vacunación masiva

Cabe señalar que la vacuna no sustituye ninguna otra intervención sanitaria, ya que el cribado periódico de cáncer de cérvix sigue siendo necesario en las mujeres vacunadas. En la medida que el cribado mejore su cobertura, el efecto adicional que pueda tener la vacuna en términos de reducción de la incidencia de cáncer invasivo y mortalidad será menor.

Como se ha comentado anteriormente, el coste de la vacuna es alto, mucho más que cualquier otra vacuna del calendario oficial; si la inmunidad no dura de por vida y hay que revacunar, el precio se irá multiplicando por persona. En un contexto donde está clara la necesidad de controlar el crecimiento del gasto sanitario, la

implantación de una nueva prestación como la vacuna, que va a suponer millones de dólares al Sistema Nacional de Salud, lleva a cuestionar el coste de oportunidad. Es decir, no está claro todo lo que se dejará de hacer para poder financiar la vacunación, ni todo el sufrimiento y muertes que se podrían evitar poniendo estos millones de euros en otras prestaciones no cubiertas actualmente por el sistema sanitario (o cubiertas pero no difundidas o bien implantadas [22].

Conclusiones y reflexiones finales

Disponer de vacunas en las que las investigaciones hasta ahora publicadas sugieren que pueden ser efectivas en la reducción del cáncer de cérvix es una buena noticia; sobre todo si fueran a utilizarse en los países y poblaciones donde la incidencia y mortalidad es especialmente alta.

Partiendo de la situación actual, donde la vacuna ya está incluida en el calendario para las niñas que aún no han iniciado las relaciones sexuales, caben aún algunas acciones importantes.

En primer lugar, sería muy oportuno que las autoridades sanitarias promovieran la farmacovigilancia, monitorizando la aparición de efectos adversos y analizando si en el futuro se comprueba la efectividad en términos de prevención del cáncer de cérvix y de muertes asociadas. También habría que vigilar otros aspectos del impacto posible de la vacuna, como cambios en el uso de preservativos en adolescentes y jóvenes (y si esto ocurre, impacto en términos de incidencia de otras enfermedades de transmisión sexual y embarazos no deseados), uso del cribado en personas vacunadas, cambios en los tipos del virus y sus efectos.

En segundo lugar, habrá que estar atentos a los nuevos resultados que se vayan publicando de todos los ensayos clínicos en marcha acerca de las 2 vacunas actuales, y también los ensayos acerca de otras vacunas que puedan aparecer. Estos resultados y los de estudios de farmacovigilancia deberían servir para decidir si la vacuna debe seguir incluida o no entre las prestaciones del Sistema Nacional de Salud, y también para evitar la ampliación de indicaciones sin evidencias sólidas (la industria está ya apostando muy fuerte por la vacunación en varones y en mujeres que han iniciado la actividad sexual).

Por último, pero muy importante, sería fundamental que se hiciera cumplir la regulación en materia de promoción directa al público de la vacuna, algo dudoso si se analiza la publicidad que actualmente se está haciendo. Para contrarrestar la información que llega de mano de la empresa interesada, los profesionales sanitarios tienen un papel clave. Es fundamental que informen a los ciudadanos para que puedan separar efectos probados de la vacuna de lo que aún no se ha demostrado, ayudando así a que los propios padres puedan decidir con conocimiento de causa.

BIBLIOGRAFIA

1.-M. von Knebel Doeberitz. Papillomaviruses in Human Disease: Part I. Pathogenesis and Epidemiology of Human Papillomavirus Infections. Medical Intelligence. Vol 1 No 7. November1992.

2.- Richman, D.; Whitley, R.; Hayden, F. Papillomavirus. Clinical Virology. Churchill Livingstone Inc. 569-579.1997
3.- Zur Hausen. Et AL. Papillomavirus infections and human genital cancer. Gynecol Oncol.12:124-8. 1981

4. Zur Hausen, H,; Schneider, A. The role of papillomaviruses in human anogenital cancer. The Papovaviridae, vol 2. New York: Plenum Press, 1987: 245-263

5.-Zur Hausen, H,; Schneider, A. The role of papillomaviruses in human anogenital cancer. The Papovaviridae, vol 2. New York: Plenum Press, 1987: 245-263

6.-Bauer, H.; Hildesheim, A.; Schiffman, M. et al. Determinants of genital human papillomavirus infection in low-risk woman in Portland, Oregon. Sex Transm Dis. 20:274, 1993.

7.- Bosch, F.; Manos, M.; Muñoz , N. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: A worldwide perspective. J Natl Cancer Inst. 87:796, 1995

8. Sellors J, Lorincz A, Mahony J, et al. Comparison of self-collected vaginal, vulvar and urine samples with physician-collected cervical samples for human papillomavirus testing to detect highgrade

squamous intraepithelial lesions. Canadian Medical Association Journal 163(5):513–518 (September 2000).

9.- Bosch FX, Rohan T, Schneider A, et al.Papillomavirus research update: highlights of the Barcelona HPV 2000 international papillomavirus conference. Journal of Clinical Pathology 54(3):163–175 (March 2001).

10. Dzuba IG, Diaz EY, Allen B, et al. The acceptability of self-collected samples for HPV testing vs. the Pap test as alternatives in cervical cancer screening. Journal of Women's Health and Gender-based Medicine 11:265–275 (2002).

11.- Ley, C.; Sauer, HM.; Reingold, A. Determinants of genital human papillomavirus infection in young women. J Natl Cancer Inst 83: 997,1991

12.- Martinez, A.; Nás, R.; La Cruz, C.; Hellín, T.; Tercero, JC.; Valverde, E.; Alemany, J. Detección y Tipado de papilomavirus humano por amplificación genómica en biopsias, frotis y orina. Acta Ginecológica, Vol.LII, Pág 51. 1995

13.- Correnti M, Cavazza M.E, Lozada C, Alfonso B. La infección por el VPH: Un Problema de Salud Pública en Venezuela. VITAE Nº 13. pp 1 – 10. Octubre – Diciembre, 2002.

caibco.ucv.ve/Vitae/VitaeTrece/Portada/homevitae Revista electrónica arbitrada. Vemezuela. Ciencias de la vida. virología

14.- Zur Hausen. Et AL. Papillomavirus infections and human genital cancer. Gynecol Oncol.12:124-8. 1981

15.- Bosch, F.; Manos, M.; Muñoz , N. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: A worldwide perspective. J Natl Cancer Inst. 87:796, 1995

16.- J. Thomas Cox. Papel clínico de las pruebas de virus del papiloma humano. Clínicas de Ginecología y Obstetricia. Temas Actuales. Virus Papiloma Humano, Parte II. McGRA-HILL. Interamericana. Volumen 4;745-783.1996

17.- Attila T. Lorincz. Métodos moleculares para la detección de infección por virus del papiloma humano. Clínica de Ginecología y Obstetricia. Temas Actuales. Virus Papiloma Humano, Parte I. McGRAW-HILL. INTERAMERICANA. Volumen 4;745-783. 1996

18.-Bauer, H.; Ting, Y.; Greer, C.E, et al. Genital human papillomavirus infeccion in famale university students as determined by a PCR-Base method. JAMA 265: 472,1991.

19.- Moscicki, AB.; Hills, N.; Shiboski, S.; Powell, K.; Jay, N.; Hanson, E.; Miller, S.; Clayton, L.; Farhat, S.; Broering, J.; Darragh, T.; Pale J. Risks for incident human papillomavirus infection and low-grade

squamous intaepitelial lesion development in young females. JAMA 2001. Jun 20; 285(23): 2995-3002.

20.- Dawar M, Deeks S, Dobson S. Human papillomavirus vaccines launch a new era in cervical cancer prevention. CMAJ.2007;177:456-60.

21.- ECRI Institute. Evidence Report: Human papillomavirus (cervical cancer) vaccines. Plymouth: ECRI Institute; 2007.

22.- Alvárez-Dardet C, Márquez Calderón S, González López-Valcarcel B,Artazcoz L, Taboada L, Hernández-Aguado I, et al. Razones para no decidir con prisas. El País. 6 noviembre 2007; sección Sociedad Salud (p. 46).