

## Avances en el diagnóstico del cáncer de cervix

El examen de Papanicolaou ( Pap) sigue siendo el examen de detección básico de los programas de control de cáncer de cervix a la fecha. Consiste en el análisis al microscopio de las células tomadas sistemáticamente del cuello uterino y se evalúan los cambios morfológicos debidos a procesos de enfermedad, en busca de alteraciones cancerosas o precancerosas(1). La tinción Original fue descrita por el Medico griego George Nicolas Papanicolaou quien realizó citologías exfoliativas a su esposa, mujeres embarazadas, niñas, pacientes climatéricas, con menopausia y con otras entidades, para publicar “El ciclo sexual en la mujer humana mostrado por frotis vaginales”, en el Journal of Anatomy en 1933.(2)

La identificación precoz del cáncer de cervix es de gran importancia, ya que es curable en estadios tempranos. Con la introducción el frotis de Papanicolaou como método de tamisaje en la detección del cancer de cervix, la incidencia y mortalidad han disminuido significativamente a nivel mundial, particularmente para las mujeres de los países desarrollados, sin embargo para los países en vías de desarrollo el cáncer de cervix continúa como un importante problema de salud en la mujer. En Costa Rica, este tipo de cáncer ocupa el tercer lugar de incidencia en el sexo femenino, superado únicamente por el cáncer de piel y el de mama (3)

El Pap tradicional no es un examen diagnóstico perfecto, varios estudios clínicos señalan una sensibilidad que ligeramente supera el 50%. Un examen ideal tiene una alta sensibilidad (identifica una alta cantidad de los

individuos enfermos) y una alta especificidad (tiene pocos falsos positivos). En un meta análisis realizado en Estados Unidos de Norte América, la Agency for Health Care Policy and Research ( AHCPH) estimó la sensibilidad del Pap en 0.51 ( intervalo de confianza de 95%: 0.37-0.66) y la especificidad en 0.98 ( intervalo de confianza de 95%: 0.97-0.99) (4). Incluso si el examen de papanicolaou tiene una baja sensibilidad, la sensibilidad acumulada de varios exámenes desarrollados dentro de un periodo, es alta. El cancer cervical progresa lentamente desde la etapa de lesiones precancerosas hasta la etapa d lesiones cancerosas. Si en un examen de Pap no se detecta una anomalía ya sea por error de muestreo o error del laboratorio de citología, en la mayoría de los casos sería detectado a tiempo en el examen de Pap siguiente si la mujer se practica regularmente el examen, asumiendo que se cumplen estándares aceptables en la recolección de muestras y desempeño del laboratorio de citología. En el informe de la AHCPH se señala que los dos mayores componentes del porcentaje de exámenes de Papanicolaou falsos negativos se relaciona con el error en la toma de la muestra y con el error de detección. Dos tercios de los falsos positivos resultan del error de muestra y el tercio restante es debido a error de detección (4). Algunas fuentes de error son: la incapacidad evaluar el frotis completo por que está muy grueso u obscurecido por inflamación severa, sangre o sobreposición celular, el error en la evaluación microscópica por el Citotecnólogo o por el Patólogo en donde intervienen factores como el tiempo, fatiga y concentración y finalmente otra causa de falsos negativos es el porcentaje de células transferidas a la laminilla en un frotis convencional que varía del 6.5% al 62%.

Vivimos en una época de crecimiento exponencial del conocimiento y en los últimos años se han desarrollado nuevos métodos para la prevención, diagnóstico y tratamiento del cáncer del cuello uterino, tales como: citología en medio líquido, citodiagnóstico asistido por computadora, detección molecular de infección por virus del papiloma humano (VPH) tipo oncogénico, creación de vacunas preventivas, entre otros.

### **CITOLOGIA EN BASE LIQUIDA**

También conocido como Citología de Monocapa, contribuye de manera significativa a reducir el problema de falsos negativos por una mala muestra asociado al Papanicolaou convencional ya que incluso las tecnologías más recientes como lo es el tamisaje asistido por computadora se ve afectado si el frotis es grueso o está obscurecido por sangre. Entre las ventajas de la monocapa se puede citar:

- 1) La muestra obtenida es más representativa del área que nos interesa estudiar, reduciendo las muestras no satisfactorias por ausencia de células endocervicales.
- 2) La fijación de las células es inmediata por lo que no hay cambios secundarios a desecación celular que dificulten su estudio.
- 3) Todas las células obtenidas con el cepillo pueden ser estudiadas y no se pierde material celular.
- 4) En la laminilla obtenida para su evaluación las células se disponen en una sola capa sin superposición ni artefactos que dificulten su estudio como moco, detritus celulares y glóbulos rojos, lo que facilita su evaluación por el Citotecnólogo o Patólogo.

5) Se conserva el resto de las células obtenidas durante la toma en el frasco con el medio conservador, que permite hacer más preparados para su estudio o la realización de otros estudios de diagnóstico especial, sin necesidad de realizar una nueva.

6) Incremento en hasta un 64.4% en la detección de lesiones precursoras del Cáncer de Cérvix, comparado con el método convencional de Papanicolaou.

Dos tipos de tecnología para la Citología en base líquida aprobados por la FDA siglas en inglés de la Agencia Federal que en Estados Unidos de Norte América, regula alimentos, drogas y pruebas de laboratorio son: SurePath (Tripath Imaging Inc., Burlington, NC) y Thinprep Papispositivos medicosp Test (Cytoc Corporation, Boxborough MA).

### ***SUREPATH®***

Es un método de Papanicolaou basado en un medio líquido. A diferencia del Papanicolaou convencional, donde la espátula o el cepillo se frota sobre la laminilla para extender el frotis, en este caso se usa un cepillo el cual es desprendible que se enjuaga en el vial con el líquido fijador, el cual es enviado para su estudio al laboratorio de citopatología.

El líquido fijador junto con las células que flotan en el mismo son agitados en un vortex y mezclados para crear una suspensión celular a la cual se le agrega un medio de densidad. Luego la mezcla es centrifugada para remover el moco, detritus y células inflamatorias. Posteriormente es transferido el contenido a cámaras de sedimentación montadas en laminillas en donde se deposita una película de la suspensión celular en forma de monocapa en un círculo de 13 mm de diámetro. Las laminillas son teñidas posteriormente. La suspensión celular residual puede ser utilizada para

preparar más laminillas o para realizar estudios adicionales como pruebas de Acido desoxiribunocleico (DNA) para virus del papiloma humano (VPH).

### ***THINPREP®***

El instrumento para tomar la muestra puede ser espátula (no de madera) o cepillo y se agita vigorosamente en el medio conservador. Luego el vial conteniendo la muestra suspendida en el medio líquido es colocado en el equipo procesador. En este equipo, un ciclo dispersor mezcla el espécimen y degrada la sangre, moco y detritus, posteriormente la muestra es pasada a través de filtros mediante pulsos de presión negativa generados por un sistema neumático, que produce una delgada capa de material celular depositado sobre el filtro el cual es transferido a la laminilla que es colocada en un baño fijador para posteriormente ser teñido. El resultado de este proceso es una laminilla que contiene un círculo de material diagnóstico de 20 mm de diámetro. Comparado con el Pap convencional, la laminilla del ThinPrep es fácil de analizar, en un menor tiempo de observación, además de conservar material celular para preparar más laminillas, o realizar otros estudios adicionales como análisis de DNA para VPH o pruebas para Gonorrea o Chlamydia.

Existen numerosos estudios comparativos entre la citología en medio líquido y el Pap convencional, estos han demostrado una mejor calidad del espécimen con el método de medio líquido y una mayor capacidad para identificar lesiones displásicas. Las muestras inadecuadas en ambos métodos difieren entre un método y otro, por ejemplo para la citología convencional las causas más comunes por las que una muestra es inadecuada son: desecación al aire, obscurecimiento por inflamación, sangre o exceso de moco; mientras

que en los frotis en medio líquido la causa más común de muestra inadecuada es la ausencia de células endocervicales. Se han publicado múltiples estudios clínicos que demuestran mayor capacidad de la citología de Base Líquida y sobre el Pap convencional para detectar displasias. Monsonego et al evaluaron 5248 mujeres comparando el Papanicolaou convencional con el sistema de monocapa de ***THINPREP®*** y encontraron que el sistema de monocapa diagnosticó 29% más células escamosas atípicas que el método convencional, 50% más lesiones de bajo grado que el convencional y 18% más lesiones de alto grado que el Papanicolaou convencional. Sumando las lesiones de bajo grado, alto grado y Cáncer la monocapa identificó 39% más lesiones que el Pap convencional, lo cual resultó estadísticamente significativo ( $P < 0.001$ ).

En conclusión la Citología de Monocapa es un método muy bueno que mejora el desempeño del Papanicolaou convencional en el diagnóstico precoz del Cáncer de Cérvix, con una muestra bien fijada y de mucho mejor calidad facilitando su estudio por el Patólogo o Citotecnólogo y que disminuye en forma importante la incidencia de frotis no satisfactorios, falsos negativos, falsos positivos así como incrementando la sensibilidad para la detección de lesiones cervicales de bajo y alto grado

### **DETECCION DE ADN DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO**

Ampliamente estudiada y establecida es la relación entre el Virus del Papiloma Humano (VPH) y el desarrollo de cáncer del cuello uterino. Se han encontrado secuencias de ADN del virus del papiloma humano en el ADN de la célula maligna (99.7% de prevalencia en Cáncer de Cérvix en el mundo entero) y de estos casos el 70% corresponden a los tipos 16 y 18 del

VPH). Existen más de 100 subtipos de VPH, de los cuales los subtipos 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,68,73 y 82 se consideran de alto riesgo para el desarrollo de Cáncer de Cérvix, mientras que los subtipos: 6,11,40,42,43,44,54,61,70,72 y 81 se consideran de bajo riesgo para el desarrollo del Cáncer de Cérvix

En la actualidad se dispone de diferentes pruebas para la identificación del ADN viral: como la Captura de híbridos, Hibridación in situ, PCR, Inmunohistoquímica. En Costa Rica los métodos mas utilizados son Captura de híbridos y PCR.

El Hybrid Capture 2 HPV DNA Test (HC2) para el tamisaje Cervical primario, es una prueba de hibridación de ácidos nucleicos in vitro con amplificación de señal usando quimiluminiscencia en microplaca para la detección cualitativa del virus del papiloma humano, detecta los tipos de alto riesgo y de bajo riesgo ; En esta prueba se utiliza la muestra obtenida mediante cepillado cervical y colocada en un vial conservador (kit provisto por el laboratorio), aunque se puede utilizar el mismo vial de la Citología en Base Líquida (ThinPrep o SurePath) y en el procedimiento técnico se libera el DNA celular de las células epiteliales cervicales, se le agregan las sondas de ácido ribonucleico con las secuencias conocidas correspondientes a los tipos de VPH y si existen secuencias de DNA del VPH, se unen formando los híbridos DNARNA, posteriormente se agregan anticuerpos con un marcador enzimático, que reconocen a estos híbridos DNA-RNA a los que se une, se agrega un substrato quimiolumincente y la luminiscencia producida es detectada y cuantificada.

Aunque menos específica que la citología, el test de detección del VPH de alto riesgo, fue aprobado inicialmente para ser usado como

herramienta en el tamisaje posterior al resultado del papanicolaou para identificar mujeres con mayor riesgo y que necesitan un mayor seguimiento. Posteriormente los resultados de ensayos clínicos con el uso combinado del Papanicolaou y la detección de ADN del VPH, utilizados simultáneamente. Confirman que mas lesiones precancerosas son detectadas con el método combinado que el Pap solamente (5).

### **CITODIAGNOSTICO ASISTIDO POR COMPUTADORA.**

El sistema automatizado de ThinPrep revisa todas las laminillas con los frotis de Papanicolaou (procesados mediante el sistema de monocapa ThinPrep) previo a la revisión por el Patólogo o Citotecnólogo, localizando 22 campos de visión para cada laminilla, reduciendo la cantidad de área de la laminilla a revisar, lo que se traduce en un menor tiempo de revisión, mas productividad y mejora en el desempeño. TriPath Imaging tiene un para realizar Screening de la Citología Cervical. Este equipo identifica más del 25% de todas las laminillas procesadas que requieren mayor revisión y al menos un 15% de todas las laminillas procesadas que requieren una revisión manual y este equipo está preparado para revisar tanto laminillas de Pap convencional como de monocapa y se encuentra diseñado para detectar células de carcinoma escamoso o de Adenocarcinoma y sus condiciones precursoras.

### **REFERENCIAS**

1. Organización panamericana de la salud. Manual de procedimientos para laboratorios de citología. 2002.

2. Papanicolau GNM. The sexual cycle in the human female as revealed by vaginal smear. American Journal of Anatomy 1933;52:519-637.

3. Sánchez M, Vargas R, Muñoz. Incidencia y mortalidad del cáncer en Costa Rica 1997. San José: Ministerio de Salud, 2002. pp. 27.

4. URL <http://hstat.nlm.nih.gov/ftrs/tocview>. Evaluation of cervical cytology. Evidence Report/Technology.

5. Leiononen M, Nieminen P et al. J Natl Cancer Inst. 2009 Dec 2;101 (23):1612-23.

6. Rusell Jennifer, DO, Crothers Barbara, DO, Kaplan Keith, MD, Zahn Christopher M, MD. Current Cervical Screeening Technology Considerations: Liquid-Based Cytology and Automated Screening. Clinical Obstetrics and Gynecology. 2005; 48: 108-119.

7.- Valdespino Victor M, Valdespino Victor E. Cervical cancer screening: state of the art. Current Opinion In Obstetrics and Gynecology. 2006; 18:35-40.

8.- Muñoz Nubia, Bosch Xavier, de San Jose Silvia, Herrero Rolando. Epidemiologic Classification of Human Papilomavirus Types Associated with Cervical Cancer. N Engl J Med. 2003; 348: 518-527.

9.- Cox J. Thomas. The development of Cervical Cancer and its precursors: What is the role of human papillomavirus infection?. Curr Opin Obstet Gynecol 2006 18 (supl 1): S5-S13 Lippincot Williams and Wilkins.

10.- <http://www.thinprep.com/innovations/imagesys.html>

11.- [http://www.triathimaging.com/us\\_sp.htm](http://www.triathimaging.com/us_sp.htm)