



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL ESPAÑOL DE MÉXICO

**CORRELACIÓN MORFOLÓGICA, COLPOSCOPICA
Y POR INMUNOHISTOQUÍMICA PARA VPH
Y PROTEÍNA P16 EN LAS LESIONES CERVICALES**

TESIS DE POSGRADO

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:

GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

PRESENTA:

DR. EDGAR OMAR COLÍN LICEA

ASESOR DE TESIS:

DR. SERGIO PEDRAZA BARAJAS



HOSPITAL ESPAÑOL

MÉXICO, D. F.

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Autorizaciones

Dr. Alfredo Sierra Unzueta.

Jefe de Enseñanza.

Dr. Sergio Pedraza Barajas.

Adscrito al Servicio de Ginecología y Obstetricia

Asesor de Tesis.

Dr. Xavier Aguirre Osete

Jefe del Departamento de Ginecología y Obstetricia.

Dr. Manuel Álvarez Navarro

Profesor Titular del curso.

Agradecimientos

Gracias Mamá y Papá, no existirá una forma de agradecer una vida de lucha y superación constante, gracias por enseñarme que todo esfuerzo tiene frutos, que no hay sueño imposible, por la paciencia que me tuvieron todos estos años, por vivir junto a mi las guardias. Por ser quienes son para mí.

Gracias Rosalba, hermanita por soportarme y a pesar de todo siempre apoyarme.

Gracias a mis tíos y primos, a toda la familia gracias por dejarme ser parte de ustedes, gracias por todas sus porras y cariño.

Gracias abuelos porque desde el cielo han cuidado mis pasos y me han permitido formar parte de la mejor familia.

Gracias a mis amigos que han sido una familia para mí, han sido un ejemplo, por ser ese motor que me saco adelante en muchas ocasiones, por todo ese cariño que me han dado, pero sobre todo por confiar en mí por creer que un día podríamos alcanzar este sueño. Gracias por caminar junto a mi todos estos años.

Gracias a mis maestros que me han dado las herramientas para salir adelante, por haber compartido conmigo sus experiencias, por detenerse y tomarse el tiempo para enseñarme.

Gracias a mis compañeros residentes e internos por su apoyo en las guardias por soportarme todos estos años y por dejarme ser parte de su vida.

Gracias a Dios por haberme dado el entendimiento, la fuerza y la salud, por permitirme hacer lo que me gusta.

Dedicada

A todos los que han formado parte de este sueño.

ÍNDICE

Antecedentes	1
Hipótesis	13
Objetivo	13
Material y Método	14
Resultados	15
Conclusiones	20
Referencias	23

Correlación morfológica, colposcópica y por inmunohistoquímica para VPH y proteína p16 en las lesiones cervicales

Dr. Edgar Omar Colin Licea*, Dr. Sergio Pedraza Barajas**, Dra. Alejandra Zarate Osorno****

Antecedentes

El desarrollo de la colposcopia (Hinselmann, 1925) y la citología (Papanicolaou, 1943) permitió identificar en la clínica los cambios epiteliales que preceden al carcinoma de cuello uterino. La posterior difusión del cribado citológico, al detectar las lesiones premalignas y el carcinoma microinvasivo, posibilitó el diagnóstico precoz del cáncer cervical en grandes masas de población, con la consiguiente disminución en su incidencia y mortalidad. Para ello es necesario seguir todos los pasos del programa de prevención secundaria del cáncer de cuello, que incluye, además de identificar a las mujeres con citología anormal, proceder a su diagnóstico, tratamiento y seguimiento. (20)

En la última década se ha confirmado la relación etiológica entre la infección por ciertos genotipos del virus del papiloma humano (VPH) y el cáncer de cuello uterino. Esta relación ha sido reconocida como causal y necesaria, si bien no suficiente, para el desarrollo del cáncer de cérvix y su precursor inmediato, la lesión cervical intraepitelial de alto grado (HSIL). Los incesantes avances generados a partir del reconocimiento de la etiología vírica del cáncer de cuello están replanteando muchos de los protocolos clínicos para su prevención. (20)

El concepto de lo que se deben considerar cambios premalignos del epitelio cervical, así como su terminología, han evolucionado al avanzar los conocimientos sobre su etiología, patogenia e historia natural aportados por los estudios tanto básicos y epidemiológicos como clínicos. Inicialmente se reconoció el carcinoma in situ y en la década de los cincuenta se añadieron los cambios epiteliales menos acusados denominados displasias (leve, moderada y grave o severa). La demostración de alteraciones biológicas similares en algunas displasias y el carcinoma in situ condujo, a principios de los setenta, a la introducción del concepto unificador de neoplasia cervical intraepitelial (CIN, del inglés Cervical Intraepitelial Neoplasia), clasificada en tres grados: CIN I, CIN II y CIN III. Esta terminología se emplea habitualmente en la actualidad para el diagnóstico histológico. En 1989 se propuso el sistema de terminología de Bethesda para la citología, ligeramente modificado en 2001, que incluye los cambios citopáticos producidos por la infección cervical por el virus del papiloma humano (VPH). (20)

En el sistema Bethesda se sustituye el término de neoplasia por el de lesión escamosa intraepitelial (SIL, del inglés Squamous Intraepithelial Lesión), con dos categorías: bajo grado (LSIL, del inglés Low-grade SIL) y alto grado (HSIL). (20)

TABLA 1. Clasificación de las lesiones premalignas del cuello

Reagan, 1956	Richart, 1968	Bethesda, 1989
Leve	Infección por VPH	SIL bajo grado
Displasia Moderada	CIN I	(LSIL)
Grave	CIN II	SIL alto grado
Carcinoma in situ	CIN III	(HSIL)

Muchos estudios han mostrado que la infección por VPH juega un papel importante en la carcinogénesis del cáncer cervico-uterino, de hecho la infección por virus del papiloma humano ha sido detectada en casi todas las lesiones neoplásicas y preneoplásicas del cérvix. VPH 16 y 18 son virus de alto riesgo y son los subtipos más importantes clínicamente, VPH 31, 33, 35, 51, 52 y 58 son asociados con riesgo intermedio para el desarrollo de cáncer cervico-uterino y lesiones escamosas intraepiteliales de alto grado y VPH 6 y 11 son subtipos clasificados de bajo grado y son normalmente asociados lesiones, hiperplasias benignas como condilomas acuminados y lesiones escamosas intraepiteliales de bajo grado. (7)

El cáncer cervico-uterino representa del 10-12% de todas las neoplasias en mujeres, siendo en México la neoplasia más frecuente en mujeres. La principal prueba de tamizaje para la detección del cáncer cervico-uterino es la citología vaginal, técnica desarrollada por G. Papanicolaou y que lleva el mismo nombre. Aunque ha tenido gran importancia en el estudio de esta patología, hay una cantidad substancial de falsos positivos y falsos negativos. La detección de VPH en células epiteliales de una paciente, se ha realizado con PCR por los últimos 20 años. (8)

En los últimos años, un número grande de investigadores, se han dado a la tarea de trabajar con la proteína p16, como un posible marcador de displasia y lesiones neoplásicas cervicales. (3, 4, 8, 9)

Esta proteína pertenece a un grupo de inhibidores de la Cinasa dependiente de Ciclina, y la cual es codificada por el gen INK4A, que forma parte de la vía reguladora del ciclo celular Cdk-Rb-E2F. (3, 4, 5, 6, 7, 8, 11)

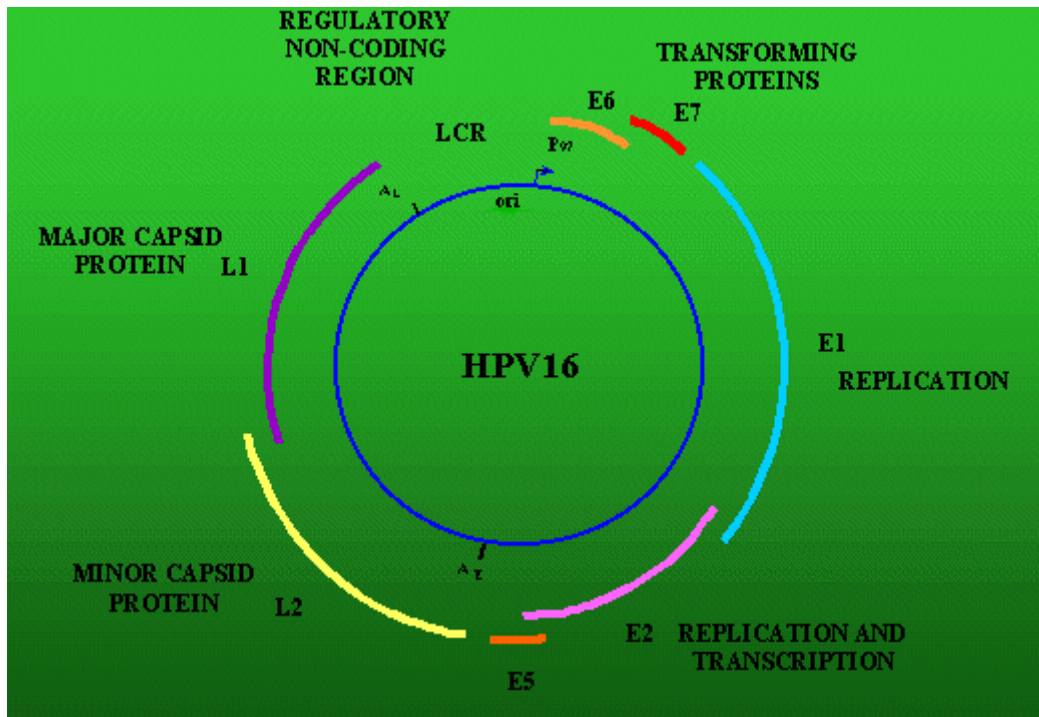
El virus del papiloma humano es una de las causas más comunes de infecciones de transmisión sexual, tanto en hombres como en mujeres y se considera la infección de transmisión sexual, de origen viral, mas frecuente en los Estados Unidos. La incidencia se ha estimado entre 1 a 5.5 millones por año, y la prevalencia se considera tan alta como 20 millones de personas infectadas. El VPH se ha detectado en una gran variedad de animales. Se han encontrado mas de 200 tipos de VPH, basándose en su DNA y en sus diferencias genómicas. Los diferentes tipos de VPH infectan los epitelios basales de la piel o mucosas, y se dividen en cutáneos y epiteliales. Los tipos cutáneos son epidermotropicos y afectan la piel de las manos y los pies. Los tipos epiteliales afectan boca, garganta, tracto respiratorio y epitelio ano-genital. Basándose en su asociación con el cáncer cervico-uterino, se pueden dividir en: alto riesgo (16, 18, 31, 33, 34, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 70) o bajo riesgo (6, 11, 42 y 43). El VPH se asocia a un gran numero de patologías que van desde las verrugas comunes, hasta el cáncer. La asociación entre infección por VPH y cáncer cervico-uterino fue descrita a principios de los 80 por Harold zur Hausen. (12)

El VPH es miembro de la familia *Papovaviridae* que incluye además a los Poliomavirus. Es un virus relativamente pequeño, de 55nm de diámetro, tiene una capsida icosaedrica con 72 capsomeros. Su genoma consiste en una sola cadena de DNA con aproximadamente 7,900 pares de bases. La transmisión se da principalmente por

contacto directo piel con piel, el riesgo principal de contraer infección genital esta dado por la actividad sexual. Puede ocurrir transmisión vía fómites, como ropa contaminada. Otros factores de riesgo incluyen: múltiples compañeros sexuales y actividad sexual temprana, la infección es mas común en mujeres jóvenes de entre 18 y 30 años de edad, debido a que el lugar donde la infección reside en el cérvix es la unión endocervical, que esta claramente definida en las mujeres de edad reproductiva. (12)

Además de la infección por VPH, la sobre infección por otros virus como CMV o Herpes virus, es un factor de riesgo para el desarrollo de cáncer, así como estados de inmunosupresión y el tabaquismo. La infección por VPH lleva a 3 posibles escenarios: condiloma acuminado, que se asocia a los virus de bajo riesgo (6, 11); un estado latente asintomático, y la infección activa por los grupos de alto riesgo que resulta en neoplasia intraepitelial. El virus penetra en la célula, se dice que se necesita microtrauma en los tejidos para que dicha penetración sea posible. La fijación se da por medio del Heparan Sulfato. Dentro de la célula, el virus se duplica, mediante las copias de su DNA, y mediante la transcripción de los genes E6 y E7, estos producen inactivación de los genes tumor supresor y sus derivados. El crecimiento celular es regulado por dos proteínas celulares p53 (un tumor supresor) y la proteína Rb. La proteína viral E6 se fija a p53, causando que sus propiedades de supresión tumoral se pierdan. La proteína E7 se fija a la proteína Rb, causando su separación del factor de transcripción E2F-1, causando su liberación, lo que facilita a la célula a entrar a fase S del ciclo celular. El resultado es la estimulación del ciclo celular que produce proliferación tisular. (12)

Estructura VPH



Décadas de estudios han confirmado que la infección cervical por VPH de alto riesgo es un evento previo al cáncer cérvico-uterino. La lesión progresa desde la infección a neoplasia intraepitelial de bajo grado NIC1, NIC2, NIC3 y carcinoma invasor. Las herramientas principales para el diagnóstico son la citología vaginal y el estudio histológico. El test de Papanicolaou es una prueba que analiza los cambios en las células de la unión cilíndrico-escamosa y se reporta como: negativo para lesión, células atípicas, lesión intraepitelial de bajo grado, lesión intraepitelial de alto grado y carcinoma invasor. Actualmente se están estudiando otros marcadores de enfermedad, debido al alto grado de falsos positivos y falsos negativos del test de Papanicolaou. La inmunohistoquímica con detección de p 16 es uno de ellos, y es el que se aborda en este trabajo. (12)

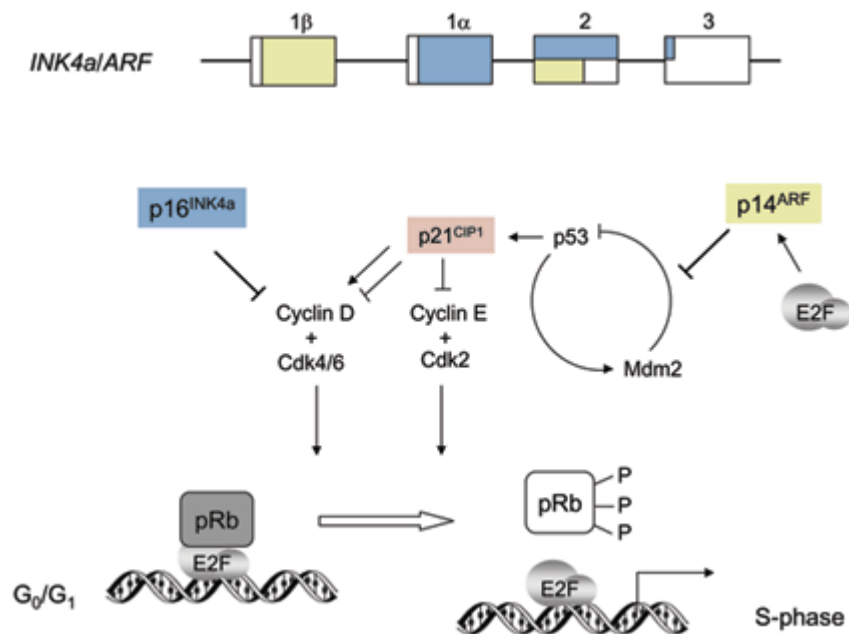
En 1993 y 1994, dos líneas de investigación convergieron en un nuevo gen supresor tumoral, ubicado en 9p21. (11)

Este gen llamado INK4A, codifica para 2 proteínas diferentes p16 y p19, ambos, son potentes supresores tumorales que regulan la actividad de la proteína del Retinoblastoma (Rb) y del factor de transcripción p53 respectivamente. Estas proteínas son parte de una red de señalización que se encuentra bloqueada en casi todos, sino en todos, los tipos de neoplasias. El locus de INK4A responde a señales de stress, limitando la proliferación celular y modulando la apoptosis inducida por proto-oncogenes. (11) Ilustracion 1.

La pérdida de la función de INK4A, Rb y p53, ocurre frecuentemente en los cánceres, de lo cual se infiere que las alteraciones en estas vías son necesarias para que una célula normal, se convierta en una célula tumoral. El factor de transcripción E2F coordina genes, cuya función combinada promueve la entrada a la fase de replicación de DNA (S) del ciclo celular. Uniéndose a los factores E2F, los miembros de la familia Rb, reprimen sus acciones proliferativas. La fosforilación de Rb por las cinasas dependientes de ciclina, impide su unión a E2F, permitiendo que éste realice su actividad de proliferación celular. P16, inhibe a las cinasas dependientes de ciclina, manteniendo la unión Rb-E2F, por medio de esta acción, ejerce su efecto supresor tumoral. (8, 5, 11, 13, 15)

La producción de p16 es regulada por la actividad de Rb, así, en ausencia de Rb, como sucede en algunos tipos de cáncer, especialmente el cérvico-uterino, la producción de p16 no tiene contra regulación y ésta se acumula en grandes cantidades, por lo que se observa al realizar inmunohistoquímica de tejidos neoplásicos, como se expondrá en la siguiente sección. Las alteraciones en el gen INK4A pueden ser: deleciones homocigotas, mutaciones puntuales, o hipermetilación del gen, ésta última, parece ser la más importante y la que explica el daño genómico cuando no se encuentran mutaciones en la información genética. (3, 5, 6, 11)

Ilustración 1



En los últimos años, varios grupos de investigadores, han investigado a la proteína p16, como un posible marcador suplementario para las lesiones del epitelio cervical. Esta proteína pertenece a los inhibidores de la Cinasa dependiente de ciclina y está codificada por el gen INK4A en el locus 9p21. Esta proteína juega un rol importante en la vía Cdk-Rb-E2F. (8,9)

Como se explicó anteriormente. p16, previene la fosforilación de la proteína Rb inhibiendo a las cinasas dependientes de ciclina, Rb continua uniéndose a E2F y la célula permanece en la fase G1 del ciclo celular. En varios tipos de tumores, incluido el cáncer cérvico-uterino, el gen sufre deleción homocigoto, se inactiva por mutaciones puntuales o sufre hipermetilación. (5, 6, 8,11)

Es una particularidad del VPH y su proteína E7, unirse a la proteína Rb e inactivarla. Como resultado, la vía reguladora Cdk-Rb-E2F, se altera y el estado de el gen INK4A y su proteína p16 pierde relevancia para la célula, permitiendo que esto pase de la fase G1 a la fase S y se duplique. Al perderse la función de regulación negativa de Rb sobre p16, por alteración en el gen INK4A, la producción de p16 se incrementa y ésta proteína puede ser identificada por medio de inmunoanálisis, como se ha hecho en diversos estudios. (8, 9, 10,13)

En un estudio realizado por Volgareva et al., se utilizó un anticuerpo monoclonal sobre 197 muestras embebidas en parafina. Se examinaron 197 muestras en total, que incluían epitelios normales, biopsias con distintos grados de neoplasia intraepitelial y

muestras con cáncer invasor. No se encontraron células positivas a p16 en los controles. Se encontró sobreexpresión de p16 en muestras con neoplasia intraepitelial y en muestras con cáncer invasor, y la expresión de p16 fue mayor, mientras mayor fue el grado de la lesión. Concluyeron que la sobreexpresión de p16 es típica de las displasias y neoplasias del epitelio cervical, aunque existen neoplasias p16 negativas, por lo que el dato de sobreexpresión de p16 no se puede tomar en cuenta para excluir a un paciente de encontrarse en alto riesgo de desarrollar cáncer invasor. (8)

Otro estudio, por Murphy et al. (9), tuvo como objetivo examinar el potencial de p16 como un biomarcador para las células displásicas del cervix. Se realizó inmunohistoquímica a 155 muestras, que incluían muestras normales, muestras con distintos grados de neoplasia intraepitelial, y muestras con carcinoma invasor. La intensidad del tinte se dio en una escala del 0 al 3. La presencia de VPH se documentó por PCR. La inmunorreactividad fue negativa en todas las muestras normales. La presencia de p16 se encontró en todas las muestras con neoplasia intraepitelial de grado I y II. Todas las muestras positivas para VPH fueron positivas para p16, no así todas las muestras positivas para p16 fueron positivas para VPH. Concluyeron que este patrón de expresión de p16, indica el uso potencial de p16 como un marcador diagnóstico del carcinoma de células escamosas del cervix. Se han realizado estudios con otros marcadores, por ejemplo: Castie et al. (1) midieron la expresión de las proteínas Heat Shock, encontrando una alta relación entre la HSP40 y p16. Las proteínas de respuesta al estrés es un mecanismo de adaptación para mantener la supervivencia celular. (1)

En respuesta a estrés endógeno y exógeno, la expresión de proteínas con respuesta de protección, dentro de estas se incluyen las llamadas heat shock proteins (HSPs), están alteradas y típicamente elevadas. Ahora hay evidencia que las HSPs pueden estar alteradas en respuesta a la carcinogénesis, por ejemplo se ha reportado que HSP60 y HSP90 tienen una menor expresión en cáncer de vejiga. Un aumento en la expresión de HSP27 ha sido sugerido como biomarcador en el pronóstico del cáncer de ovario. Existen reportes de una elevada expresión de HSP 60 y HSP70 con severidad en lesiones cervicales y un reporte de detección positiva de HSP70 por inmunohistoquímica en el 73% de los casos de cáncer. En este estudio se tomo una muestra de tejido cervical en parafina diagnosticado como normal (30), neoplasia intraepitelial cervical I (NIC I) (32) y NIC 3, a estas muestras se les realizo inmunohistoquímica y se gradúo la intensidad como 0 (no expresión), 1 (débil), 2 (moderado) y 3 (alta). Los resultados de este estudio correlación la expresión de de HSP con el grado de severidad de la neoplasia, los resultados de la inmunohistoquímica reportan un incremento en los valores de p16 en relación con un aumento en la severidad de las lesiones ($P < 0.0005$), así también se observo una fuerte tendencia al incremento en los valores con un aumento en la severidad de las lesiones para HSP40, HSP60 y HSP70. La HSP40 se relaciona más fuertemente con la progresión de infección por VPH a cáncer junto con la proteína p16. (1)

Meschede et al. Realizaron inmunohistoquímica sobre las proteínas tempranas del VPH (E6 y E7) y encontraron que el alto nivel de asociación entre los anticuerpos contra E6 y E7 con la enfermedad y la ausencia de los mismos en la población sana,

sugiere que E6 y E7 no se expresan en la infección latente, y son marcadores de progresión de la enfermedad y de infección activa. Diversos investigadores continúan realizando estudios acerca de la posible utilización de p16 como marcador de actividad del cáncer cérvico-uterino, en esta revisión, los estudios concluyeron que las muestras con algún grado de lesión muestran sobreexpresión de p16, y las muestras de pacientes sanos, no han encontrado marcaje de p16, por lo que existe una fuerte asociación entre enfermedad e inmunohistoquímica positiva para p16. (2)

Hipótesis

La proteína p16 es un biomarcador suplementario útil en las lesiones del epitelio cervical en pacientes del Hospital Español.

Objetivo

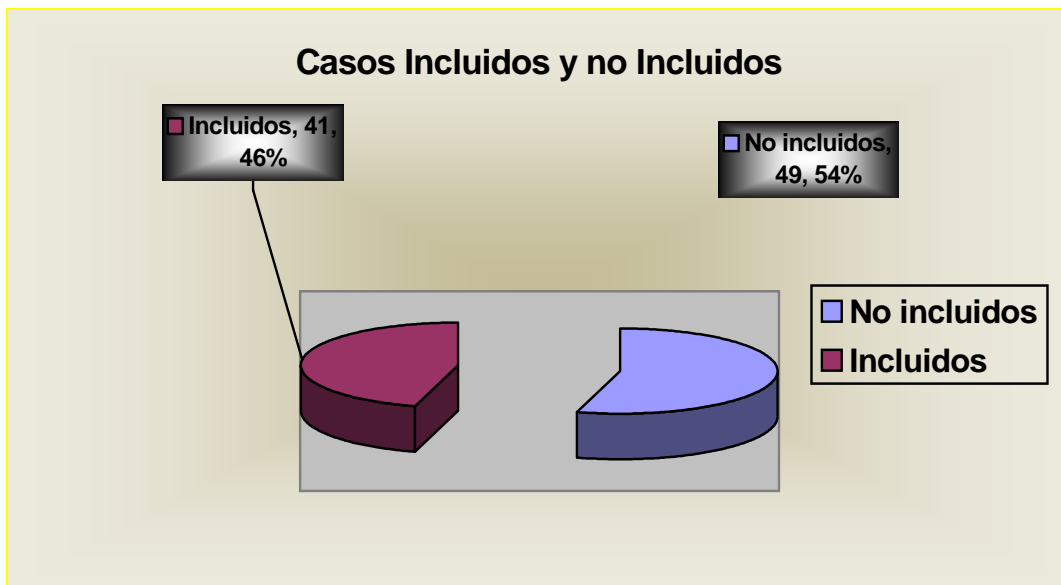
Evaluar la utilidad del uso de la proteína p16 como biomarcador suplementario en las lesiones del epitelio cervical y su correlación con los resultados de la citología vaginal, el estudio de colposcopia y el resultado de la búsqueda de VPH en el estudio de inmunohistoquímica, en pacientes del Hospital Español.

Material y Método

Se incluirán en el trabajo pacientes que cuenten con citología cervicovaginal, colposcopia y biopsia de cérvix, a las cuales se les realizó estudio de inmunohistoquímica buscando la presencia de proteína p16 y VPH. Desde el 1 de enero del 2004 al 31 de julio de 2007 en el Hospital Español. Las pacientes que no contaran con los tres resultados se excluyeron del trabajo por no tener la información completa. La información se obtuvo del archivo del Departamento de Patología del Hospital Español. Los resultados de citología vaginal y colposcopia se obtuvieron de cada uno de los expedientes de las pacientes. La información obtenida se usó para comparar el resultado de la citología vaginal, el estudio de colposcopia y estos a su vez con el resultado de la biopsia de cérvix. Se compararon los resultados de estos estudios verificando de esta manera la certeza diagnóstica que puede aportar el uso de la proteína p16.

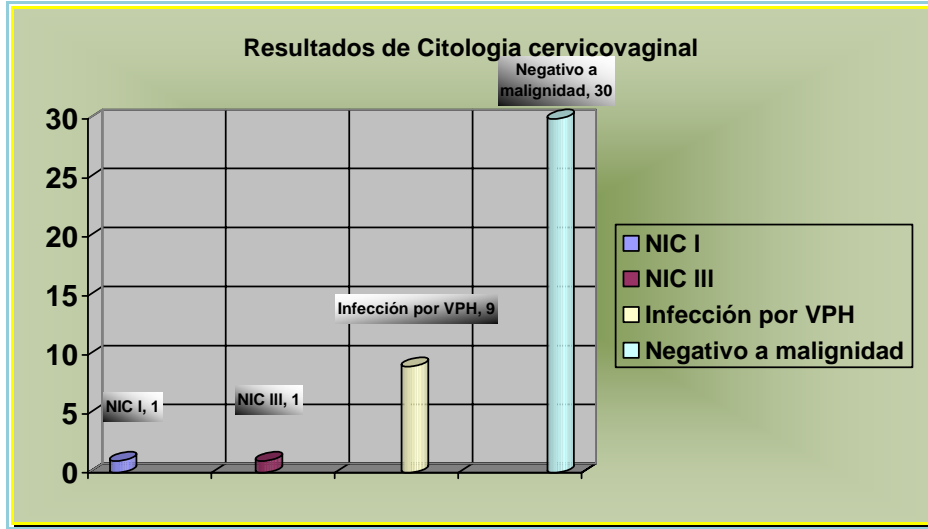
Resultados

Se incluyeron un total de 90 casos desde enero del 2004 hasta julio del 2007 las cuales tenían resultado de biopsia de cérvix así como de inmunohistoquímica. De estos 90 casos se eliminaron 49 casos ya que no contaban algunas con resultado de colposcopia o resultado de citología vaginal.

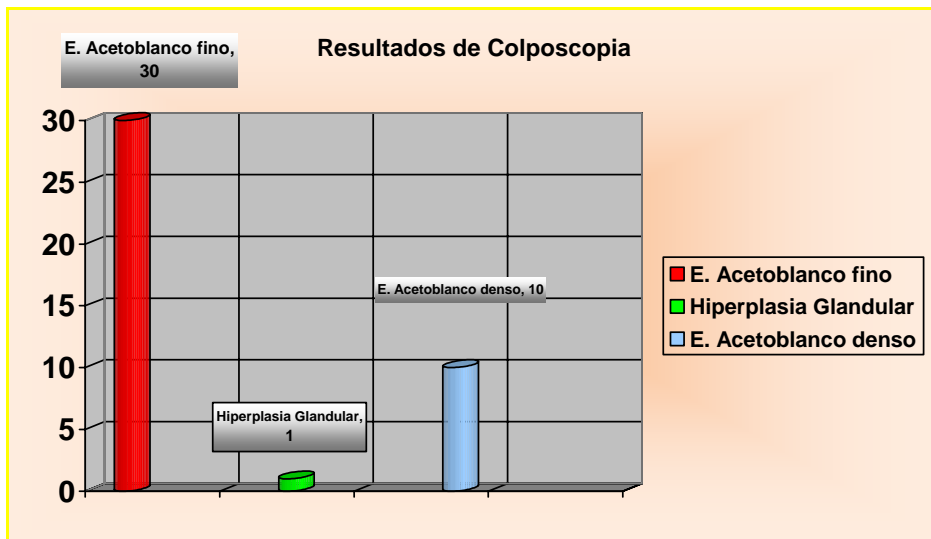


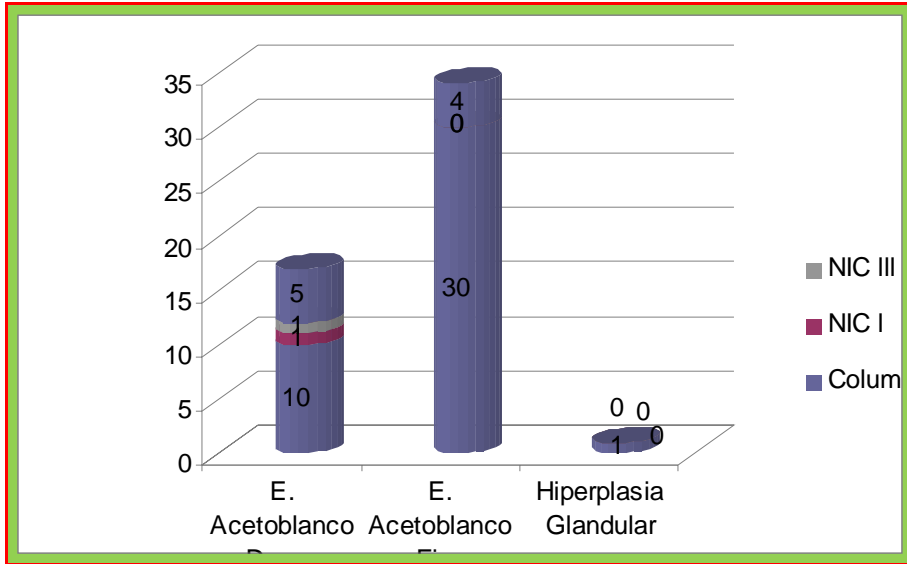
El trabajo incluyo 41 casos los cuales contaban con resultado de citología vaginal, estudio de colposcopia y biopsia de cérvix con estudio de inmunohistoquímica para buscar la presencia de proteína p16.

De estos 41 casos 1 citología tenía resultado de NIC I (2.43%), otra tenía resultado de NIC III (2.43%), 9 (21.95%) con diagnóstico de datos de infección por VPH y 30 (73.17%) con resultado de negativo a malignidad con cambios inflamatorios.

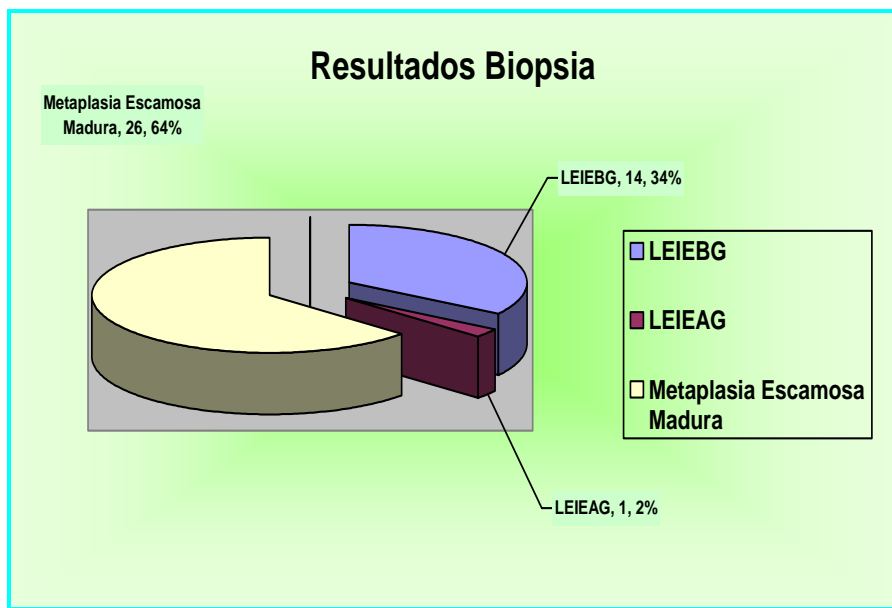


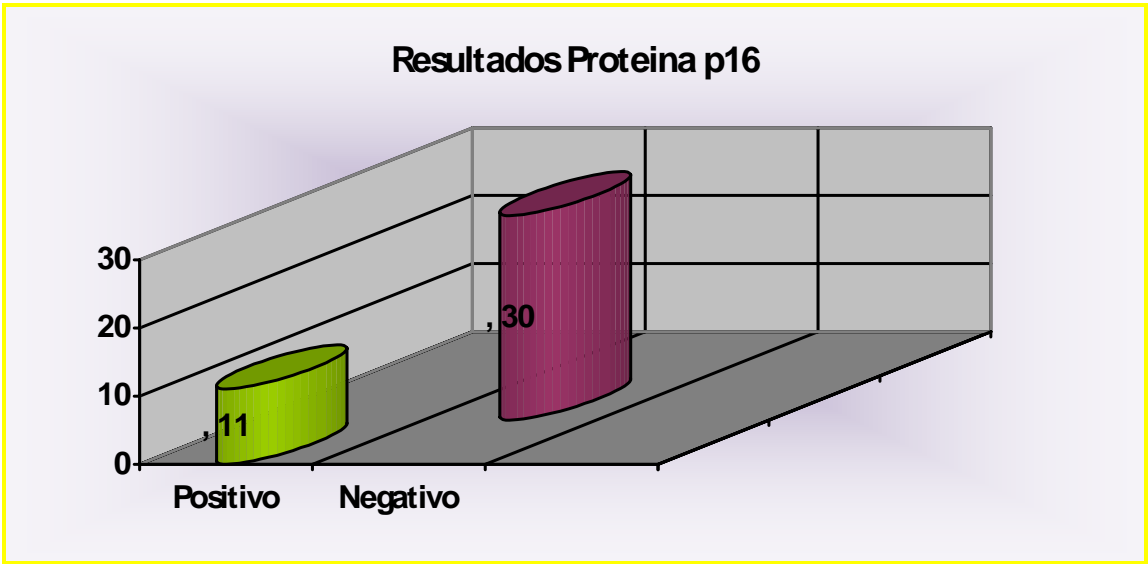
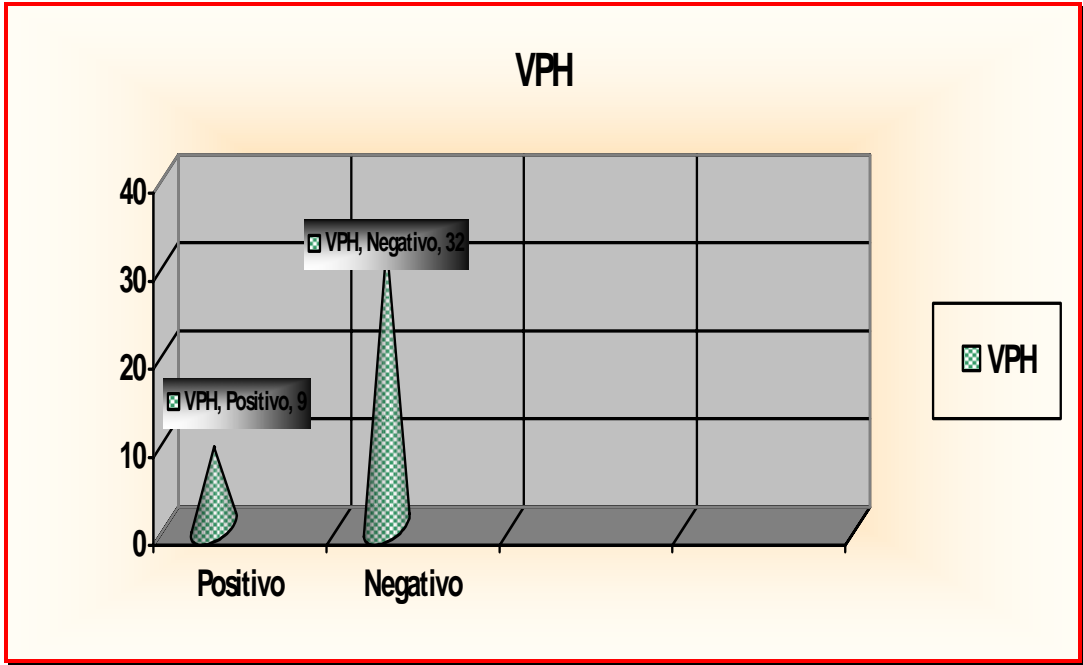
Los resultados del estudio de colposcopia, los 41 estudios fueron satisfactorios, en 30 (73.17%) de ellas se reportó epitelio acetoblanco fino e inflamación, 1 (2.43%) hiperplasia glandular y en 10 (24.39%) casos epitelio acetoblanco denso.



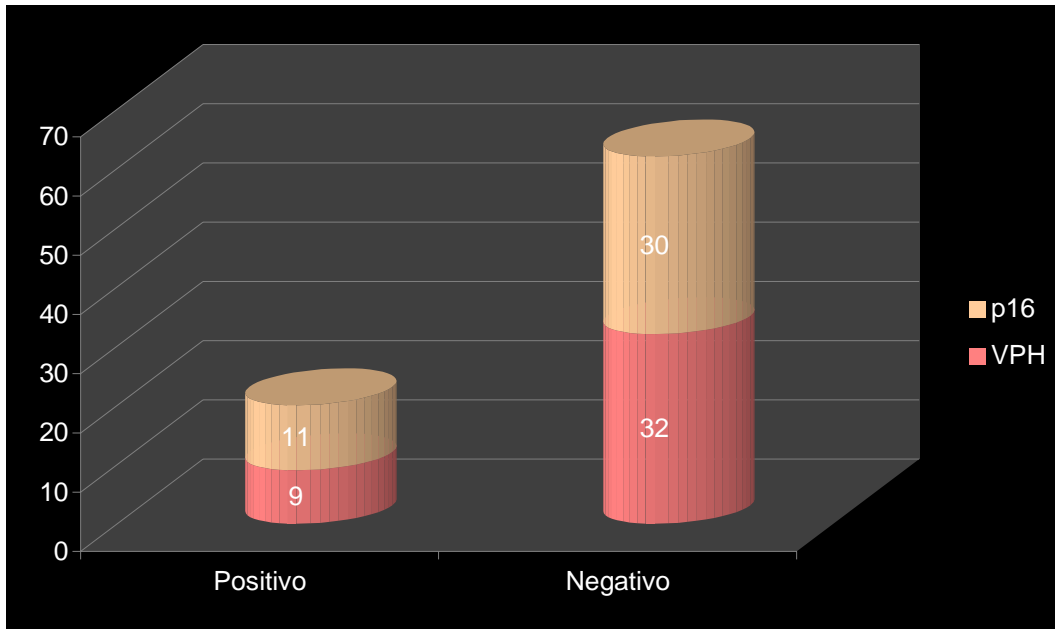


Los resultados de las biopsias de cérvix reportaron VPH positivo en 9 (21.95%) casos y negativo en 32 (78.04%) casos. Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado 14 (34.14%), lesión escamosa intraepitelial de alto grado 1 (2.43%), metaplasia escamosa madura 26 (63.41%) casos. Proteína p16 negativa en 30 (73.17%) casos positiva en 11 (26.82%) casos.





Comparación resultados de biopsia



Conclusiones

Se trabajo con 41 casos de los cuales en el 21.95% se obtuvo el diagnostico por citología cervicovaginal de infección por VPH, 2.43% diagnostico de NIC I, 2.43% diagnostico de NIC III y 73.17% un resultado de negativo para malignidad. En total el 26.81% de los casos tenían datos de alteración y presencia de VPH, al realizar estudio de colposcopia a las 41 pacientes se observo que el 73.17% reporta epitelio acetoblanco fino, 24.39% epitelio acetoblanco denso y 2.43% hiperplasia glandular. Se puede observar que muchos de los resultados de citología vaginal se reportan como negativos para malignidad pero al realizar estudio de colposcopia a estas pacientes algunos de los resultados que por citología vaginal se muestran como normales, muestran alteraciones en el estudio de colposcopia.

Dentro de los resultados de citología vaginal de los 9 casos donde reportan presencia de VPH 5 muestran a la colposcopia epitelio acetoblanco denso y 4 un epitelio acetoblanco fino, en relación a los resultados de NIC I y NIC III, los 2 casos al estudio de colposcopia reportan epitelio acetoblanco denso. Al realizar las biopsias y observar los resultados de inmunohistoquímica se observo que el 26.82% de los casos fueron proteína p16 positivo es decir el mismo porcentaje de resultados alterados en las citologías vaginales por lo que se puede observar una correlación en el resultado de inuhistoquímica y el resultado de la citología vaginal.

Aunque en el mismo estudio de inmunohistoquímico se observó que de las 41 pacientes el 21.95% las pruebas mostraron VPH positivo y 78.04% VPH negativo, en este campo no se pudo observar una correlación entre los casos con proteína p16 positiva y los casos que reportan infección por VPH positivo, es decir existe un 4.8% de pacientes en las cuales tienen positiva la presencia de proteína p16 sin presentar infección por VPH, y las cuales tampoco coinciden con los resultados de la citología vaginal donde también se reportan datos de infección por VPH sin embargo no se detectó el virus pero si la alteración así como la presencia de proteína p16. Es un porcentaje pequeño el que no coincide pero puede ser importante debido a que la población de estudio es pequeña. En este trabajo no se observó casos contrarios es decir casos en los cuales se reportara por inmunohistoquímica infección por VPH y que la presencia de proteína p16 fuera negativa.

Aunque la población de estudio fue pequeña se puede observar un patrón de comportamiento de la proteína p16. Se observó que pacientes con citología que reporta alteraciones se corrobora la presencia de proteína p16. Es decir esta proteína la cual lleva poco tiempo de uso en nuestro medio puede ser un biomarcador suplementario útil para el diagnóstico de lesiones del epitelio cervical, mostrando que siempre que existe una alteración en la citología va a coincidir con la presencia de esta proteína y de esta manera el médico tratante puede marcar la pauta de su manejo y no dejar pasar estas pacientes.

Considero que es una buena opción para el diagnóstico integral de lesiones del epitelio cervical, no es una opción diagnóstica viable como prueba de tamizaje ya que no se puede hacer en cualquier parte de la república, se requiere de una infraestructura particular, además del costo de la prueba. Por eso la mejor prueba de tamizaje sigue siendo la citología cervicovaginal. Pero esta es una prueba complementaria en la búsqueda de hacer un diagnóstico correcto y temprano de las pacientes, para de esta manera ofrecerle la mejor opción terapéutica a nuestra paciente y tratar en la medida de lo posible disminuir tanto los falsos positivos como los falsos negativos que se observan en los resultados de las citologías vaginales.

Referencias

- 1- Castle E, Ashfaq R, Ansari F, Muller Y.
Immunohistochemical evaluation of heat shock proteins in normal and preinvasive lesions of the cervix. *Cancer Letters* XX. 2005. 1-8.

- 2- Meschede W, Zumbach K, Braspenning J, Scheffner M, Benitez-Bibriesca L, Luande J, Gissmann L, Pawlita M.
Papillomaviruses as Diagnostic Markers for Invasive Cervical Cancer. *Journa of Clinical Microbiology*. Vol 36. 1998.

- 3- Nuovo G, Plaia T, Belinsky S, Baylin S, Herman J.
In Situ detection of the hypermethylation-induced inactivation of the p16 gene as an early event in oncogenesis. *PNAS*. Vol 96. 1999

- 4- Nieh S, Chen S, Chu T, Lai H, Lin Y, Fu E, Gau C.
Is p16 expression more useful than human papillomavirus test to determinate the outcome of atypical squamous cells of undetermined significance-categorized Pap smear? A comparative analysis using abnormal cervical smears with follow up biopsies. *Gynecology Oncology*. Vol 97. 2005.

- 5- Wong Y, Chung T, Cheung T, Nobori T, Yu A, Batova A, Lai K, Chang A.
Methylation of p16 in primary gynecologic malignancy. *Cancer Letters*. Vol 136. 1999

- 6- Lowe S, Sherr C.
Tumor suppression by INK4A: Progress and Puzzles. *Current Opinion in Genetics and Development*. Vol 13. 2003.

- 7- Sano T, Oyama T, Kashiwabara K, Fukuda T, Nakajima T.
Expresion Status of p16 Protein is Associated with Human Papillomavirus Oncogenic potencial in Cervical and Genital Lesions. American Journal of Pathology. Vol 153. 1998.
- 8- Volgareva G, Zavalishina L, Andreeva Y, Frank G, Krutikova D, Bliev A, Spitkovsky D, Ermilova V, Kissel'jov F.
Protein p16 as a marker oy dysplastic and neoplastic alterations in cervical epithelial cells. BMC Cancer. 2004.
- 9- Murphy N, Ring M, Killalea A, Uhlmann V, O'Donovan M, Mulcahy F, Turner M, McGuinness E, Griffin M, Martin C, Sheils O, O'Leary J.
p16 INK4A as a marker for cervical dyskaryosis: CIN and cGIN in cervical biopsies and ThinPrep smears. Journal of Clinical Pathology. Vol 56. 2003.
- 10- Quelle D, Cheng M, Ashmun R, Sherr C.
Cancer-associated mutations at the INK4A locus cancer cell cycle arrest by p16 but not by the alternative reading frame protein p19. PNAS. Vol 94. 1997.
- 11- Ruas M, Peters G.
The p16/CDKN2A tumor suppressor and its relatives. Biochemica et Biophysica Acta. 1998.
- 12- Burd E.
Human Papillomavirus and Cervical Cancer. Clinical Microbiology Reviews. 2003.
- 13- Passegue E, Wagner E.
JunB suppresses cell proliferation by transcriptional activation of p16 expression. European Molecular Biology Organization. Vol 19. 2000.

- 14- Yang H, Liu V, Wang Y, Tsang P, Ngan H.
Differential DNA methylation profiles in gynecological cancers and correlation with clinico-pathological data. BMC Cancer. 2006.

- 15- Anttila A, Hakama M, Kotaniemi-Talonen L, Nieminen P.
Alternative technologies in cervical cancer screening: a randomized evaluation trial. BMC Public Health. 2006.

- 16- Dueñas-Gonzalez A, Lizano M, Candelaria M, Cetina L, Arce C, Cervera E.
Epigenetics of cervical cancer. An overview and therapeutic perspectives. Molecular Cancer. Vol 4. 2005.

- 17- Christal J, Valente P.
The Utility of p16 Immunohistochemistry in the Diagnosis of Cervical Intraepithelial Neoplasia. Pathology Case Reviews. Vol 11; 3. 2006.

- 18- Keating J, Ince T, Crum C.
Surrogate Biomarkers of HPV Infection in Cervical Neoplasia Screening and Diagnosis. Advances in Anatomic Pathology. Vol 8;2. 2001.

- 19- Keating J, Cviko A, Riethdorf S, Riethdorf L, Quade B, Sun D, Duensing S, Sheets E, Munger K, Crum C.
Ki-67, Cyclin E y p16 are complimentary Surrogate Biomarkers for Human Papilloma Virus-Related Cervical Neoplasia. Am J Surg Pathol. Vol 25; 7. 2001.

- 20- Cabero L, Cabrillo E, Abad L, et al.
Tratado de Ginecología, Obstetricia y Medicina de la Reproducción. Ed. Panamericana. 2004. Tomo 2, 1544.