

P16 Y CÉRVIX UTERINO. VALOR EN LA DETECCIÓN DE LESIONES OCULTAS Y EN LA MEJORA DE LA CONCORDANCIA INTER-OBSERVADOR

Jaume Ordi

Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Clínic. Barcelona
e-mail: jordi@clinic.ub.es

El diagnóstico de las lesiones premalignas del cérvix uterino (*cervical intraepithelial neoplasias*, CIN) se basa en la identificación de una serie de características histológicas bien descritas desde hace ya tiempo en la biopsia cervical. El examen histológico es pues el fundamento del diagnóstico en el cual a su vez, se basa el tratamiento de estas lesiones. De acuerdo con los protocolos actuales, las lesiones CIN de alto grado (CIN 2 y 3) requieren tratamiento debido a su elevado riesgo de progresión a carcinoma invasor.

No obstante, son numerosos los estudios que muestran que el diagnóstico histológico está sujeto a un número no despreciable de discrepancias entre diferentes observadores. El diagnóstico de las lesiones de CIN en los cortes de hematoxilina y eosina es particularmente difícil y sujeto a variaciones inter e intra-observador cuando la representación de la lesión displásica es escasa en la muestra. Otra posible fuente de error lo constituyen las lesiones de CIN con morfología no usual como la recientemente descrita CIN variante eosinofílica en la que, junto a hiper cromasia nuclear y alteración madurativa, las células muestran un abundante citoplasma eosinofílico y unos límites nucleares bien definidos que las hacen muy difíciles de diferenciar de la metaplasia escamosa.

Existe en la actualidad un acuerdo absoluto en considerar a los virus del papiloma humano de tipo genital (VPH) como los principales agentes etiopatogénicos del cáncer de cérvix y de sus lesiones precursoras. Los aproximadamente 35 genotipos de VPH que afectan a las mucosas del tracto genital femenino se han clasificado en virus de bajo y alto riesgo en función de su capacidad de transformación maligna. Los VPH de alto riesgo (VPH-AR), representados principalmente por los tipos 16 y 18, pero también por los tipos 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68 y otros tipos menos frecuentes, están presentes en prácticamente todos los carcinomas de cérvix y en todas las lesiones precursoras. No obstante, también se detectan secuencias de VPH-AR en un número significativo de mujeres con lesiones autolimitadas o en las que nunca se llega a identificar lesión. En la patogénesis de la transformación neoplásica mediada por VPH está implicada de forma determinante la inactivación de p53 y retinoblastoma (pRb) por los productos de los genes virales E6 y E7.

La proteína p16, codificada por el gen supresor CDKN2A (MTS1, INK4A) situado en el cromosoma 9p21, es un inhibidor de las quinasas dependientes de ciclinas (cdk) que desacelera el ciclo celular inactivando la función de los complejos cdk4- y cdk6-ciclina D. Estos complejos regulan el punto de control de la fase G1 del ciclo celular mediante la fosforilación y la subsiguiente inactivación de retinoblastoma (pRb), lo cual libera E2F y permite a la célula entrar en la fase S. Se ha demostrado la existencia de una correlación recíproca entre pRb y p16, razón por la cual existe una fuerte sobreexpresión de p16 tanto en los carcinomas como en las lesiones premalignas del cérvix uterino.

En el cáncer de cérvix, pRb está funcionalmente inactivada desde las fases iniciales de la carcinogénesis cervical como consecuencia de la expresión del gen E7 de VPH. La sobreexpresión de p16 es fácil de detectar mediante una simple tinción inmunohistoquímica. Esta sobreexpresión de p16 ha sido propuesta como un marcador biológico que permitiría identificar de forma inequívoca las células con cambio displásico o maligno inducido por VPH, mejorando así la especificidad diagnóstica y solucionando los problemas anteriormente expuestos de variabilidad inter e intra-observador. La sobreexpresión de p16 está presente de forma exclusiva en las infecciones por virus del papiloma humano de alto riesgo. En definitiva, la determinación de p16^{INK4a} nos informa de la interacción del VPH con las proteínas reguladoras del ciclo celular y constituye un buen candidato a marcador de proliferación neoplásica.

En un estudio reciente hemos revisado todas las mujeres en las que se disponía de un estudio histológico (biopsia dirigida por colposcopia o legrado endocervical) y de una determinación molecular de VPH-AR mediante el test de captura de híbridos (HC2) realizados de forma simultánea en la misma visita y remitidas el mismo día al departamento de Anatomía Patológica. Entre este grupo se identificaron 139 pacientes que demostraron positividad para VPH-AR y que tenían una biopsia simultánea negativa.

Se estudiaron también tres grupos control de pacientes en las que el diagnóstico histológico y el estudio virológico eran concordantes. En particular se estudiaron dos grupos control positivos: A) 42 pacientes con diagnóstico histológico de lesión de alto grado o carcinoma (35 CIN 2-3, tres carcinomas escamosos y cuatro adenocarcinomas endocervicales dos de ellos *in situ*), positivos para VPH-AR; B) 27 mujeres con lesiones de bajo grado (CIN 1) positivas para VPH-AR; y un grupo control negativo C) formado por 35 mujeres con resultado negativo tanto en la citología como en la biopsia, con test para VPH-AR negativo. En todos los casos se realizó tinción inmunohistoquímica para p16 en la biopsia y reevaluación del diagnóstico histológico.

Prácticamente todas las mujeres de los controles positivos (grupos control A y B) presentaron clara positividad para p16 (tabla 1), mientras que las mujeres del grupo control negativo fueron casi constantemente negativas para p16.

De forma interesante, en 34 de 139 biopsias (24.5%) pertenecientes al grupo de mujeres positivas para VPH-AR con biopsia negativa se evidenció positividad para p16^{INK4a}. Tras una segunda evaluación, 30 de estos 34 casos positivos para p16^{INK4a} fueron reclasificados como portadores de una CIN, once como CIN 1 y diecinueve como CIN 2/3, uno de ellos asociado a adenocarcinoma *in situ*. Por el contrario en ninguno de los casos negativos para p16^{INK4a} se demostró CIN (tabla).

Tabla. Diagnóstico final tras la revisión, tinción inmunohistoquímica para p16^{INK4a} y carga viral media en el grupo de mujeres positivas para VPH-AR con biopsia inicial negativa.

Diagnóstico final	N	p16 ^{INK4a} (%)			Carga VPH-AR *
		Negativo (n=105)	Focal (n=10)	Difuso (n=24)	
No lesión	109	101 (96.2%)	4 (3.8%)	0 (0%)	309.7 ± 591.4
CIN 1	11	0 (0%)	6 (54.5%)	5 (45.5%)	791.3 ± 797.9
CIN2/3	19	0 (0%)	0 (0%)	100 (100%)	332.1 ± 518.0

Estos resultados proporcionan nuevas evidencias de que la tinción inmunohistoquímica para p16^{INK4a} reduce los diagnósticos falsamente negativos por escasa representación de las lesiones de CIN en el espécimen o por patrones morfológicos inusuales como la displasia eosinofílica mejorando, por tanto de forma significativa el diagnóstico de las lesiones premalignas del cérvix uterino.

Bibliografía

1. Agoff SN, Lin P, Morihara J, et al. p16^{INK4A} expression correlates with degree of cervical neoplasia: a comparison with Ki-67 expression and detection of high-risk HPV types. *Mod Pathol*. 2003; 16:665-673.
2. Aoyama C, Liu P, Ostrzega N, et al. Histologic and immunohistochemical characteristics of neoplastic and nonneoplastic subgroups of atypical squamous lesions of the uterine cervix. *Am J Clin Pathol*. 2005;123:699-706.
3. Dray M, Russell P, Dalrymple C, et al. p16(INK4a) as a complementary marker of high-grade intraepithelial lesions of the uterine cervix. I: Experience with squamous lesions in 189 consecutive cervical biopsies. *Pathology*. 2005;37:112-24.
4. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D, et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. *Int J Cancer* 2001;92:276-84.
5. Klaes R, Benner A, Friedrich T, et al. p16^{INK4A} immunohistochemistry improves interobserver agreement in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol*. 2002; 26:1389-1399.
6. Negri G, Egarter-Vigl E, Kasal A, et al. p16INK4a is a useful marker for the diagnosis of adenocarcinoma of the cervix uteri and its precursors: an immunohistochemical study with immunocytochemical correlations. *Am J Surg Pathol*. 2003; 27:187-193.
7. Negri G, Vittadello F, Romano F, et al. p16INK4a expression and progression risk of low-grade intraepithelial neoplasia of the cervix uteri. *Virchows Arch*. 2004;445:616-20.
8. Ordi J, Puig-Tintore LM, Torne A, et al. Contribution of high risk human papillomavirus testing to the management of premalignant and malignant lesions of the uterine cervix. *Med Clin (Barc)*. 2003; 121: 441-445.
9. Ordi J, Alonso I, Torné A, et al. Human Papillomavirus Load in Hybrid Capture II Assay: Does Increasing the Cutoff Improve the Test? *Gynecol Oncol* 2005;
10. von Knebel Doeberitz M. New molecular tools for efficient screening of cervical cancer. *Dis Markers*. 2001;17:123-8.
11. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999;189:12-9.