



Utilidad del ARNm E7 en mujeres con prueba VPH positiva y citología normal en la prevención del cáncer de cuello uterino

Autores

Adriano Rodríguez Trujillo
Marta del Pino Saladrígues
Aureli Torné Bladé
Jaume Ordi Maja
Esther Barnadas Soler

Resumen

Justificación

Con la introducción de la detección del virus del papiloma humano (VPH) en el cribado de cáncer de cuello uterino (CCU), la citología ha quedado como prueba de selección en mujeres con prueba VPH positiva. La mayoría de ellas presentarán una citología normal, presentando mayor riesgo de lesión intraepitelial escamosa de alto grado (HSIL) que las VPH negativas. En ellas, la realización de colposcopia sistemática y eventual biopsia representa un elevado riesgo de sobrediagnóstico dado que la mayoría de infecciones son transitorias. Por consiguiente, se ha propuesto recientemente nuevos biomarcadores como el genotipado para VPH 16 y/o 18, la tinción dual p16/Ki67 y la detección del ARNm del oncogén E7 para la selección de este subgrupo de mujeres.

La falta de estudios impide saber, a día de hoy, si la sobreexpresión del ARNm de E7, el biomarcador a estudiar, representa una mejor estrategia de selección que los otros biomarcadores propuestos en este subgrupo de mujeres tanto para detectar lesiones HSIL/CCU subyacentes o determinar el grupo con riesgo potencial para su desarrollo.

Objetivos

Analizar la exactitud diagnóstica y el valor pronóstico de la sobreexpresión de ARNm de E7 en mujeres con prueba VPH positiva y citología normal para identificar la presencia de HSIL/CCU subyacente o el subgrupo con mayor riesgo de desarrollarlo.

Métodos

Criterios de inclusión: mujeres remitidas a la Unidad de patología cervical y vulvar entre 2009 y 2015 con prueba para VPH positiva y citología normal durante el seguimiento. Tamaño muestral estimado de 150 pacientes.



Criterios de exclusión: embarazo en curso, antecedente de tratamiento previo por HSIL/CCU, inmunosupresión y menores de 18 años.

Primera visita:

- Anamnesis y evaluación de factores de riesgo de infección por VPH
- Exploración clínica y colposcopia
- Toma de muestra cervical con conservación en PreservCyt (Hologic) sobre la que se realiza: determinación de VPH-AR mediante HC2 (Qiagen) y citología en medio líquido (ThinPrep®).
- Biopsia guiada por colposcopia de las áreas anormales. En aquellos casos en los que no se detecten anomalías colposcópicas se realizará una biopsia at random en la zona de transformación. Si la zona de transformación no es totalmente visible se realiza un legrado endocervical.

Seguimiento: en pacientes que no presenten lesión cervical, lesiones de bajo grado y mujeres con HSIL que reúna los criterios de seguimiento de acuerdo con las guías clínicas actuales. En este último caso, las pacientes serán controladas semestralmente sin tratamiento durante un máximo 24 meses. En cada visita se realizarán las mismas pruebas que en la primera visita excepto las biopsias guiadas por colposcopia, que se realizarán si durante el seguimiento existe sospecha de progresión (citología de HSIL o aumento del grado o del área lesional valorada colposcópicamente). Todas las biopsias realizadas se incluirán como muestras del estudio, previo consentimiento informado.

Tratamiento y fin de estudio: a las pacientes que en la primera visita presenten HSIL/CCU y no cumplan criterios de seguimiento, se realizará el tratamiento escisional. De la misma manera, el seguimiento se interrumpirá y se indicará tratamiento si se confirma progresión hasta lesión histológica HSIL/CCU o en las mujeres con HSIL histológico persistente en el seguimiento a los 24 meses. En tal caso, se procederá a conización con asa diatérmica. La pieza de conización, se incluirá como muestra de estudio previo consentimiento por parte de la paciente.

Sobreexpresión del ARNm de E7: la extracción de ARN se realizará utilizando el RNeasy RNA extraction kit (Qiagen), según protocolo de manufacturación. La cantidad y calidad de ARN será medida mediante Nanodrop ND-1000 (Thermo Scientific, Wilmington, DE, USA). La expresión del ARNm de E7 se analiza por transcripción reversa (RT-PCR) y qPCR. Se utilizan cebadores diseñados por el grupo de estudio (Dra. del Pino, VUmc, Amsterdam, The Netherlands) para la amplificación específica de una corta secuencia del oncogén E7 de los VPH-AR más frecuentes. La RT-PCR se realizará utilizando la transcriptasa inversa AMV (Promega, Leiden, The Netherlands) para la obtención de ADN celular a partir de ARN. Como gen de control interno para evaluar la calidad de todas las muestras de ARN se utilizará el GUSB y PGK1.

Análisis estadístico

Se considerarán los riesgos ajustados por edad y tabaquismo activo.

El diagnóstico final de CCU, HSIL y adenocarcinoma in situ serán unificados en el diagnóstico final de HSIL+ y siempre tras confirmación histológica.

El diagnóstico final de LSIL será establecido por confirmación histológica o por resultado de LSIL en citología con biopsia negativa.



Las mujeres con biopsia negativa y citología normal, ASC-US, ASC-H o AGC serán catalogadas como negativas (diagnóstico final negativo).

El efecto final a valorar será el diagnóstico final de HSIL+.

Para determinar la eficacia del biomarcador para detectar una lesión HSIL+ subyacente y el valor pronóstico de desarrollar HSIL+ se compararán los resultados con el diagnóstico final.

Resultados preliminares/esperados

Demostrar la utilidad de la sobreexpresión del ARNm de E7 para detectar y determinar el riesgo de desarrollar HSIL/CCU en mujeres con prueba VPH positiva y citología normal.