



## Detección del ARNm de CDKN2A, MKI67 y TOP2A en la citología como biomarcador de lesión de alto grado de cuello de útero.

### Autores

Adriana Sierra Gomez

Lorena Marimón

Jaume Ordi

Marta Del Pino

Aureli Torné

### Resumen

---

#### Justificación

En las últimas décadas, la eficacia de la citología como prueba de cribado del cáncer de cuello uterino (CCU) ha sido cuestionada por su baja sensibilidad en la detección de pacientes con lesiones escamosas intraepiteliales de alto grado (HSIL) o CCU (15-50% de falsos negativos). Además, se ha evidenciado la detección de un número significativo de alteraciones citológicas con bajo potencial de progresión a CCU, cuya evaluación y seguimiento suponen una sobrecarga asistencial y riesgo de sobretratamiento.

Recientemente, las técnicas de detección de ADN del virus del papiloma humano de alto riesgo (VPH-AR) se han propuesto como pruebas de cribado primario, dada su sensibilidad y valor predictivo negativo próximos al 100%. Sin embargo, esta mejoría conlleva una menor especificidad y valor predictivo positivo, ya que la mayoría de mujeres VPH-AR positivas no presentan lesiones cervicales ni riesgo significativo de CCU. Así pues, es necesario identificar, entre las mujeres VPH positivas, aquellas con mayor riesgo de presentar HSIL o CCU, que se beneficiarían de una colposcopia inmediata.

El estudio de los cambios inducidos por la infección de VPH en la célula epitelial infectada ha permitido caracterizar nuevos biomarcadores que podrían asociarse a un mayor riesgo de HSIL o CCU. Se trata de moléculas involucradas en la replicación, transcripción, reparación del ADN, apoptosis y proliferación celular derivadas de la infección por VPH. Entre ellas, destacan CDKN2A (p16INK4a), MKI67 (Ki67) y TOP2A. La mayoría de estudios se han basado en la expresión inmunohistoquímica de estos marcadores, pero esta técnica está limitada por la variabilidad interobservador, inherente a las técnicas morfológicas, y la dificultad en cuantificar de forma objetiva la expresión génica. Un estudio reciente publicado por nuestro grupo evidenció que la detección del ARNm de CDKN2A, MKI67 y TOP2A en la citología cervical en medio líquido es factible desde un punto de vista técnico, además de ser una técnica menos subjetiva y más cuantificable (del Pino et al, 2015). Además, el estudio presentó resultados preliminares prometedores en cuanto a sensibilidad y especificidad para la detección de HSIL. Es necesario confirmar estos resultados mediante estudios que incluyan un mayor número de pacientes.



## Objetivos

Estudiar si la detección de biomarcadores (ARNm de CDKN2A, MKi67 y TOP2A) es útil en la práctica clínica para identificar, entre las mujeres con cribado positivo para VPH-AR, aquellas con lesión premaligna de alto grado subyacente.

## Objetivos secundarios

Confirmar que la expresión de ARNm de CDKN2A, MKi67 y TOP2A difiere si la prueba VPH-AR es positiva o negativa. Confirmar que, en mujeres VPH-AR positivas, la expresión de dichos biomarcadores es diferente entre las mujeres con o sin lesión cervical. Confirmar que la expresión de los biomarcadores estudiados difiere en los casos de LSIL y HSIL.

## Métodos

### Inclusión de pacientes y recogida de muestras

Estudio observacional longitudinal prospectivo que incluye a las pacientes con citología anormal (ASC, LSIL, HSIL) o con positividad para VPH-AR remitidas a la Unidad de Colposcopia del Hospital Clínic de Barcelona (N=310).

En la primera visita, se realizará la anamnesis, toma de muestra cervical para citología en fase líquida y detección/genotipado de VPH, así como colposcopia digital y toma de una o más biopsias y/o legrado endocervical si la lesión afecta canal endocervical.

Las visitas de seguimiento se organizarán según indican las guías de cribado para CCU en España 2014 ([www.aepcc.org/aepcc-guias](http://www.aepcc.org/aepcc-guias)), y en ellas se realizará citología en medio líquido y detección/genotipado de VPH-AR, colposcopia y biopsia (si existe sospecha de progresión).

Las lesiones HSIL serán tratadas mediante escisión de la lesión con asa diatérmica bajo visión colposcópica y posterior seguimiento en la unidad de patología cervical durante al menos un año.

Se obtendrá consentimiento informado de todas las pacientes para su inclusión en el estudio.

### Análisis moleculares

Todas las citologías y biopsias realizadas se tomarán como muestras de estudio.

Las citologías se realizarán en medio líquido, procesándose según el procedimiento rutinario en la práctica asistencial. En la muestra de citología se realizará la detección/genotipado de VPH mediante GeneXpert HPV test (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA). Las biopsias se procesarán mediante fijación en formol e inclusión en parafina, siguiendo el procesamiento estándar de la práctica asistencial.

Sobre el material sobrante de la citología, se analizará la expresión de CDKN2A, MKi67 y TOP2A mediante extracción de ARNm, reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con transcriptasa inversa y PCR cuantitativa.



### Efecto principal de estudio

Hallazgo de una lesión de alto grado histológicamente confirmada. Se comparará la expresión de CDKN2A, MKi67 y TOP2A entre los diferentes grupos (HSIL, LSIL, VPH+) y se estimará su sensibilidad, especificidad y valores predictivos.

### Resultados preliminares/esperados

Niveles de expresión de ARNm de CDKN2A, MKi67 y TOP2A significativamente mayores en mujeres VPH-AR positivas que presentan una lesión HSIL subyacente, permitiendo así identificar al subgrupo de mujeres que se beneficiaría de una colposcopia inmediata.

En caso de confirmarse, esta estrategia permitiría aumentar la especificidad del programa de cribado actual y considerar que la detección de biomarcadores (ARNm de CDKN2A, MKi67 y TOP2A) es un buen método de selección de las mujeres con prueba VPH-AR positiva.