

Infecciones relacionadas con carcinogénesis

AH. Dr. Javier Arias Stella

Introducción

Sr. Presidente de la Academia Nacional de Medicina, distinguidos colegas, Sr. Embajador, Señoras, señores, amigos todos. Desde que a fines del siglo XIX quedara demostrado que la llamada verruga vulgar de la piel era una enfermedad que se transmitía de hombre a hombre y luego en 1908 Elerman y Bang demostraran que la leucemia experimental se podía transmitir a través de filtrados extracelulares y en 1912 Peyton Rous en el Instituto Rockefeller de Nueva York demostrara que el sarcoma subcutáneo de las gallinas era posible de ser transmitido de uno a otro animal a través filtrados extracelulares, quedó evidenciada la capacidad de los virus de producir tumores.

En verdad para muchas personas parece difícil o se piensa poco asociar a las infecciones con el cáncer, sin embargo, es bueno saber que una quinta parte de todos los cánceres de todo el mundo están relacionados o son causados por infecciones.

Las infecciones son producidas por microbios, bacterias, virus u otros y resultan responsables de la mayoría de los cánceres como, por ejemplo, el *Helicobacter pylori* en relación con el cáncer al estómago o el virus del papiloma humano relacionado como agente causal del cáncer del cuello uterino y otros cánceres y/o los virus de la hepatitis B y C relacionados o asociados a la formación del cáncer del hígado.

Estos 4 microbios tan solo causan más del 15% de todos los cánceres en el mundo. Otros cánceres

que están relacionados con gérmenes infecciosos son: la leucemia, el linfoma, los cánceres del pene, la vagina, la vulva, y los cánceres de la lengua y la garganta.

Se ha señalado que los microbios pueden llevar al cáncer por una serie de mecanismos todavía no bien conocidos. En el caso del papiloma humano por ejemplo se sabe que estos virus tienen la capacidad de anular el efecto de genes y por lo tanto de proteínas que hacen el papel de frenadores de la reproducción celular o inhibidores de los tumores como por ejemplo, en el caso del papiloma humano el gen P53 y el gen RV1, lo que permite la acumulación del daño genético y eventualmente la formación del cáncer.

En el caso del *Helicobacter pylori* se sabe que induce gastritis crónica atrófica la cual viene a ser un factor que predispone, como demostrará luego el Dr. León Barúa, al desarrollo del cáncer de estómago. En el caso de la hepatitis B y C la reacción del sistema inmunológico libera citosinas y, en otras, proteínas inflamatorias que causan daño en los tejidos, lo que conduce a la cirrosis que es precisamente un factor que contribuye al desarrollo del cáncer del hígado. La inhibición crónica del sistema inmunitario es otra causa del cáncer asociado con la infección.

La cadena molecular de sucesos que llevan al cáncer inducido por infecciones es semejante por el que se forman los cánceres no infecciosos. Las mismas vías de señalación de inhibición de tumores que presentan mutaciones en los cánceres no infecciosos se hacen también inactivas por los virus. En realidad fue a

través de la investigación sobre las causas virales del cáncer como se llegó a conocer a cerca de los genes que causan cáncer y las vías de señalización de inhibición de los tumores. Los cánceres causados por infección ofrecen oportunidad para intentar una terapéutica efectiva.

Por ejemplo, ahora contamos con vacunas contra la hepatitis B y otra vacuna para el virus del papiloma humano, por lo tanto, podemos intentar impedir la infección con estos virus y, por ende, el desarrollo de los tumores asociados a estos.

En segundo lugar, uno puede concentrarse en los genes o proteínas producidos por el germen infeccioso. El mejor ejemplo hasta ahora es el que ocurre con la terapéutica antiretroviral para el virus de la inmunodeficiencia humana la cual funciona debido a que tiene un efecto mucho más potente en los genes y proteínas producidos por el virus que en los genes y proteínas propios del cuerpo humano. Hay que tener en cuenta que muchas características de los cánceres asociados con infecciones siguen sin entenderse sin embargo.

Por ejemplo, algunos cánceres del hígado no tienen nada que ver con las hepatitis, algunos cánceres de la orofaringe son causados con infección de los virus del papiloma humano. Pero otros no, en cambio, virtualmente todos los cánceres del cérvix uterino parecen asociados al virus del papiloma humano. En el África, el linfoma de Burkitt es casi siempre causado por el virus del Epstein Barr, mientras que en Estados Unidos solo la mitad de los linfomas de Burkitt son producidos por este virus, la otra mitad tiene el mismo aspecto histológico pero no es producido por virus.

Lo que se pensó que era solamente un solo cáncer se ha mostrado hoy que son dos o más tipos de cánceres de apariencia morfológica similar pero unos causados por virus y otros no. De otro lado, algunos microbios causan diferentes tipos de cánceres en diferentes partes del mundo. Así, en el sur de China el Epstein Barr virus (EBV) produce cáncer nasofaríngeo y, sin embargo, no produce

casi linfoma de Burkitt. Por el contrario, en el África subsahariana el EBV produce sobretodo en la mayoría de los casos el linfoma de Burkitt pero no produce cáncer nasofaríngeo.

El hecho de que la mayoría de las infecciones capaces de causar cáncer son muy comunes y, aun así, solo un pequeño subgrupo de sujetos afectados por estas infecciones llegan a padecer cáncer, sugiere que factores genéticos, y ambientales diversos protegen contra el cáncer a las personas afectadas.

Hasta aquí lo que podemos decir como introducción al tema que habrá que desarrollar en los casos puntuales. Y me voy a referir a los virus del papiloma humano y el cáncer cervical.

Los virus del papiloma humano y el cáncer cervical

Desde que a fines de 1970 Sir Hausen sugiriera una asociación entre el virus del papiloma humano y el cáncer cervical se ha adquirido una gran información sobre este tema y hoy ha quedado establecido, y esto es válido a nivel mundial, que el cáncer uterino tiene como agente causal principal a los virus del papiloma humano. De los 150 tipos de virus del papiloma humano identificados en solo 14 denominados *virus del papiloma humano de alto riesgo* se ha encontrado esta capacidad cancerígena. A partir de los años 40 del siglo pasado, cuando fue generalizándose el estudio citológico de los tumores por la aplicación del llamado sistema del Papanicolaou cérvico-vaginal, se ha acumulado una vasta experiencia sobre este asunto. El procedimiento se ha generalizado en todas las partes del mundo. Se ha perfeccionado y se ha aplicado a otros territorios orgánicos.

Sin reparos se puede decir que ha ocurrido una verdadera revolución en el diagnóstico citológico de los tumores. El procedimiento es útil y ha servido y sirve para diagnosticar precozmente, como antes jamás se había logrado. Sin embargo, este sistema no está exento de falsos negativos, de errores y fallas, sea en la toma de la muestra,

sea en el manejo de ellas, sea en la atención, sea en el tamizaje o screening o disparidad en la interpretación bajo y bajo índice de reproducibilidad entre diversos observadores incluso entre los más experimentados. Es decir, es un procedimiento muy útil, que ha sido muy útil, que ha revolucionado la citología a nivel mundial y se ha generalizado como sistema para todos los órganos prácticamente pero no deja de tener sus limitaciones.

Hoy se ha ganado mucha información a través de los materiales acumulados sobre la naturaleza y evolución de las lesiones iniciales de lo que se ha venido a llamar las lesiones premalignas del cáncer cervical. Estudios clínico patológicos en humanos y estudios en el laboratorio de experimentación fueron perfeccionando los conceptos, clarificando los criterios y por la suma y coordinación de esfuerzos simplificando la clasificación. Los interrogantes eran por qué unas lesiones evolucionan casi inexorablemente mientras que otras regresan espontáneamente.

¿Se pueden reconocer las lesiones progresivas de las que no van a ser progresivas?. ¿Son estas lesiones siempre de naturaleza neoplásica o son algunas solo reactivas o inflamatorias? La falta de reproducibilidad en los diagnósticos microscópicos y la imperfección en la definición de las lesiones explican por qué se modificó sucesivamente la nomenclatura. Como puede observarse, lo que ha ocurrido es una progresiva unificación de criterios y disminución de categorías diagnósticas, con lo cual no solo se ha minimizado la falta de reproducibilidad sino también los conflictos diagnósticos que a menudo eran casusa de litigios. Por supuesto que en este esfuerzo se ha ganado también en conocimiento y precisión de los criterios morfológicos válidos.

Desde 1980 el Instituto Nacional del Cáncer de los Estados Unidos promovió un estudio con la colaboración de especialistas y universidades de ese país y otros países en todo el mundo y de sociedades también, lo que ha conducido al desarrollo del sistema denominado de Bethesda. Rasgo saliente de este sistema ha sido incorporar el factor del virus del papiloma humano como un elemento que tiene significación en el proceso

de transformación neoplásica del carcinoma del cuello uterino. Paralelamente con este esfuerzo de unificación diagnóstica los laboratorios de patología experimental escudriñaban los elementos oncogénicos del virus del papiloma humano. Estudios patológicos en humanos y estudios patológicos de experimentación en laboratorio han ilustrado las formas como el virus llega a la mucosa cervical y desarrolla el proceso neoplásico.

Los virones alcanzan las células basales de la capa escamosa cervical y dan lugar a una infección no productiva que luego del ingreso viral al núcleo de las células origina en ellas los cambios llamados citopáticos y una infección productiva es decir, que produce más virus. La persistencia de esta infección conduce progresivamente al desarrollo de lo que se ha venido a llamar precáncer, o después cáncer no invasivo y después cáncer invasivo. El virus del papiloma humano ha sido secuenciado y hoy conocemos los segmentos que tienen responsabilidades específicas. Así se distingue la región control, encargada de la replicación del ADN y, por ende, la región de la replicación del virus. La llamada región tardía L1 y L2 que tiene que ver con la constitución de la cápside del virus y la denominada región temprana que contiene segmentos que actúan en la transcripción y en la replicación viral y los segmentos oncogénicos E7 y E6 en los que se ha demostrado la capacidad de transformación neoplásica para las células epiteliales cervicales.

Las proteínas elaboradas por E6 y E7 inhiben la acción normal tumor supresora del gen P53 y del gen RV. Los genes supresores RV y P53 actúan como frenadores de las zonas de control o *check point* del paso del ciclo G1 a la fase S de síntesis del ciclo celular normal. Al evitar la acción de control la fase G1 pasa a la fase de síntesis S de manera continuada y de esta forma se produce la multiplicación celular incontrolada que caracteriza al desarrollo cancerígeno.

A estos importantes estudios se ha sumado en forma simultánea los datos aportados por las observaciones clínicas y así el estudio ALTS de células atípicas escamosas y de células atípicas

de bajo grado en un estudio de triaje, a esos se le ha puesto en siglas ALTS, promovido por el National Cancer Institute, con la concurrencia de universidades e investigadores a nivel internacional, incluyendo sociedades y universidades del Perú que han participado en estos estudios, ha permitido después de una amplia investigación sobre la conveniencia de tener o no la categoría de ASCUS, o sea la categoría de células atípicas escamosas de significación indeterminada en el sistema llamado de Bethesda y de comprobar la efectividad de las pruebas moleculares para identificar los virus del papiloma humano y del uso de la forma de toma de muestras en base líquida, llegó a la conclusión respaldada científicamente por lo que hoy se llama la medicina basada en la evidencia de que no convenía eliminar la categoría de ASCUS (Atypical Squamous Cells of indeterminant condition) porque la información acumulada proveniente de múltiples laboratorios demostró que estas células atípicas escamosas constituyen en esencia una proporción 50%-50%, era indeterminado porque 50% iban a un lado y 50% iban a otro lado. De tal manera que esta condición de ASCUS como diagnóstico era una condición importante a seguir del camino y la pista.

Las que tienen una lesión de alto-bajo grado dan una reacción positiva al estudio molecular, investigación del virus del papiloma humano. Aún más, se conoce las proporciones de progresión y reversibilidad de las diversas lesiones interepiteliales cervicales. Unas van de menos a más, pero pueden llegar también a ser de más a menos. De aquí el gran significado que tiene la prueba molecular de captura de híbridos en los casos de citología equívoca o dudosa. Los positivos para el virus del papiloma humano de alto riesgo tienen el doble de probabilidad de tener una lesión escamosa interepitelial de alto grado, es decir la que va a seguir el camino del cáncer.

Se comprende por qué el estudio ALTS concluyó por la conveniencia de proceder a la investigación del tipo del virus asociado a las lesiones neoplásicas interepiteliales cervicales. Esta tecnología consiste básicamente en la detección del virus del papiloma humano. El genoma del virus del papiloma humano

contiene secuencias que son singulares para cada virus. Los segmentos más específicos del genoma diferencian a los diferentes tipos de subtipos de virus. Con este conocimiento es posible constituir probadores o sondas que pueden comprender a múltiples virus o apuntar a uno específico. Por ejemplo, el virus del papiloma humano 16 y virus del papiloma humano 18 de alto riesgo. Diseñado el probador/sonda, el siguiente problema es usar un mecanismo de detección sensitivo.

La amplificación del virus por el procedimiento de la polimerasa chain reaction del PCR, puede detectar la presencia de unas pocas partículas virales en las muestras del cuello uterino tomadas con un hisopo.

En los últimos tiempos la Food and Drug Administration de los Estados Unidos, ha aprobado las sondas probadoras introducidas por SANIGEN, que es el método que hoy día se usa y se ha generalizado para la identificación del ADN viral. La muestra se recoge en el vial que provisiona Digene, la casa comercial, pero también puede utilizarse el recipiente que sirve para el Papanicolaou en base líquida y capa delgada. En los últimos años nuestro laboratorio ha venido utilizando el Papanicolaou en base líquida y en capa delgada. Pero hay algo más. Las células se conservan hasta 2 meses en buenas condiciones en los líquidos remitidos con el frasquito que remite la casa para la toma de la muestra, lo que puede permitir repetir los estudios histológicos y utilizar la misma muestra para realizar las pruebas moleculares.

En el sistema por nosotros aplicado para la captura de híbridos, la combinación del ácido ribonucleico con el ácido desoxirribonucleico se realiza en las micro placas cubiertas con anticuerpos específicos contra los híbridos. Estas micro placas con anticuerpos vienen en el kit de la reacción y se descartan después de cada prueba. Estos híbridos son nuevamente detectados con fosfatasa alcalina para subrayar la especificidad y dejar listo el material para el proceso de luminiscencia correspondiente al hacer la determinación. Como sustancia luminiscente se utiliza un sustrato de dioxetano que al reaccionar con la fosfatasa alcalina libera luz que es medida

por el luminómetro en unidades relativas de luz. Los datos obtenidos ingresan directamente a la computadora que realiza el cociente entre las unidades relativas de luz emitidas por los controles positivos y las unidades relativas de luz emitidas por los casos problema. Valores superiores a 1 indican la presencia del virus del papiloma humano.

La figura corresponde a un paciente de 47 años con una lesión escamosa interepitelial de alto grado con presencia del ADN del virus del papiloma humano de alto grado 1138 indicando que es virus de alto grado, más de 1. La histerectomía en este uso mostró un carcinoma in situ con extensión glandular. En suma, nuestra experiencia armoniza con los estudios y hallazgos descritos en el estudio internacional ALTS, que tomando en cuenta la investigación en los últimos 5 años ha llevado a la American Society Colposcopy Cervical Pathology a establecer de manera consensuada una guía para el manejo de las lesiones pre cancerosas del cuello uterino. De esta guía se desprende una primera conclusión que tiene interés práctico para el manejo de los casos de ASCUS con lesiones indeterminadas o atípicas de delimitación incierta.

Pero la tecnología avanza, y ha demostrado bien que la reacción en cadena de la polimerasa, el PCR, es de mayor sensibilidad que la hibridización in situ para la detección de los virus del papiloma humano de alto riesgo. Así, se ha desarrollado el llamado COBAS, Human Papiloma Virus (HPV) Test, una prueba in vitro cualitativa que usa la reacción en cadena de la polimerasa y la hibridización de ácidos nucleicos para la detección de los 14 tipos de virus del papiloma humano de alto riesgo en un solo análisis singular. Esto nos provee la posibilidad de genotipificar el virus del papiloma humano 16 y 18, los principales de alto riesgo, simultáneamente con los otros 12 virus del papiloma humano de alto riesgo en un solo análisis singular. En un solo análisis podemos hacer todos los estudios del virus del papiloma humano hoy posible.

En abril 24 tan solo del 2011, hace 3 años el Food and Drug Administration aprobó el COBAS test como sistema primario de screening del cáncer cervical de mujeres en 25 o más años. ¿Qué quiere decir esto?. Que se ha establecido ya en los Estados Unidos que el screening, el tamizaje de detección del cáncer del cuello uterino se pretende hacer ya no por el clásico Papanicolaou que nos ha acompañado casi 60 años, si no ahora por el sistema de determinación precisa del virus que causa la enfermedad. Esta aprobación ha abierto un nuevo camino para el tamizaje o screening del cáncer cervical en las mujeres. Es una nueva avenida a la que estamos expuestos todos en todo el mundo. Actualmente en nuestro laboratorio venimos utilizando esta prueba molecular y comprobando su sensibilidad y bondad.

Finalmente, quiero señalar que en estos momentos están apareciendo los primeros informes que dan cuenta de la efectividad de la vacunación para el virus del papiloma humano que han sido aprobadas para niñas y niños desde los 9 años. La vacuna de la marca Merk llamada Gardasil está disponible para ambos sexos. La vacuna correspondiente a la marca Glaxo Smith and Kline llamada Cervarix solamente está indicada para mujeres. Otis Brauly jefe de la American Cancer Society hace pocos días ha hecho el siguiente comentario: mientras más personas se vacunen, tanto hombres como mujeres, con estas dos técnicas ya existentes, crece ha dicho, la probabilidad de tener una población libre de la enfermedad. Ojalá esta afirmación llegue a ser verdad. Muchas gracias.

Agradecemos la excelente presentación del Sr. Dr. Javier Arias Stella. A continuación el Biólogo Ricardo Iwasaki tratará el tema: "Prevalencia del Papiloma Virus Humano de alto riesgo en población rural y urbana del Perú"