



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

Virus del Papiloma Humano,
¿Es importante genotipar?

Human Papilloma Virus, Is
it important to genotype?

Autor/a: Lucía Estévez Palomo

Director/es: José Javier Gómez Román
Javier Freire Salinas

Santander, Junio 2023

INDICE

1.	RESUMEN	3
2.	ABSTRACT	4
3.	ABREVIATURAS:	5
4.	INTRODUCCIÓN:.....	6
4.1.	<i>VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH):.....</i>	6
4.2.	<i>AGENTE CANCERÍGENO Y CÁNCER DE CÉRVIX</i>	8
4.3.	<i>VACUNACIÓN CONTRA EL VPH:.....</i>	9
4.4.	<i>CRIBADO DEL CÁNCER DE CÉRVIX:</i>	11
5.	HIPÓTESIS:	13
6.	MATERIAL Y MÉTODOS:.....	14
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN:	15
8.	CONCLUSIÓN:	21
9.	BIBLIOGRAFÍA:	22
10.	AGRADECIMIENTOS:.....	24

1. RESUMEN

Introducción: La infección por Virus del Papiloma Humano y el cáncer de cuello de útero han ido evolucionando a lo largo de los años debido a la instauración de la vacunación universal y el uso de la citología como técnica de cribado.

Método: Estudio descriptivo y retrospectivo de 2009 mujeres que se sometieron al cribado oportunista de Cáncer de cérvix del Servicio Cántabro de Salud en las fechas comprendidas del 1 de enero hasta el 19 de Octubre de 2022. Se les realizó una citología líquida analizada por PCR e hibridación en array con sondas específicas frente a 35 genotipos de VPH. Se compararon los datos obtenidos con los que habían sido publicados por el HUMV en análisis previos tanto previos a la instauración de la vacunación como en años inmediatamente posteriores.

Resultados: Las infecciones causadas por genotipos de bajo riesgo incluidos en la vacuna han disminuido de manera significativa. El VPH31 a pesar de no estar incluido en los genotipos cubiertos, presenta un descenso de la incidencia significativa como consecuencia de la inmunidad cruzada. La incidencia de VPH45 y VPH51 ha descendido, aunque no significativamente. Sin embargo, se observa un aumento significativo de la incidencia de VPH52 entre la población previa a la vacunación y la actual posiblemente explicada por un efecto nicho. El VPH16 al que se atribuye mayor poder oncogénico ha descendido de manera significativa en toda la población.

Conclusión: El uso del genotipado como método de cribado del VPH constituye una herramienta fundamental para un mayor conocimiento de los cambios y la biología de la infección del VPH.

Palabras clave: Vacunación, Screening, genotipado, VPH31, VPH52 y VPH16.

2. ABSTRACT

Introduction: Human Papilloma Virus infection has been evolving over the years due to the establishment of Cervarix universal vaccination and the use of cytology as a screening technique for cervical cancer.

Methods: Descriptive and retrospective study of 2009 women who underwent opportunistic cervical cancer screening program of Servicio Cántabro de Salud from 1st January to 19th October of 2022. Patients underwent liquid cytology analyzed by PCR and array hybridization with 35 specific probes of different VPH genotypes. The data obtained were compared with previous studies published by HUMV.

Results: Low-risk genotypes infections have decreased significantly. VPH31 also shows a significant decrease due to the cross-immunity. The incidence of VPH45 and VPH51 has decreased, although not significantly. However, there is a significant increase in the incidence of VPH52 between the pre-vaccination population and the current one, possibly explained by a niche effect. VPH16 corresponds to the genotype that the greatest oncogenic power is attributed. A very significant decrease in its incidence was observed in the vaccinated population.

Conclusion: Genotyping as a screening method is a fundamental tool for a better understanding of the changes and biology of the VPH infection.

Key words: Vaccination, screening, genotype, VPH31, VPH52 y VPH16.

3. ABREVIATURAS:

- **ADN:** Ácido desoxirribonucleico.
- **ASC:** Células atípicas.
- **ASC-US:** Células atípicas de significado incierto.
- **ASCCP:** American Society for Colposcopy and Cervical Pathology.
- **ARNm:** Ácido ribonucleico mensajero.
- **CAP:** College of American Pathologist.
- **CIN2:** Neoplasia intraepitelial de alto grado en los 2/3 basales del epitelio con preservación de la maduración epitelial.
- **CIN3:** Neoplasia intraepitelial de alto grado en > 2/3 basales del epitelio.
- **E1:** Proteína no estructural con función helicasa del Virus del Papiloma Humano.
- **E2:** Proteína no estructural con función para la replicación y transcripción viral del Virus del Papiloma Humano.
- **E5:** Proteína no estructural con función estimulante de E6 y E7, promoviendo la fusión celular e inestabilidad cromosómica en la infección por el Virus del Papiloma Humano.
- **E6:** Oncoproteína. Proteína no estructural con función supresora de la proteína p53, inhibiendo la apoptosis y evadiendo la respuesta inmunitaria en la infección por el Virus del Papiloma Humano.
- **E7:** Oncoproteína. Proteína no estructural con función supresora de la proteína pRB, incrementando la actividad de cinasas dependiente de ciclinas, en la infección por el Virus del Papiloma Humano.
- **HC2:** ADN Hybrid Capture Test.
- **HSIL:** Lesión escamosa intraepitelial de alto grado.
- **HUMV:** Hospital Universitario Marqués de Valdecilla.
- **L1:** Proteína estructural principal de la cápside del Virus del Papiloma Humano. Reconoce receptores de la célula huésped. Produce anticuerpos.
- **L2:** Proteína estructural secundaria de la cápside del Virus del Papiloma Humano. Se encarga de la unión del virión a la célula y su entrada.
- **LSIL:** Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado.
- **NGS:** Next Generation Sequencing. Secuenciación masiva.
- **OMS:** Organización Mundial de la Salud.
- **p16 INK4a:** Proteína codificada por el gen supresor CDKN2 (MST1, INK4a) participa en la regulación de la fase G1 del ciclo celular
- **P53:** Gen supresor de tumores.
- **PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa.
- **pRB:** Proteína del retinoblastoma, supresora de tumores.
- **VLPs:** Virus-like-particle. Artícula similar a virus.
- **VPH:** Virus del Papiloma Humano.
- **VPH6:** Virus del Papiloma Humano genotipo 6.
- **VPH11:** Virus del Papiloma Humano genotipo 11.
- **VPH16:** Virus del Papiloma Humano genotipo 16.
- **VPH18:** Virus del Papiloma Humano genotipo 18.
- **VPH31:** Virus del Papiloma Humano genotipo 31.
- **VPH45:** Virus del Papiloma Humano genotipo 45.
- **VPH51:** Virus del Papiloma Humano genotipo 51.
- **VPH52:** Virus del Papiloma Humano genotipo 52.

4. INTRODUCCIÓN:

4.1. VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH): (1–4)

La infección por el VPH es la enfermedad de transmisión sexual más frecuente. Se calcula que el 91% de los hombres y el 85% de las mujeres tendrán mínimo una infección por VPH en su vida (5). La mayoría de las infecciones son subclínicas y se detectan mediante revisiones médicas en los programas de cribado. Por ello, un mayor conocimiento a cerca del virus conlleva a un mejor manejo de métodos de detección precoz.

El virus del Papiloma Humano es un virus ADN circular de doble hebra perteneciente a la familia *Papillomaviridae*. De él conocemos hasta 200 genotipos, de los cuales 15 pueden llegar a ser oncogénicos. Cabe destacar la importancia de los siguientes:

- Genotipos de bajo riesgo causantes de las verrugas anogenitales en un 90% de los casos: 6 y 11.
- Genotipos de alto riesgo o poder oncogénico: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 y 59.

Los principales VPH de alto riesgo se agrupan dentro del género alphapapillomasvirus 9 y alphapapillomavirus 7. Los distintos genotipos se diferencian en un 10% de la secuencia de nucleótidos de la proteína L1. (6)

Los principales **factores de riesgo** asociados a la infección viral son las conductas sexuales de alto riesgo, inicio temprano de la vida sexual y antecedentes de múltiples parejas sexuales u otras enfermedades de transmisión sexual, lo cual es influido por un nivel educativo y socioeconómico bajo. En el caso de la mujer, el uso prolongado de anticonceptivos hormonales y la edad temprana del primer embarazo también constituyen factores de riesgo. Además, está favorecido por la existencia de otro tipo de enfermedades que alteran la capacidad de respuesta de su sistema inmune y el tabaco. (7,8)

El **mecanismo de transmisión del virus** es mediante el contacto directo piel con piel durante la práctica sexual facilitado por lesiones o abrasiones en las mucosas llegando hasta las células basales cervicales indiferenciadas. Por medio del proceso de diferenciación del epitelio cervical el VPH produce su **mecanismo infectivo** ya que el genoma vírico no codifica las proteínas necesarias para su replicación.

Tras la infección, (**Figura 1**) el ADN viral se presenta de forma extracromosómica en el núcleo de la célula epitelial del huésped, es decir, sin estar integrado en su ADN. Se produce una amplificación inicial y la expresión de E1 y E2, dos proteínas esenciales para la replicación y transcripción favoreciendo la permanencia del genoma en las células epiteliales en división.

En los casos de infección por genotipos oncogénicos además de E1 y E2, se expresan las proteínas E6 y E7 cuya función es inhibir p53 y pRB respectivamente. Son genes importantes implicados en la supresión tumoral, y cuya inhibición conlleva a la acumulación de mutaciones, alteración del ciclo celular normal y progresión maligna. En

VPH de bajo riesgo la capacidad de expresión de dichas proteínas es insuficiente para generar el desarrollo de lesiones preneoplásicas.

Posteriormente, con el fin de favorecer la persistencia de la infección el ADN viral se integra en el ADN de la célula huésped, coincidiendo con la expresión de E5, una proteína que promueve la expresión de E6 y E7 produciendo mayor inestabilidad cromosómica, proliferación celular anormal y evasión de la respuesta inmune.

El genoma del VPH puede permanecer en el núcleo celular durante años, denominándose fase latente. Con la diferenciación y ascenso de las células cervicales hacia el estrato córneo se inicia un proceso de replicación productiva de ADN viral y la expresión de L1 y L2, proteínas estructurales que favorecen la formación de viriones y posterior liberación para perpetuar la infección.

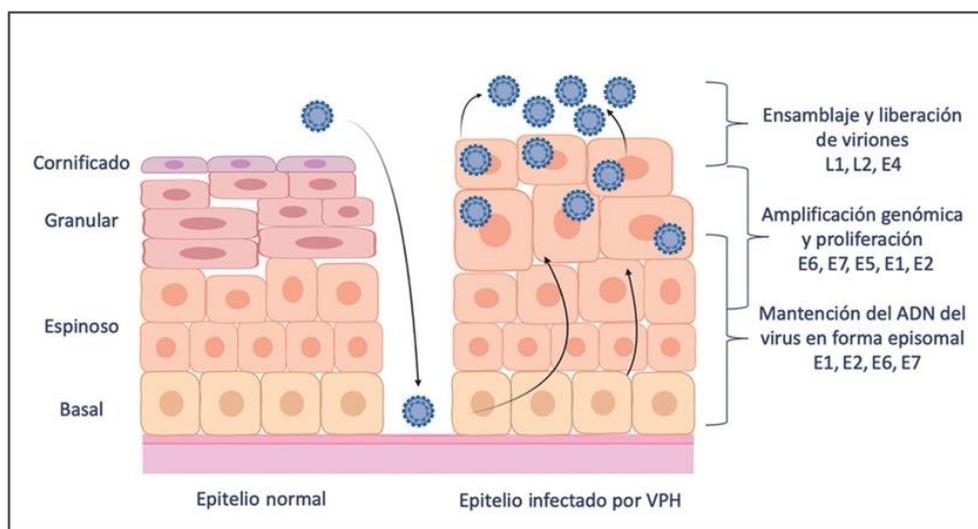


Figura 1. Ciclo infeccioso del Virus del Papiloma humano. Imagen tomada de: Oliva C, Santos Dumont G, Pérez F, Zamorano R, Boettiger P. Rol del virus papiloma humano en cabeza y cuello Role of human papillomavirus in head and neck. 2021.

El 90% de los casos la infección es asintomática y autolimitada ya que el huésped desarrolla una respuesta inmune eficaz eliminando el virus. Uno de los mecanismos que favorece la persistencia del virus y el desarrollo de la enfermedad es la capacidad de evadir la respuesta inmunológica principalmente al ser un virus con un ciclo de vida intracelular y no lítico evitando la respuesta inflamatoria. Además, la expresión de proteínas en estadios precoces es a niveles muy bajos, pasando desapercibida y pudiendo permanecer años, mientras que en estratos epiteliales superiores coincidiendo con la síntesis de proteínas estructurales y liberación viral sí se inicia la inflamación crónica y lesiones premalignas. (3,9)

La persistencia del VPH ocurre en un 10% de las mujeres infectadas preferentemente por genotipos de alto riesgo o coinfecciones y de estas, solo un 1% desarrollará lesiones neoplásicas. (10)

Actualmente no se dispone de un tratamiento efectivo para las infecciones del Papiloma Humano, ya que la mayor parte desaparecen de manera espontánea. (7)

4.2. AGENTE CANCERÍGENO Y CÁNCER DE CÉRVIX (2,3,8,9,11,12)

El Virus del Papiloma Humano es un agente cancerígeno siendo numerosos los **factores virales que influyen en el desarrollo neoplásico**. Dicho poder oncogénico se encuentra en estrecha relación con los genotipos de alto riesgo, destacando el VPH16 y VPH18 debido a la capacidad de expresión de las proteínas E6 y E7. Otro factor fundamental es la permanencia de infección por VPH a lo largo del tiempo, pudiendo existir una latencia de hasta 15 años entre la infección y el desarrollo de la enfermedad. La carga viral y la integración de ADN viral en el genoma de la célula epitelial también constituyen factores claves en la proliferación maligna.

El **cáncer de cérvix** constituye el cuarto cáncer más frecuente a nivel mundial en mujeres, ocurriendo la mayoría en países en vías de desarrollo. En 2022 fueron diagnosticados en España 2480 casos nuevos de cáncer de cuello uterino principalmente en mujeres de entre 35-45 años y causó la muerte de 673 mujeres (13).

Tiene lugar principalmente en la zona de transformación cervical entre el epitelio escamoso del exocérvix y el columnar del endocérvix. **(Figura 2)**

Previo al desarrollo neoplásico, la infección del VPH produce un **espectro de lesiones** en el cuello uterino que se clasifican a través de los hallazgos histopatológicos determinados por el *College of American Pathologist (CAP)* y la *American Society for Colposcopy and Cervical Pathology (ASCCP)*.

- **LSIL:** Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado. Se incluye la lesión tipo CIN1 (Neoplasia intraepitelial cervical de grado 1). La mayoría tienen una regresión espontánea. Histológicamente poseen abundante citoplasma, halos claros perinucleares y paraqueratosis limitándose las lesiones al tercio inferior del epitelio escamoso.
- **HSIL:** Lesión escamosa intraepitelial de alto grado. Se incluye CIN2 y CIN3. CIN2 puede tanto regresar como progresar. CIN3 se considera la lesión precursora del cáncer de cérvix ya que tiene un elevado potencial oncogénico. Histológicamente el citoplasma está disminuido de tamaño.
- **ASC:** Células atípicas. Tienen que determinarse su relación con HSIL (ASC-H) o ser de significado incierto (ASC-US). Este tipo de lesiones no permiten determinar la infección por VPH o de otras alteraciones con lo que es preciso realizar técnicas complementarias para conocer su significado biológico.
- **Carcinoma:** El carcinoma epidermoide no queratinizante constituye el subtipo histológico más frecuente.

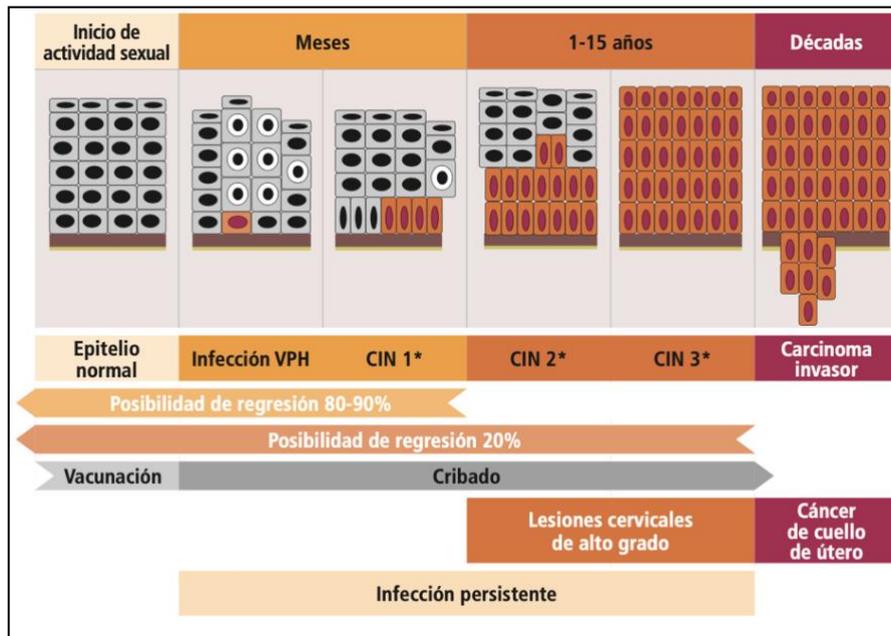


Figura 2. Proceso lesional de las células del cuello uterino hasta el desarrollo neoplásico como consecuencia de la infección por VPH. Imagen tomada de: Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia. Infección por el Virus del Papiloma Humano. Lesiones del tracto genital inferior y cáncer.

La infección por VPH supone una causa necesaria pero no suficiente en el Cáncer de Cérvix, pero también está relacionado con **neoplasias anogenitales y de cabeza y cuello**. Global Cancer Observatory recogió datos de 2020 donde se puede observar de los 1957 casos de cáncer de cérvix diagnosticados se puede atribuir más de un 95% al VPH; así mismo el resto de los cánceres anogenitales se relacionan en un 71% el de vagina; 83% el de ano; 27% el de pene; 25% el de vulva; en cuanto a los tumores de cabeza y cuello el más relacionado es el cáncer de orofaringe en un 22% (5). El genotipo causal más frecuente en todos los casos es el VPH16.

4.3. VACUNACIÓN CONTRA EL VPH: (5,14,15)

El cáncer de cérvix es considerado por la OMS un problema de salud pública a nivel mundial y desde el Centro Europeo de prevención y control de Enfermedades se recomienda instaurar una vacunación universal. Se considera la medida más eficaz y efectiva para la prevención de la infección y desarrollo de enfermedades asociadas al VPH.

El agente inmunogénico presente en las vacunas se conoce como VLPs, son partículas no infecciosas similares al virus que se obtienen por recombinación genética de proteínas L1 de la cápside de los distintos genotipos del VPH.

Actualmente se dispone de tres vacunas autorizadas en España las cuales en ensayos clínicos presentan una elevada seguridad, inmunogenicidad y eficacia:

	GENOTIPO VPH	POBLACIÓN Y DOSIS	INDICACIÓN
CERVARIX (2007)	16 Y 18 *Protección cruzada a VPH 31, 33 y 45	- De 9 a 14 años: 2 dosis separadas 6 meses - A partir de 15 años: 3 dosis separadas 1 y 6 meses.	Lesiones precancerosas en cérvix, vulva, vagina, ano. Cáncer de cérvix y ano.
GARDASIL (2006)	6, 11, 16 y 18 *Protección cruzada a VPH31.	- De 9 a 13 años: 2 dosis separadas 6 meses. - A partir de 14 años: 3 dosis separadas 2 y 6 meses.	Lesiones precancerosas en cérvix, vulva, vagina, ano. Cáncer de cérvix y ano. Verrugas genitales.
GARDASIL 9 (2015)	6, 11, 16 y 18 31, 33, 45, 52 y 58	- De 9 a 14 años: 2 dosis separadas mínimo 6 meses. - A partir de 15 años: 3 dosis separadas 2 y 6 meses.	Lesiones precancerosas y cáncer en cérvix, vulva, vagina y ano. Verrugas genitales.

Tabla 1. Vacunas disponibles frente al Virus del Papiloma Humano.

La vacunación contra el VPH comenzó en España en el 2007 comprendiendo a mujeres de 11 a 14 años administrando 3 dosis de *Cervarix*.

A pesar del desarrollo de diferentes vacunas la que continúa siendo de elección en el Servicio Cántabro de Salud es *Cervarix*, la cual aparece en el programa de vacunación del año 2023. En el ámbito privado la vacuna que se administra de manera preferente es *Gardasil 9*. (16)

Actualmente, la cobertura de población vacunada contra el VPH se estima que es un 79% en España y un 75,5% en Cantabria, recibiendo hasta la segunda dosis.

Un metaanálisis de 65 artículos publicado en 2019 por la OMS sobre la **protección e impacto que tienen los programas de vacunación sistemática** en niñas llegó a los siguientes resultados:

Desde la vacunación, se ha conseguido disminuir la infección por VPH16 y 18 un 83% en mujeres vacunadas de 13 a 19 años, un 66% en mujeres de 20 a 24 años y un 37% en mujeres de 25 a 29 años. Se observó además un aumento no significativo estadísticamente en las infecciones por VPH de los genotipos de alto riesgo no incluidos en la vacuna y que no poseen protección cruzada.

La aparición de lesiones premalignas (CIN2 y CIN3) tras la administración de la vacuna también se ha visto reducida en un 51% en mujeres de 15 a 19 años y un 31% en mujeres de 20 a 24 años. Por el contrario, se observó un aumento de estas lesiones en mujeres mayores de 25 años como consecuencia de la no vacunación en este rango de edad.

El impacto de la vacunación en el cáncer de cuello uterino en mujeres, pese a que se estimaba que no se podrían sacar conclusiones hasta 20 años después de la implantación se ha observado en un análisis publicado en 2021 su efecto protector. En él se recoge una reducción del cáncer de cuello de útero del 34% en mujeres vacunadas entre los 16 y 18 años, un 62% en vacunadas a los 14 y 16 años y un 87% en vacunadas

a los 12 y 13 años. También se observó una reducción en el diagnóstico de CIN3.(17)
En octubre de 2022 se ha aprobado la vacunación a niños varones en España. A pesar de que ya se muestren efectos beneficiosos en varones como consecuencia de la vacunación en mujeres, un estudio realizado en Australia muestra una reducción del 21% de la infección tras la instauración de la vacunación universal.(18)

Se puede concluir con todo ello que tanto las lesiones benignas (verrugas anogenitales) como las lesiones de alto grado (lesiones precancerosas y cáncer de cérvix) se han visto reducidas tras la instauración de un programa vacunal, y su reducción es mayor a medida que se disminuye la edad de vacunación. La vacunación universal ha supuesto también una disminución de la infección de VPH y aparición de verrugas anogenitales. Además, los programas de vacunación en mujeres confieren protección comunitaria a hombres heterosexuales no vacunados y mujeres no vacunadas, lo cual no se observa en hombres homosexuales.

A pesar de la vacunación las mujeres continúan con la exposición a otros genotipos del VPH que también pueden causar lesiones de alto riesgo.

4.4. CRIBADO DEL CÁNCER DE CÉRVIX: (1,8,19–22)

El objetivo de la prueba de cribado es la reducción de la mortalidad a causa del cáncer de cuello uterino aplicado en mujeres asintomáticas de manera periódica como mecanismo de prevención secundaria. Por medio del cribado se detectan lesiones escamosas de alto grado y carcinoma epidermoide, pero no es un método diagnóstico. La mayoría de las lesiones de bajo grado carecen de potencial maligno y remiten espontáneamente.

El **Programa de cribado actual implantado en España**, actualizado en 2019, se inicia a los 25 años independientemente de haber iniciado la práctica de relaciones sexuales o el estado vacunal. Por debajo de esta franja de edad, no se realiza ningún tipo de cribado ya que un gran número de infecciones y lesiones de bajo grado que se detectan son transitorias, evitando el sobrediagnóstico y sobretratamiento.

Entre los 25 y 29 años se realizará una citología cada 3 años. No se usa la detección de VPH ya que conllevaría al sobrediagnóstico de infecciones transitorias que no generan daño epitelial.

A partir de los 30 y hasta los 65 años está indicada la realización de la determinación del VPH en una citología líquida cada 5 años. En caso de mujeres histerectomizadas se finaliza el programa de cribado. Las mujeres embarazadas continúan con el programa de cribado igual que la población general.

Finaliza a los 65 años si hay constancia de últimas dos determinaciones de VPH negativas, tres últimas citologías negativas o más de 20 años sin evidencia de neoplasia intraepitelial en mujeres con antecedentes. En caso de no cumplirse, se recomienda una detección de VPH a los 70 años. Se estima que con el aumento de la esperanza de vida se revise la edad de finalización de cribado alargándolo. (23)

A continuación, se procederá a explicar detalladamente las distintas técnicas empleadas en la profilaxis secundaria del cáncer cervical:

- **Citología convencional (Papanicolau):** Técnica de elección en la actualidad para mujeres jóvenes, con gran eficiencia y eficacia, demostrando la reducción del cáncer de cérvix escamoso en un 75%. Se basa en el estudio morfológico de las células recogidas por el cepillo de la zona endocervical, y con una espátula de madera del exocérvix depositado sobre un cristal y fijado posteriormente. El frotis es analizado posteriormente por el citopatólogo en busca de células atípicas y se describe el resultado. Finalmente, por la *Clasificación de Bethesda* (24) se informa sobre la citología (idoneidad de la muestra, categorización general e interpretación de resultado).

Los errores más frecuentes ocurren en la toma de la muestra. Un metaanálisis de 59 series concluyo que la sensibilidad es inversamente proporcional a la especificidad a la hora de interpretar la citología.

- **Citología líquida:** El método de obtención de la muestra es idéntico a la citología convencional con la diferencia de introducir tanto el cepillo como la espátula en una solución del líquido fijador. Posteriormente se extiende en una monocapa y es analizado por un patólogo.

Esta técnica supone una mejora en la calidad del material obtenido, su conservación y la posibilidad de poder ampliar el estudio de la muestra con análisis de material genético. Progresivamente ha ido sustituyendo a la citología convencional.

- **Detección de VPH:** Existen numerosos métodos comercializados con diferencias importantes entre ellos. Se obtiene una muestra cervical obtenida tanto por profesionales sanitarios como por la propia paciente. Se basa en detectar la presencia del VPH a través del material genético confiriendo un alto grado de especificidad por medio de la hibridación de distintas sondas. A través de esta técnica se permite conocer la carga viral, la integración del ADN en las células del huésped y el tipo de VPH.
 - PCR, REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA: consigue amplificar una muestra de ADN de manera que se puede identificar el tipo específico de VPH. También puede realizarse la detección de ARNm. El revelado de la técnica de PCR se puede realizar por diversos métodos comercializados.
 - HC2, CAPTURA DE HÍBRIDOS: Se utiliza un pool de sondas complementarias a los distintos genotipos de VPH de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68). También está disponible con los de bajo riesgo. Permite detectar la carga viral de manera semicuantitativa, por lo que se establece un umbral para la determinación de positivo y negativo y depende de dicho umbral la sensibilidad y especificidad. El inconveniente es que no permite distinguir la presencia de infecciones múltiples.
 - Detección de VPH de alto riesgo y genotipificación, técnicas de secuenciación masiva o NGS.

- **Marcadores moleculares:** El análisis de marcadores moleculares surge como consecuencia de la detección de infecciones transitorias y lesiones de bajo grado intraepiteliales a partir de la citología y de las técnicas de análisis de ADN. Por ello, a través de la expresión molecular celular se puede distinguir la transformación y la integración del ADN viral en la célula huésped convirtiéndose en neoplásica. Aportan una gran sensibilidad y especificidad.
 - ARNm E6 y E7: Es necesaria la integración del material genético del virus en el del huésped para la transcripción a ARNm y la expresión de ambas proteínas. Se observó que las mujeres con ARNm E6 y E7 positivo tenían un riesgo 70 veces mayor de progresión de lesiones cervicales a CIN2+.
 - Proteína p16 INK4a: Es un inhibidor de las quinasas dependientes de ciclinas y por tanto inhibe la proteína del Rb, cuya función principal es inhibir la división celular. En el Cáncer de cérvix la p16 se encuentra sobreexpresada. Muy específica y disminuye los errores intra/interobservador. En un estudio se manifiesta que el 44% de las mujeres con LSIL y sobreexpresión de p16 progresaron a HSIL.
 - Ganancia del brazo largo cromosoma 3: Es la alteración genética más frecuente encontrada en los carcinomas invasivos de cuello de útero, presente en más del 90% de los casos. Esta ganancia genética contribuye a la carcinogénesis debido a que en esa región se encuentra un gen que forma parte del ARN de la telomerasa.

En caso de dar positivo una prueba de cribado, se procederá a la realización de la técnica inversa, es decir, en caso de haberse realizado una citología se realizará una determinación de VPH y al revés. En caso de continuar con un diagnóstico de sospecha se procederá a la realización de una colposcopia y la toma de una biopsia cervical.

5. HIPÓTESIS:

La prevención primaria mediante la vacunación universal junto con la prevención secundaria ha supuesto un gran avance en la detección precoz y disminución de la mortalidad por cáncer de cérvix.

Como consecuencia de estas medidas preventivas, el espectro de infección por Virus del Papiloma Humano ha cambiado.

Por otro lado existe un cambio en el método de cribado poblacional auspiciado por el Ministerio de Sanidad en el que se favorece la prueba de detección de VPH frente a la citología.

Por ello, el objetivo del trabajo es analizar la distribución de los genotipos del VPH en lesiones premalignas y carcinoma cervical diagnosticadas en el Servicio Cántabro de Salud en 2022 y compararla con series previas de nuestro propio entorno (tanto prevacunales como postvacunales iniciales).

Asimismo pretendemos comprobar si la implantación de la vacuna ha introducido un cambio en los genotipos causantes de las lesiones, y por último incidir en la distribución de genotipos en el espectro de edad incluido en el programa de vacunación.

6. MATERIAL Y MÉTODOS:

Se trata de un estudio descriptivo y retrospectivo.

La población a estudio está constituida por 2009 mujeres que realizaron el programa de cribado oportunista de cáncer de cérvix del Servicio Cántabro de Salud en las fechas comprendidas del 1 de Enero de 2022 hasta el 19 de Octubre de ese mismo año. Se les realizó una citología líquida que fue analizada por una técnica de PCR con hibridación tipo específica en array de baja densidad (CLART HPV. GENOMICA SAU España).

Brevemente se realizó una toma de alícuota del vial de citología líquida (SurePath de Becton Dickinson) y se sometió a PCR frente a la región común L1 presente en todos los genotipos de VPH. Posteriormente se depositó el producto de PCR sobre un array de baja densidad en el que se encuentran presentes sondas específicas de 35 genotipos de alto y bajo riesgo de VPH, así como controles de amplificación y de integridad de la muestra (**Figura 3**).

La lectura del resultado se llevó a cabo en un lector HPV-CLART de la propia empresa Genomica SAU.

La obtención de los datos se procedió mediante los registros documentados por el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Los datos de distribución de genotipos así como el espectro de edades se obtuvieron asimismo del LIS de Anatomía Patológica (Gespath. Esblada systems).

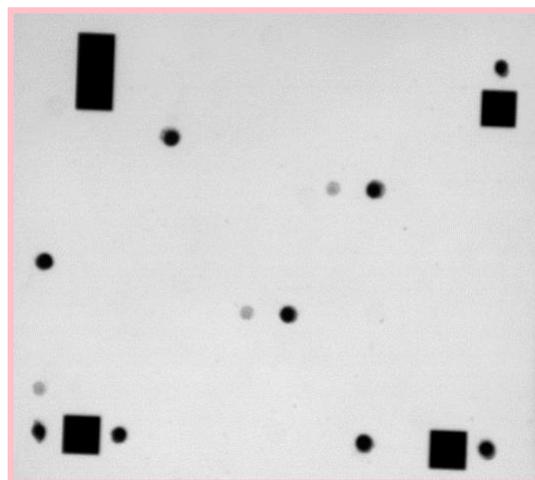


Figura 3. Array de baja densidad realizado sobre una muestra de citología líquida empleado para el genotipado de VPH. Imagen cedida por el Jefe de Servicio de Anatomía Patológica del HUMV, José Javier Gómez Román.

Se compararon los datos obtenidos con los que habían sido publicados por el HUMV en análisis previos (14)

Establecer la distribución de los genotipos virales y compararlo con los datos previos existentes previos a la vacunación.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

Los resultados obtenidos en este trabajo se obtienen del análisis de 2009 pacientes residentes en Cantabria que participaron en el programa de cribado oportunista de cáncer de cérvix del Servicio Cántabro de Salud en las fechas comprendidas del 1 de enero al 19 de octubre de 2022.

Una de las principales limitaciones presentes en el estudio es el desconocimiento del estado vacunal de las mujeres que llevaron a cabo la prueba de screening. Sin embargo, teniendo en cuenta que el 79% de la población española ha participado en el programa de vacunación, los resultados obtenidos son relevantes en el estudio del impacto de esta medida de prevención primaria.

Del total de las mujeres a las que se realizó la citología líquida resultaron positivas 926 personas, 1036 obtuvieron un resultado negativo y 47 fueron no valorables (ausencia de DNA íntegro en la muestra o presencia de inhibidores de la PCR). La prevalencia de personas infectadas por el VPH del estudio es del 46%.

Dentro de dichas pacientes, un 58% presentan a una infección por un solo genotipo y el 42% restante son coinfecciones, siendo un 25% correspondiente a una infección doble y el otro 17% infecciones múltiples, llegando una paciente a estar infectada por 8 genotipos diferentes. Cabe destacar que la mayoría de las infecciones, el 71% corresponden a genotipos considerados de alto riesgo, es decir, genotipos que presentan asociación al desarrollo de neoplasias.

Por medio de GENOMICA hemos podido desglosar los diferentes genotipos del virus del papiloma humano presentes en las mujeres infectadas de Cantabria. Se puede observar hasta un total de 32 genotipos diferentes. **(Figura 4).**

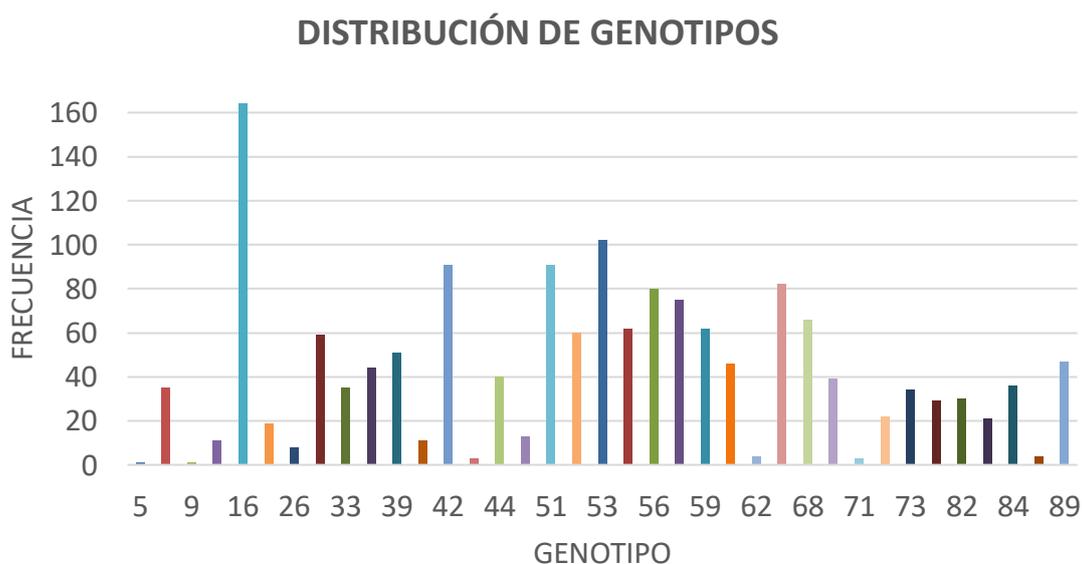


Figura 4. Distribución de los diferentes genotipos del VPH.

A continuación (**Tabla 2**), se muestran los resultados obtenidos en este estudio comparados con datos recogidos por otro estudio publicado en 2021 (14) con el fin de observar si ha habido variación en la prevalencia de los genotipos VPH6, VPH11, VPH16, VPH18, VPH31, VPH45, VPH51 y VPH52 tras 15 años desde el inicio de la vacunación.

Para ello se ha utilizado la prueba estadística Chi Cuadrado al tratarse de una variable cualitativa (infección por VPH) en muestras poblacionales diferentes dentro del mismo territorio, Cantabria.

GENOTIPO	PREVACUNACIÓN (2002 - 2007)	POSTVACUNACIÓN TARDÍA (2022)	P Valor
VPH6	324	35	1,3491E-20. Significativo
VPH11	125	11	1,79796E-09. Significativo
VPH16	927	164	3,49666E-41. Significativo
VPH18	183	19	3,1565E-12. Significativo
VPH31	219	59	0,000101052. Significativo
VPH45	28	13	0,992817019. No significativo
VPH51	165	91	0,182937179. No significativo
VPH52	43	60	5,45281E-09. Significativo
GENOTIPO	POSTVACUNACIÓN PRECOZ (2008 - 2016)	POSTVACUNACIÓN TARDÍA (2022)	P Valor
VPH6	799	35	1,51377E-05. Significativo
VPH11	407	11	2,59092E-05. Significativo
VPH16	2816	164	4,17566E-09. Significativo
VPH18	594	19	2,7015E-06. Significativo
VPH31	1308	59	4,90735E-08. Significativo
VPH45	285	13	0,014507965. No significativo
VPH51	987	91	0,787039196. No significativo
VPH52	811	60	0,142630766. No significativo
<p>Entre los años 2002 – 2007 fueron estudiadas un total de 3395 mujeres. Entre los años 2008 – 2016 fueron estudiadas un total de 17648 mujeres. En 2022 se estudiaron 1581 mujeres.</p>			

Tabla 2. Comparación de las infecciones de distintos genotipos de VPH en un periodo comprendido desde 2002 a 2022. Datos de prevacunación y postvacunación precoz obtenidos de Freire-Salinas J, Benito R, Azueta A, Gil J, Mendoza C, Nicolás M, et al. Genotype Distribution Change After Human Papillomavirus Vaccination in Two Autonomous Communities in Spain. Front Cell Infect Microbiol. 2021 Sep 22;11.

Por medio del análisis más en profundidad de la evolución de los distintos genotipos se puede destacar la disminución estadísticamente significativa de las infecciones por VPH6 ($p < 0,01$) y VPH11 ($p < 0,01$), ambos de **bajo riesgo** y responsables de la aparición de condilomas (**Figura 5**). Es preciso indicar que en el inicio de la vacunación gran número de niñas fueron vacunadas con Gardasil (no se dispone de la frecuencia exacta) que protege frente a los dos genotipos.

La aparición de condilomas acuminados supone la infección de transmisión sexual más prevalente a nivel mundial. A pesar de ello, no se realiza la determinación del genotipo del VPH de forma habitual ya que no supone ningún cambio a nivel diagnóstico ni

terapéutico. Un estudio del Hospital General Universitario de Valencia sobre el genotipado de las verrugas genitales publicado en 2022 apoya los resultados obtenidos (25) exponiendo la disminución de la prevalencia de VPH6 y VPH11 a expensas de la vacunación universal.

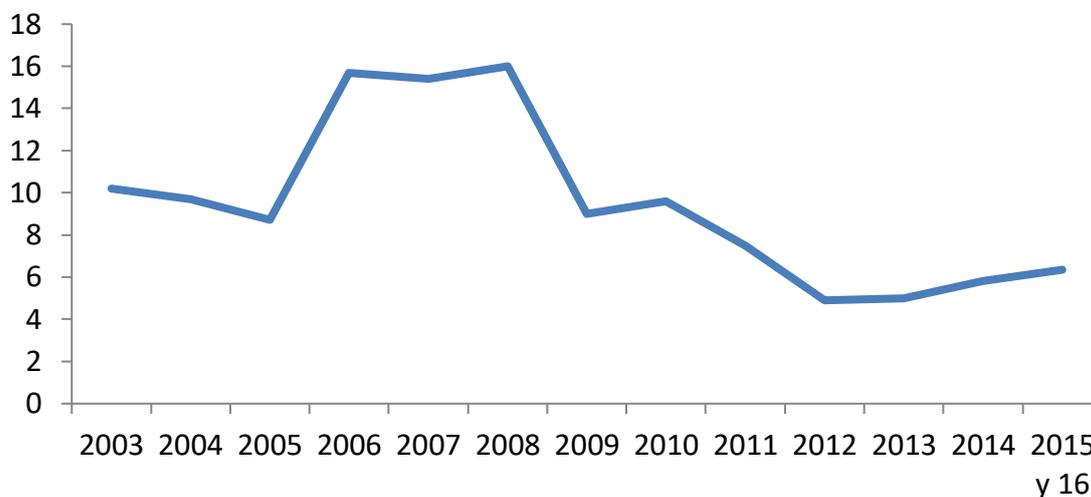


Figura 5. Incidencia del VPH6 y VPH11 desde el 2003 hasta 2016. Datos cedidos por el Jefe de Servicio de Anatomía Patológica del HUMV, José Javier Gómez Román.

En los **genotipos de alto riesgo** se ha concluido la disminución estadísticamente significativa de VPH31 (**Figura 6**) con respecto a la prevacunación y la postvacunación precoz ($p < 0,01$ en ambos). Este descenso puede explicarse debido a la protección cruzada de Cervarix sobre él.

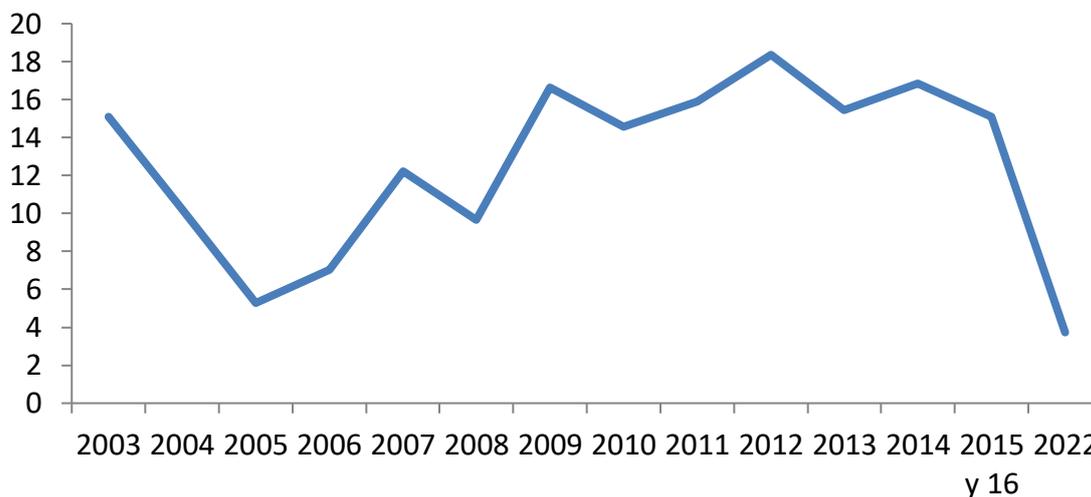


Figura 6. Incidencia del VPH31 desde el 2003 hasta 2022. Datos cedidos por el Jefe de Servicio de Anatomía Patológica del HUMV, José Javier Gómez Román.

A pesar de que el genotipo VPH45 (**Figura 7**) también presente dicha protección cruzada en la vacunación no ha habido un descenso estadísticamente significativo en comparación con el periodo prevacunación ($p > 0,01$) ni con la postvacunación precoz ($p > 0,01$).

Otros genotipo que tampoco ha mostrado una disminución significativa es VPH 51 (**Figura 8**).

En cambio, el VPH52 (**Figura 9**) ha presentado una aumento significativo de las infecciones a partir del inicio del programa vacunal como se muestra entre el periodo prevacunación y vacunación precoz, y un aumento no significativo al compararlo con la postvacunación tardía. Esto puede explicar un posible efecto nicho, es decir, aumento de los genotipos no cubiertos por la vacuna en decremento de los que sí están cubiertos.

Este efecto nicho se encuentra en discusión en la actualidad. Un estudio italiano publicado en 2018 (26) plantea si el aumento en la prevalencia se deba a un aumento real, produciendo un reemplazo de genotipos o bien ocurra como consecuencia de un enmascaramiento del diagnóstico del VPH52 previo a la instauración de la vacuna, cuando las concentraciones de VPH16 eran mayores.

Otro estudio reciente, publicado en 2021 por un equipo danés respalda esta hipótesis añadiendo la necesidad de realizar un estrecho seguimiento a la evolución de los genotipos de manera más específica. Además del VPH52, un metaanálisis británico publicado en 2016 (27) también plantea un posible aumento en VPH39, VPH53 y VPH73.

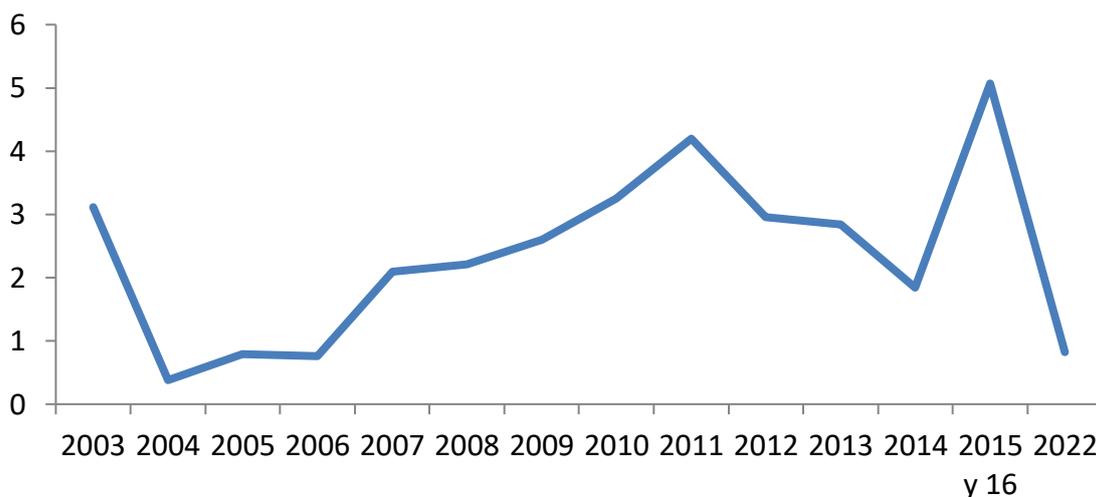


Figura 7. Incidencia del VPH45 desde el 2003 hasta 2022. Datos cedidos por el Jefe de Servicio de Anatomía Patológica del HUMV, José Javier Gómez Román.

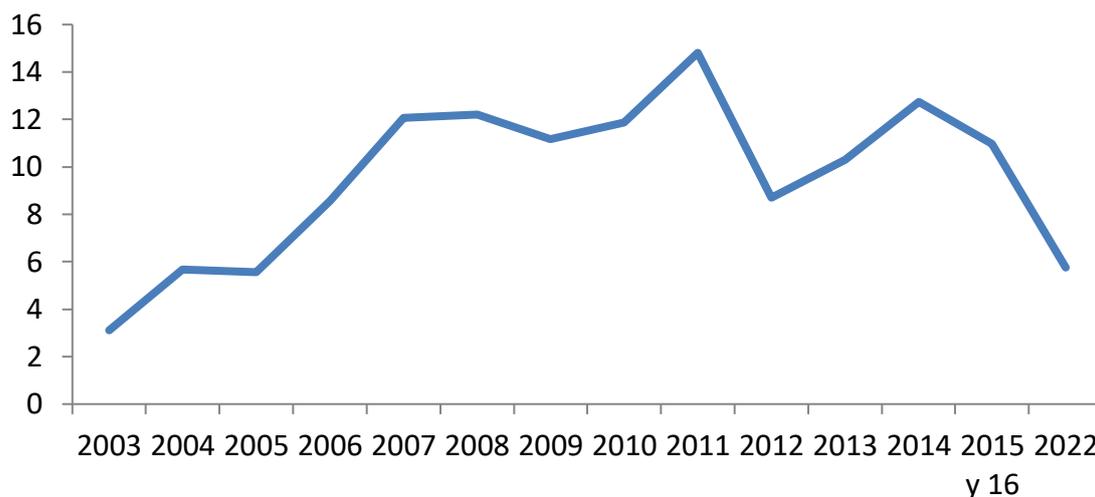


Figura 8. Incidencia del VPH51 desde el 2003 hasta 2022. Datos cedidos por el Jefe de Servicio de Anatomía Patológica del HUMV, José Javier Gómez Román.

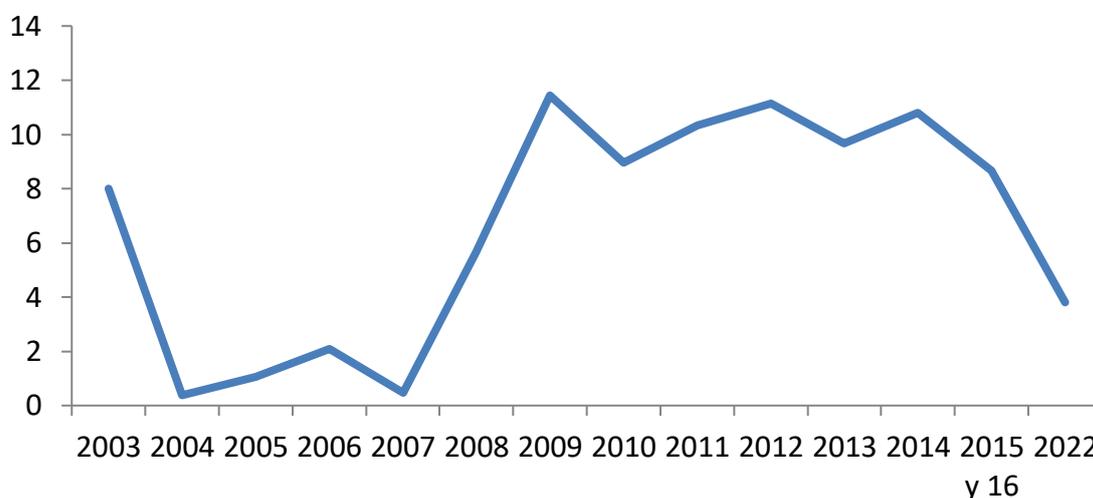


Figura 9. Incidencia del VPH52 desde el 2003 hasta 2022. Datos cedidos por el Jefe de Servicio de Anatomía Patológica del HUMV, José Javier Gómez Román.

Los principales genotipos que poseen poder oncogénicos son el VPH18 y VPH16 y por ello ambos genotipos están incluidos en todas las vacunas disponibles. Respecto a la distribución del primero, la muestra estudiada es poco representativa ya que la prevalencia en España es menor que en otros territorios y tan solo 19 personas resultan infectadas.

El genotipo 16 es el agente causante más frecuente de infecciones del virus del papiloma humano, teniendo una prevalencia del 10,37% (**Figura 10**). Es el genotipo que más se ha relacionado con la aparición de lesiones malignas cervicales por lo que todas las vacunas desarrolladas presentan actividad contra él.

Como forma de comprobar el impacto de la vacunación en el VPH16 se puede analizar la edad de las mujeres infectadas por él. Cabe destacar los 38 años como la edad a la que más mujeres están infectadas por el genotipo. Este dato tiene relevancia, puesto que cuando se inició la vacunación en España (2007) tenían 22 años, y por tanto no

entraron en el programa de prevención del VPH. Lo mismo ocurre con los 35 y 46 años (prevalencia del 5,48% cada uno).

De la misma manera, la incidencia del VPH16 ha descendido de manera estadísticamente significativa tras la instauración de Cervarix (**Figura 11**). Tras la comparación de resultados publicados en artículos previos (14) y los recogidos en el estudio de la población en 2022 se debe destacar que en la población teóricamente vacunada la proporción de infecciones por VPH16 es muy baja con respecto a las mujeres de mayor edad que no entraron en el programa vacunal.

Para poder comprobar dicho efecto se debería realizar un seguimiento de las infecciones de las mujeres por debajo de 30 años, ya que constituyen a las que se comenzó a vacunar hace 15 años.

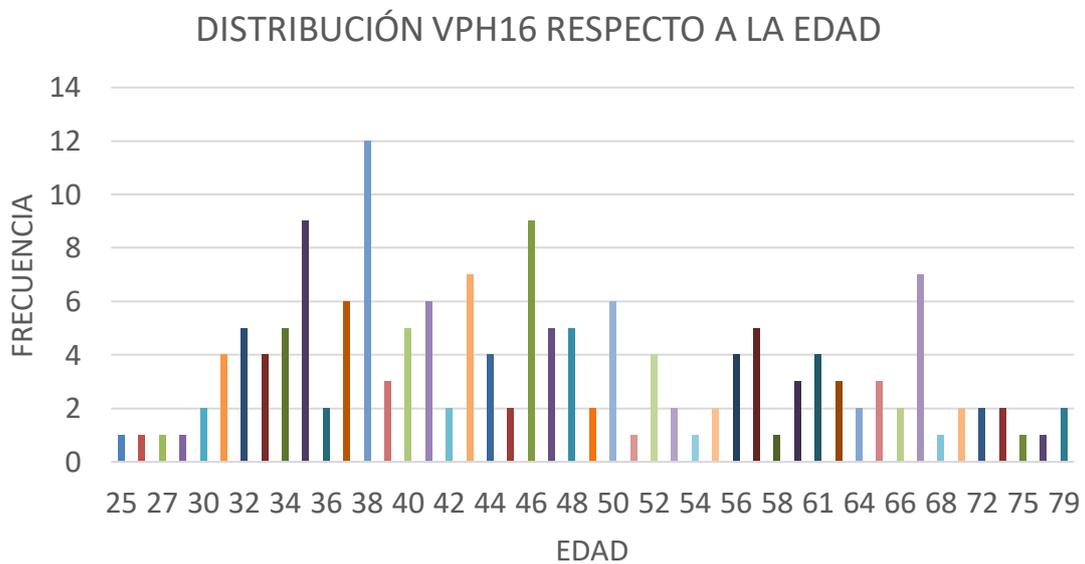


Figura 10. Distribución de la edad de las mujeres infectadas por VPH16.

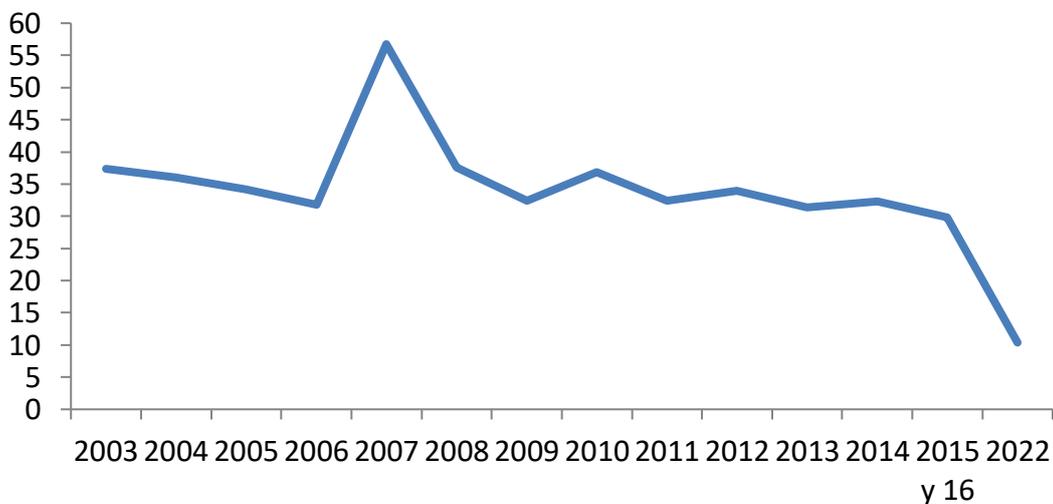


Figura 11. Incidencia del VPH16 desde el 2003 hasta 2022. Datos cedidos por el Jefe de Servicio de Anatomía Patológica del HUMV, José Javier Gómez Román.

8. CONCLUSIÓN:

- La modificación del método de cribado actual basado en la citología y detección de VPH por una técnica de genotipado supondría un mayor conocimiento sobre los cambios y la biología de la infección por VPH a nivel poblacional.
- Las vacunas utilizadas han contribuido a una disminución estadísticamente significativa de las proporciones de VPH de los tipos 6, 11, 16 y 18 en Cantabria evidentes ya en poblaciones jóvenes y más pronunciado conforme se ha consolidado la vacunación universal en la población diana.
- Se aprecia un efecto de inmunidad cruzada significativo desde el punto de vista estadístico de las vacunas utilizadas en Cantabria sobre el genotipo VPH31 con disminución del porcentaje de mujeres infectadas por dicho genotipo.
- Existe un efecto de incremento estadísticamente significativo entre la población prevacunal y la actual del genotipo VPH52 que podría indicar un efecto nicho y que debe ser evaluado en estudios posteriores.
- Existen muy escasos casos positivos para VPH16 en las mujeres incluídas en el rango de edad vacunado (entre 14 y 30 años de edad).
- En resumen la vacunación frente a VPH proporciona datos robustos de protección en la población de Cantabria en los genotipos incluidos y efectos de inmunidad cruzada. Sin embargo, existe el riesgo de incremento de algún genotipo no incluido en las vacunas que es preciso vigilar en oleadas sucesivas.

9. BIBLIOGRAFÍA:

1. Luis M. Puig-Tintoré, Javier Cortés, Xavier Castellsague, Aureli Torné, Jaume Ordi, Silvia Sanjosé, et al. Prevención del cáncer de cuello uterino ante la vacunación frente al Virus del Papiloma Humano. 2006 Nov;
2. Oliva C, Santos Dumont G, Pérez F, Zamorano R, Boettiger P. Rol del virus papiloma humano en cabeza y cuello Role of human papillomavirus in head and neck. 2021.
3. Betancort Santana C, Moujir L. VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO Y CÁNCER DE CUELLO UTERINO. 2021.
4. Perez Villena JF, Villoslada Terrones V. "GENOTYPING OF HUMAN PAPILOMA VIRUS IN ENDOCERVICAL ADENOCARCINOMA." 2022.
5. Aurora Limia Sánchez y Sonia Fernández Conde., José Antonio Navarro Alonso., Agustín Portela Moreira y Alicia Pérez González., David Moreno Pérez, Montserrat Martínez Marcos, María del Carmen Pacheco, et al. Recomendaciones de vacunación frente VPH en varones. Oct, 2022.
6. Bee KJ, Gradissimo A, Chen Z, Harari A, Schiffman M, Raine-Bennett T, et al. Genetic and epigenetic variations of hpv52 in cervical precancer. Int J Mol Sci. 2021 Jun 2;22(12).
7. Damiano OB, Garrido Rodríguez ED, Chipana Beltrán FN. FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD ESCUELA PROFESIONAL DE ENFERMERÍA. Universidad Roosevelt; 2021.
8. Mar Sánchez Movellán, Purificación Ajo Bolado, Mar Navarro Córdoba, M^a Luisa Valdecuende Mantilla, Yolanda Martín Seco, Yolanda Jubete Castañeda, et al. Protocolo de Detección Precoz de Cáncer de Cérvix. 2015 Jul.
9. Toro-Montoya AI, Tapia-Vela LJTV. Virus del papiloma humano (VPH) y cáncer. Medicina y Laboratorio. 2021 Apr 5;25(2):467–83.
10. Paz-Zulueta M, Fernández-Feito A, Amparán Ruiz M, Azofra Olave A, Martín Seco Y, Ojugas Zabala S, et al. Prevalencia de genotipos del virus del papiloma humano de alto riesgo no vacunables dentro del programa de Detección Precoz de Cáncer de Cérvix en Cantabria. Aten Primaria. 2016 Jun 1;48(6):347–55.
11. Sánchez Lorenzo L. Cáncer de Cérvix [Internet]. 2020 [cited 2023 Jan 4]. Available from: <https://seom.org/174-Información%20al%20Público%20-%20Patolog%C3%ADas/cancer-de-cervix>
12. Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia. Infección por el Virus del Papiloma Humano. Lesiones del tracto genital inferior y cáncer.
13. Sociedad Española de Oncología Médica. Las cifras de cáncer en España. 2022.
14. Freire-Salinas J, Benito R, Azueta A, Gil J, Mendoza C, Nicolás M, et al. Genotype Distribution Change After Human Papillomavirus Vaccination in Two Autonomous Communities in Spain. Front Cell Infect Microbiol. 2021 Sep 22;11.
15. Alemany L, Bayas JM, Borruel N, Campins M, Castellsagué X, Curran A, et al. Vacunación selectiva frente al virus del papiloma humano en poblaciones de riesgo elevado. Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia; 2016.
16. Consejo interterritorial - Sistema nacional de Salud. Calendario de vacunación a lo largo de toda la vida (2023) [Internet]. Available from: <https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacun>
17. Falcaro M CANB et al. The effects of the national HPV vaccination programme in England, UK, on cervical cancer and grade 3 cervical intraepithelial neoplasia incidence: a register-based observational study. The Lancet . 2021;
18. Chow EPF TSFC et al. Prevalence of human papillomavirus in young men who have sex with men after the implementation of gender-neutral HPV vaccination: a repeated cross-sectional study. The Lancet Infect . 2021 Oct;
19. Daniel Talal PA. PERSISTENCIA DE LESIONES CERVICOVAGINALES RELACIONADAS CON VPH POSTRATAMIENTO DE HSIL. 2019.

20. Aureli Torné Bladé, Marta del Pino, Daniel Andía Ortiz, Rosario Granados Carreño, Belén Lloveras Rubio, Amina Lubrano Rosales, et al. Prevención secundaria del Cáncer de Cuello de Útero, 2022. Conducta clínica ante resultados anormales de las pruebas de cribado. [Internet]. Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia; 2022. Available from: <http://www.gradeworkinggroup.org/>
21. Sanchez Gaitan E. Tamizaje y tratamiento de las lesiones precancerosas para la prevención del cáncer cervicouterino. *Revista Medica Sinergia*. 2019 Nov 1;4(11):e300.
22. Aliaga Lozano FE. Implicaciones epidemiológicas y clínicas del análisis genómico comparativo del Virus del Papiloma Humano [Internet]. 2022 [cited 2023 Jan 12]. Available from: <http://dspace.uib.es/xmlui/handle/11201/159761>
23. Ministerio de Sanidad. Programa de cribado Cáncer de Cérvix [Internet]. [cited 2023 Jan 30]. Available from: <https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/Cribado/CribadoCancerCervix.htm>
24. Ritu Naya, David C. Wilbur. *The Besthesda for Reporting Cervical Cytology*. Tercera Edición. 2015.
25. Magdaleno-Tapial J, Hernández-Bel P, Ortiz-Salvador JM, Casanova-Esquembre A, Lorca-Spröhnle J, Labrandero-Hoyos C, et al. Modificación de la prevalencia de genotipos del virus del papiloma humano en los condilomas acuminados tras la instauración de la vacuna profiláctica. *Actas Dermosifiliogr*. 2022 Oct;113(9):874–80.
26. Carozzi F, Puliti D, Ocello C, Anastasio PS, Moliterni EA, Perinetti E, et al. Monitoring vaccine and non-vaccine HPV type prevalence in the post-vaccination era in women living in the Basilicata region, Italy. *BMC Infect Dis*. 2018 Jan 15;18(1).
27. Mesher D, Soldan K, Lehtinen M, Beddows S, Brisson M, Brotherton JML, et al. Population-level effects of human papillomavirus vaccination programs on infections with nonvaccine genotypes. *Emerg Infect Dis*. 2016 Oct 1;22(10):1732–40.

10.AGRADECIMIENTOS:

Primero de todo me gustaría agradecer al Dr. Gómez Román por acompañarme a lo largo de todo el trabajo con sus consejos, dedicación y su plena disposición de ayudarme en lo que he necesitado. Además, por transmitir en todo momento la pasión que tiene a esta profesión tan bonita, motivo por el cual le escogí para que fuese mi tutor del TFG.

También quiero dar las gracias a mi hermano Ángel, por alegrarme todos los días y ser un ejemplo de que si quieres puedes. Por supuesto quiero agradecer a mis abuelos el cariño que me dan día a día y como mis logros los han convertido en los más grandes de los suyos.

Sobre todo gracias a mis padres. Gracias por haberme dado las alas para poder llegar a ser quien quiero ser, por apoyarme pase lo que pase, por sentir que somos un equipo siempre y por ser mi ejemplo a seguir de trabajo y esfuerzo. Tenéis una hija muy orgullosa de vosotros y ojalá ser, al menos la mitad de lo que sois.

Por último, gracias a todas aquellas personas que han hecho de estos 6 años una aventura que me da pena terminar convirtiendooos en mi familia, sobre todo a Adrián y a Bea, por ser lo más bonito que me ha dado la universidad.