

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA, CIRUGÍA Y ANATOMÍA VETERINARIA
FACULTAD DE VETERINARIA
UNIVERSIDAD DE LEÓN**



**VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (HPV) Y LESIONES
DISPLÁSICAS DEL CUELLO UTERINO: ESTUDIO
EPIDEMIOLÓGICO TRAS TRATAMIENTO
QUIRÚRGICO**

Ana Rosa González Medina

León 2015

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA, CIRUGÍA Y ANATOMÍA VETERINARIA
FACULTAD DE VETERINARIA
UNIVERSIDAD DE LEÓN**



**VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (HPV) Y LESIONES
DISPLÁSICAS DEL CUELLO UTERINO: ESTUDIO
EPIDEMIOLÓGICO TRAS TRATAMIENTO QUIRÚRGICO**

**Memoria de Tesis presentada por
D^a Ana Rosa González Medina para
optar al grado de Doctor por la
Universidad de León.**

A mi mejor maestro, mi mejor ejemplo, mi padre

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero hacer una mención especial para mis directores, los Doctores D^a Alicia Ester Serantes Gómez y Don José Salas Valién por su orientación, ayuda incansable y consejos, sin los cuales no hubiera sido posible la realización de este trabajo.

A los Doctores D^a Ana Carvajal Urueña y Don José Miguel Marcos por su incansable ayuda prestada y colaboración en el análisis estadístico de los datos, el cual no hubiera sido posible sin su dedicación y esfuerzo empleado ante la maraña de datos utilizados.

A la D^a Carmen Perandones Fernández por su dedicación, ya que siempre estaba buscando bibliografía acorde a este trabajo que me “pasaba” al momento además de resolver todas mis dudas. Cuando mis compañeros la veían aparecer por nuestro servicio sólo pensaban en qué suerte tenía yo por su dedicación y determinación para ayudarme y apoyarme en este trabajo. Pero no todo ha sido “ciencia” también hemos tenido momentos de “charleta” y “risas”.

Al Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de León por la ayuda proporcionada.

A mis compañeros del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Río Carrión de Palencia, lugar donde desempeño mi labor asistencial, ya que me han apoyado y ayudado inestimablemente en la realización de este estudio a pesar de todo el trabajo que hemos tenido.

A mis padres, Andrés y Rosario, hermano y hermanas Andrés, Mary y Sonia, muchas gracias por vuestra comprensión y ayuda, sin vosotros nada de esto hubiera sido posible.

A Emilio, por apoyarme en todo lo que hago, por darme ánimos y no dejarme desfallecer ante el esfuerzo dedicado a este trabajo, por ser tan luchador y no darme tregua a pesar del poco tiempo que te he dedicado...

A “Pipa” por ser tan especial... sin ti mi vida no sería igual, perdóname por no haberte dado tantos paseos como tú hubieras querido, pero seguro que lo entiendes...

Y en última instancia, a todas las personas que han contribuido a que este proyecto no se haya quedado en “nada”, así que también quiero expresarles todo mi cariño y mi agradecimiento más sincero.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ACO: Anticonceptivos hormonales

ADN: ácido desoxirribonucleico

AIS: adenocarcinoma in situ

AR: alto riesgo

ARN: ácido ribonucleico

ASCUS: atipias en células escamosas de significado incierto/indeterminado

BR: bajo riesgo

CIN/NIC: neoplasia intraepitelial cervical

CIS: carcinoma *in situ*

EGF: factor de crecimiento epidérmico

EGFR: receptor del factor de crecimiento epidérmico

ETS: enfermedad de transmisión sexual

FDA: Food and drug administration

HC2: *test* de captura de híbridos 2 URL: unidad relativa de luz

HIV: virus de inmunodeficiencia humana

HPV: virus del papiloma humano

HSIL/H-SIL: lesión escamosa intraepitelial de alto grado

KRF-1: factor de transcripción de queratinocitos 1

LEEP: escisión electroquirúrgica con asa de diatermia, conización con asa de diatermia

LSIL/L-SIL: lesión escamosa intraepitelial de bajo grado

NNK: 4-(N-nitrosometilamina)-1-(3-piridilo)-1-butanona (nitrosamina específica del tabaco)

ORL: otorrinolaringología

PCR: reacción en cadena de la polimerasa

PDGF: factor de crecimiento derivado de plaquetas

pRB: gen del retinoblastoma humano

SIL: lesión escamosa intraepitelial

ÍNDICE

I: INTRODUCCIÓN.....	3
II: OBJETIVOS.....	7
II.1.- OBJETIVO GENERAL	7
II.2.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	7
III: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	
III.1.- <u>CÁNCER DE CUELLO UTERINO</u>: GENERALIDADES.....	11
III.2.-<u>EPIDEMIOLOGÍA</u>.....	12
III.2.1. INCIDENCIA.....	12
III.2.2. MORTALIDAD.....	18
III.3.- <u>INFECCIÓN POR VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (HPV)</u>:.....	21
III.3.1.- PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR HPV.....	23
III.3.2.- ESTRUCTURA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (HPV).	26
III.3.3.- CLASIFICACIÓN DEL HPV.....	30
III.3.4.- INFECCIÓN E INTERACCIÓN VIRUS-HUÉSPED.....	33
III.3.5.- RESPUESTA INMUNE.....	39
III.3.6.- ONCOGÉNESIS.....	40
III.3.7.- LESIONES PRECURSORAS.....	44
III.3.8.- COFACTORES.....	50
III.4.-<u>PREVENCIÓN</u>.....	55
III.4.1.- PREVENCIÓN PRIMARIA.....	55
III.4.2.- PREVENCIÓN SECUNDARIA.....	56
III.4.2.A.- Citología.....	58
III.4.2.A.1.-Citología convencional.....	58
III.4.2.A.2.-Citología en medio líquido.....	60
III.4.2.A.3.-Sistemas de lectura automática.....	62
III.4.2.A.4.- Informe citológico (Bethesda).....	62

III.4.2.B.- Determinación de oncoproteínas por métodos inmunohistoquímicos.....	68
III.4.2.B.1.- p-16-INK4a (p16).....	68
III.4.2.B.2.- ki-67 (Mib1).....	70
III.4.2.B.3.- Tinción dual p16/ki-67.....	72
III.4.2.B.4.- Otras determinaciones IH.....	72
III.4.2.C.- Sistemas para la detección de ADN-HPV.....	74
III.4.2.C.1.- Captura de híbridos (Hybrid Capture® 2 o HC2) HPV DNA <i>test</i> (QIAGEN).....	75
III.4.2.C.2.- Cervista® HPV HR <i>test</i> (Hologic).....	76
III.4.2.C.3.- Cobas® 4800 HPV <i>test</i> (Roche).....	77
III.4.2.C.4.- Aptima® HPV <i>test</i> (Gen-Probe Inc.).....	77
<u>III.5.- PROGRAMA DE PREVENCIÓN Y DETECCIÓN PRECOZ DEL CÁNCER DE CUELLO DE ÚTERO</u>	78
<u>III.6.- COLPOSCOPIA</u>	89
<u>III.7.- ESTUDIO HISTOLOGICO</u>	92
III.7.1.- Biopsia de cérvix.....	92
III.7.2.- Legrado endocervical.....	95
III.7.3.- Conización.....	96
<u>III.8.- TRATAMIENTO DE LAS LESIONES PRECURSORAS</u>	99
III.8.1.- Destructivos.....	100
III.8.2.- Escisionales.....	101
<u>III.9.- LESIÓN PRENEOPLÁSICA Y CÁNCER DE CÉRVIX EN EMBARAZO</u>	103
<u>III.10.- HPV EN OTRAS LOCALIZACIONES</u>	105
<u>III.11.- VAIN (Neoplasia Vaginal Intraepitelial)</u>	111
IV: MATERIAL Y MÉTODOS	115
IV.1.- PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO	115
IV.2.- POBLACIÓN DE ESTUDIO	115

IV.2.1.- Criterios de inclusión.....	116
IV.2.2.- Criterios de exclusión.....	116
IV.3.- <u>PROTOCOLO DE ESTUDIO</u>	117
IV.4.- <u>VARIABLES DEL ESTUDIO</u>	119
IV.5.- <u>ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS</u>	124
IV.5.1.- Estadística descriptiva.....	125
IV.5.2.- Estadística analítica o inferencial.....	125
V: RESULTADOS	129
V.1.- <u>ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS EPIDEMIOLÓGICOS:</u>	
<u>EDAD</u>	129
V.2.- <u>ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS COFACTORES</u>	133
V.2.1. COFACTORES DE ADQUISICIÓN DE LA INFECCIÓN POR HPV:	
ANTECEDENTES OBSTÉTRICOS:	134
V.2.1.A.- Gravidez.....	134
V.2.1.B.- Aborto.....	137
V.2.1.C.- Paridad.....	139
V.2.2.- COFACTORES IMPLICADOS EN LA CARCINOGENÉESIS.....	143
V.2.2.A.- Hábito tabáquico.....	143
V.2.2.B.- Anticoncepción hormonal (ACO).....	146
V.2.2.C.- Inmunidad.....	148
V.2.2.D.- Número de citologías previas al diagnóstico atípico.....	153
V.3.- <u>ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS DIAGNÓSTICOS</u>	156
V.3.1.- INFECCIÓN POR HPV.....	156
V.3.1.A.- <i>Test</i> de ADN-HPV.....	156
V.3.1.B.- Infección monogenómica/multigenómica.....	159
V.3.1.C.- Número de genotipos virales.....	162
V.3.1.D.- Infección por HPV de AR/BR.....	164
V.3.1.E.- Genotipado viral.....	167
V.3.2.- Hallazgos colposcópicos.....	172

V.3.3.- Diagnóstico citológico.....	175
V.3.4.- Biopsia cervical dirigida mediante colposcopia.....	178
V.3.5.- Pieza de conización cervical.....	181
V.3.5.A.- Diagnóstico histológico.....	181
V.3.5.B.- Localización de la lesión/carcinoma.....	183
V.3.5.C.- Tamaño de la lesión/carcinoma.....	186
V.3.5.D.- Estado de los bordes quirúrgicos.....	188
V.3.5.E.- Localización del borde quirúrgico afecto.....	191
<u>V.4.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS PRUEBAS REALIZADAS DURANTE EL SEGUIMIENTO CLÍNICO.</u>	196
V.4.1.- 6 MESES POSTCONIZACIÓN.....	198
V.4.1.A.- Citología	198
V.4.1.B.- <i>Test</i> ADN-HPV.....	199
V.4.2.- 12 MESES POSTCONIZACIÓN.....	202
V.4.2.A.- Citología.....	202
V.4.2.B.- <i>Test</i> ADN-HPV.....	203
V.4.3.- 24 MESES POSTCONIZACIÓN.....	208
V.4.3.A.- Citología.....	208
V.4.3.B.- <i>Test</i> ADN-HPV.....	209
<u>V.5.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS CASOS CON ENFERMEDAD RESIDUAL Y RECIDIVA.</u>	209
V.5.1.- CITOLOGÍA/ <i>TEST</i> ADN-HPV 12 MESES POSTCONIZACIÓN....	210
V.5.2.- ENFERMEDAD RESIDUAL/RECIDIVA (CONFIRMACIÓN HISTOLÓGICA).....	213
V.5.2.A.- Edad.....	215
V.5.2.B.- Paridad.....	218
V.5.2.C.- Anticoncepción hormonal (ACO).....	220
V.5.2.D.- Hábito tabáquico.....	223
V.5.2.E.- Inmunidad.....	224

V.5.2.F.- Genotipo HPV inicial.....	226
V.5.2.G.- Diagnóstico en la pieza de conización inicial.....	232
V.5.2.H.- Citología y <i>test</i> ADN-HPV postconización.....	236
V.5.2.I.- Tratamiento complementario.....	238
V.5.2.I.1.- Reconización.....	240
V.5.2.I.2.- Histerectomía.....	242
V.5.2.I.3.- Conización e histerectomía.....	243
<u>V.6.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS DIAGNÓSTICOS EN LA ÚLTIMA CITOLOGÍA Y <i>TEST</i> ADN-HPV REALIZADO</u>	246
<u>V.7.- CASOS ESPECIALES</u>	248
V.7.1.-Pacientes embarazadas.....	248
V.7.2.- Paciente con VAIN.....	263
VI: DISCUSIÓN	267
<u>VI.1.-DATOS EPIDEMIOLÓGICOS: EDAD</u>	267
<u>VI.2.- COFACTORES IMPLICADOS EN LA ADQUISICIÓN DE LA INFECCIÓN: ANTECEDENTES OBSTÉTRICOS</u>	268
<u>VI.3.- COFACTORES IMPLICADOS EN LA CARCINOGENESIS</u>	271
VI.3.1.- HÁBITO TABÁQUICO.....	271
VI.3.2.- USO DE ANTICONCEPTIVOS HORMONALES.....	274
VI.3.3.- INMUNODEPRESIÓN.....	276
VI.3.4.- NÚMERO DE CITOLOGÍAS PREVIAS.....	280
<u>VI.4.- RESULTADOS DE LOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS</u>	282
VI.4.1.- INFECCIÓN POR HPV.....	282
VI.4.2.- COLPOSCOPIA.....	304
VI.4.3.-BIOPSIA DE CÉRVIX.....	306
<u>VI.5.- CONDUCTA TERAPÉUTICA</u>	310
<u>VI.6.- SEGUIMIENTO</u>	324

VI.7.- <u>ENFERMEDAD RESIDUAL Y RECIDIVA</u>	329
VI.7.1.- CITOLOGÍA.....	333
VI.7.2.- <i>TEST</i> HPV POSTCONO.....	334
VI.7.3.- TRATAMIENTO QUIRÚRGICO COMPLEMENTARIO EN ENFERMEDAD RESIDUAL Y RECIDIVA.....	335
VI.8.- <u>CASOS ESPECIALES</u>	340
VI.8.1.- EMBARAZO.....	340
VI.8.2.- VAIN.....	341
VII: CONCLUSIONES	345
VIII: PROYECTOS DE FUTURO DE FUTURO	349
IX: RESUMEN	353
X: SUMMARY	359
XI: BIBLIOGRAFÍA	363

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Mapa de incidencia del cáncer de cérvix uterino. Tasas estandarizadas de edad estimada (mundial) por 100.000. Tomado de GLOBOCAN 2012 (IARC). *Section of Cancer Surveillance*

Figura 2: Incidencia y mortalidad asociada al carcinoma de cérvix a nivel mundial. Tomado de GLOBOCAN 2012 (IARC. *Section of Cancer Surveillance*)

Figura 3: Incidencia estimada de cáncer cervical en mujeres en Europa. Tomado de EUCAN, WHO 2012

Figura 4: Incidencia y mortalidad estimada en España, 2012. Tomado de EUCAN, WHO 2012

Figura 5: Mortalidad mundial estimada por cáncer de cérvix. Tomado de GLOBOCAN 2012 (IARC), *Section of Cancer Surveillance*

Figura 6: Mortalidad estimada para el cáncer de cérvix en Europa. Tomado de EUCAN, WHO 2012

Figura 7: Mapa de la prevalencia mundial de HPV en mujeres con citología normal. Tomado de ICO Information Centre on Human Papilloma Virus (HPV) and Cancer, 2015.

Figura 8: Prevalencia cruda por edad de infección por HPV en mujeres con citología normal a nivel mundial. Tomado de ICO Information Centre on Human Papilloma Virus (HPV) and Cancer, 2015
Figura 8: Estimaciones de la carga de enfermedad por infección cervical por VPH en España. Tomado de De San José, curso de la SEAP “Epidemiología Cáncer de cuello uterino en España”, 2014

Figura 9: Estimaciones de la carga de enfermedad por infección cervical por VPH en España. Tomado de De San José, curso de la SEAP “Epidemiología Cáncer de cuello uterino en España”, 2014

Figura 10: Estructura del genoma del HPV Tomado de Monograph IARC, 2005, pág 49 según Fehrmann & Laimins (2003)

Figura 11: Organización genómica del HPV. Tomado de HPV MEDICAL CENTER & MEDICAL GROUP (pág. Web) 2015

Figura 12: Árbol filogenético del HPV. Tomado de de Villiers (2004)

Figura 13: Clasificación de HPV según su riesgo oncogénico. Tomado de http://genomica.es/diagnostico_in_vitro_productos_clart_hpv2.cfm

Figura 14: Internalización del HPV en la célula. Tomado de <http://www.Inmunopaedia.org>

Figura 15: Replicación viral dentro de las células epiteliales. Tomado de www.Inmunopaedia.org

Imagen 16: Coilocito en citología convencional

Figura 17: Estrategias de evasión del sistema inmune. Tomado de www.Inmunopaedia.org

Figura 18: Función de p53 y pRB. Tomado de www.Inmunopaedia.org.

Figura 19: Inactivación de p53 y pRB. Tomado de www.Inmunopaedia.org

Figura 20: Proliferación de células con ADN dañado. Tomado de Inmunopaedia

Figuras 21 y 22: LSIL en citología en medio líquido

Figuras 23 y 24: HSIL en citología en medio líquido

Figura 25: Historia natural de la infección por HPV. Tomado de Schiffman, 2005 y de de Sanjosé, 2014

Figura 26: Desarrollo de la lesión preneoplásica y cáncer tras la infección por HPV.

Figura 27: Toma de muestras para citología cérvico-vaginal. Tomado de <http://www.androsmedic.com/blog/virus-del-papiloma-humano/>

Figura 28 y 29: Toma exocervical con espátula y diferentes modelos de espátula. Tomado de “Protocolo de detección precoz del cáncer cervical. Gobierno de Cantabria. Fuente: Figura modificada a partir de: European Commission. European

Figura 30 y 31: Toma endocervical. Tomado de “Protocolo de detección precoz del cáncer cervical. Gobierno de Cantabria. Figura modificada a partir de: European Commission. European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening. Second edition. Arbyn M, et al .Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 2008”

Figura 32: Extensión de la muestra citológica. Tomado de “Programa de cribado de cáncer de cuello de útero en Osakidetza” 2008.

Figura 33: Tomado de <http://g5tecnologiaeducativa.blogspot.com.es/p/thinprep.html>

Figura 34: Tomado de http://www.wcpl.com/physician_supplies.asp

Figura 35: Resultados de Citología: “Sistema Bethesda 2001 (modificado)”

Figura 36: LSIL en citología en medio líquido

Figura 37: Coilocito en citología convencional

Figura 38: HSIL en citología en medio líquido

Figura 39: Tinción p16 positiva en biopsia de cérvix con HSIL

Figura 40: Tinción inmunohistoquímica ki-67 en biopsia de cérvix con HSIL

Figura 41: Tinción inmunohistoquímica dual p16/ki-67 en citología en medio líquido

Figura 42: Recomendación de cribado. Tomado de “Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero”, 2014

Figura 43: Cribado en citología negativa y *test* ADN- HPV positivo. Tomado de “Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero”, 2014

Figura 44: Cribado en citología no satisfactoria. Tomado de “Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero”, 2014.

Figura 45: Cribado en ASCUS. Tomado de “Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero”, 2014

Figura 46: Cribado en ASCUS o LSIL en mujeres menores de 25 años. Tomado de “Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero”, 2014

Figura 47: Cribado en ASC-H. Tomado de “Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero”, 2014

Figura 48: Cribado en LSIL. Tomado de “Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero”, 2014

Figura 49: Cribado en mujeres postmenopáusicas con LSIL. Tomado de “Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero”, 2014

Figura 50: Cribado en HSIL. Tomado de “Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero”, 2014

Figura 51: cribado en mujer menor de 25 años con HSIL. Tomado de “Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero”, 2014

Figura 52: Cribado en AGUS/ACG. Tomado de “Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero”, 2014

Figura 53: Cribado en post-tratamiento de lesiones preneoplásicas. “Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero”, 2014

Figura 54: Terminología colposcópica del cuello uterino Clasificación colposcópica de IFCPC 2011. Tomado de <http://www.colpweb.org/docs/Nueva-Nomenclatura-IFCPC-aprobada.pdf>

Figura 55: LSIL en biopsia de cérvix

Figura 56: HSIL (CIN II) en biopsia de cérvix

Figura 57: Topografía de la lesión preneoplásica. Tomado de Puig-Tintoré, 2011.

Figuras 58 y 59: Diferentes tipos de asas de diatermia. Tomado de drbenjamingloria.com

Figura 60: Pieza de conización abierta a las 6 horarias

Figura 61: LSIL en biopsia de cérvix

Figura 62: HSIL en biopsia de cérvix

Figura 63: Carcinoma epidermoide en pieza de conización con infiltración estromal

Figura 64: Distribución por grupos de edad

Figura 65: Media de edad en función del diagnóstico histológico en la pieza de conización

Figura 66: Distribución del nº de gestaciones

Figura 67: Número medio de gestaciones por categoría diagnóstica

Figura 68: Distribución del nº de abortos

Figura 69: Nº medio de abortos por categoría diagnóstica

Figura 70: Distribución del nº de partos

Figura 71: Nº medio de partos por categoría diagnóstica

Figura 72: Nº medio de gestaciones, abortos y partos por categoría diagnóstica

Figura 73: Distribución del hábito tabáquico

Figura 74: Hábito tabáquico (recuento) por categoría diagnóstica

- Figura 75:** Distribución del uso de ACO
- Figura 76:** Uso de ACO por categoría diagnóstica.
- Figura 77:** Distribución del estado inmunitario
- Figura 78:** Distribución del estado inmunológico e infecciones por otros agentes biológicos.
- Figura 79:** Distribución del n° de citologías previas al diagnóstico
- Figura 80:** Distribución del n° de citologías previas por categoría diagnóstica
- Figura 81:** Distribución del resultado *test* ADN- HPV
- Figura 82:** Distribución del resultado *test* HPV por categoría diagnóstica.
- Figura 83:** Distribución del tipo de infección.
- Figura 84:** Distribución del tipo de infección por categoría diagnóstica
- Figura 85:** Distribución del n° de genotipos virales
- Figura 86:** Distribución del porcentaje de infección por HPV de AR y de BR
- Figura 87:** Distribución de HPV de AR y BR por categoría diagnóstica.
- Figura 88:** Distribucion de frecuencias por genotipo HPV
- Figura 89:** Distribución de los hallazgos colposcópicos
- Figura 90:** Distribución de los hallazgos colposcópicos por grado de lesión
- Figura 91:** Distribución de los resultados citológicos.
- Figura 92:** Diagnóstico histológico y citológico.
- Figura 93:** Diagnóstico histológico en biopsia cervical
- Figura 94:** Distribución de las categorías diagnósticas.
- Figura 95:** Distribución de la localización de la lesión
- Figura 96:** Distribución de la localización por categoría diagnóstica.
- Figura 97:** Distribución del tamaño de la displasia en la pieza de conización (mm.)
- Figura 98:** Distribución del tamaño por categoría diagnóstica
- Figura 99:** Distribución estado de los bordes quirúrgicos
- Figura 100:** Distribución de estado de bordes de resección por categoría diagnóstica
- Figura 101:** Distribución de los bordes quirúrgicos afectos
- Figura 102:** Distribución de la localización del borde afecto por categoría diagnóstica.
- Figura 103:** Distribución de borde afecto por localización de la lesión

- Figura 104:** Distribución de los resultados citología 6 meses postconización
- Figura 105:** Distribución de frecuencias de resultado *test* ADN-HPV
- Figura 106:** Distribución del resultado del *test* ADN-HPV por estado de los bordes quirúrgicos
- Figura 107:** Distribución resultado citológico 12 meses postconización
- Figura 108:** Genotipos de HPV a los 12 meses postratamiento
- Figura 109:** Distribución de la persistencia viral e infección por otro genotipo HPV
- Figura 110:** Distribución del resultado *ttest* ADN-HPV 12 meses postcono por estado de bordes quirúrgicos
- Figura 111:** Distribución del resultado citología/*test* ADN-HPV 12 meses postcono
- Figura 112:** Distribución de enfermedad residual/recidiva
- Figura 113:** Distribución rango de edad en casos de lesión residual/recidiva
- Figura 114:** Distribución de enfermedad residual/recidiva por rangos de edad
- Figura 115:** Distribución n° de partos enfermedad residual/recidiva
- Figura 116:** Distribución uso de ACO en enfermedad residual/recidiva
- Figura 117:** Distribución ACO y enfermedad residual/recidiva
- Figura 118:** Distribución hábito tabáquico en enfermedad residual/recidiva
- Figura 119:** Distribución de estado inmunitario en enfermedad residual/recidiva
- Figura 120:** Distribución de *test* ADN-HPV inicial en enfermedad residual/recidiva
- Figura 121:** Distribución de resultados *test* ADN-HPV inicial y enfermedad residual/recidiva
- Figura 122:** Distribución de genotipos HPV de AR y BR en enfermedad residual/recidiva
- Figura 123:** Distribución de tipos de infección por categoría diagnóstica en enfermedad residual/recidiva
- Figura 124:** Distribución genotipos HPV inicial en enfermedad residual/recidiva
- Figura 125:** Distribución de estado de los bordes de la pieza de conización en enfermedad residual/recidiva
- Figura 126:** Distribución de localización de borde afecto en enfermedad residual/recidiva

Figura 127: Distribución de estado de los bordes quirúrgicos y enfermedad residual/recidiva

Figura 128: Distribución resultados pruebas 12 meses postcono en enfermedad residual/recidiva

Figura 129: Distribución tratamiento complementario en enfermedad residual/recidiva

Figura 130: Distribución de resultados citológicos a los 12 meses en enfermedad residual/recidiva

Figura 131: Distribución de resultados *test* ADN-HPV 12 meses postcono en enfermedad residual/recidiva

Figura 132: Distribución de categoría diagnóstica en pieza de histerectomía en enfermedad residual/recidiva

Figura 133: Distribución de la media de gestaciones, abortos y parto en embarazadas

Figura 134: Distribución del hábito tabáquico en embarazadas

Figura 135: Distribución del hábito tabáquico por categoría diagnóstica en embarazadas

Figura 136: Distribución del uso de ACO en embarazadas

Figura 137: Distribución de uso de ACO por categoría diagnóstica en embarazadas

Figura 138: Distribución de frecuencias de los hallazgos colposcópicos en embarazadas

Figura 139: Distribución de los hallazgos colposcópicos por categoría diagnóstica en embarazadas

Figura 140: Distribución de la categoría diagnóstica en biopsia en embarazadas

Figura 141: Distribución del estado de los bordes de conización en embarazadas

Figura 142: Distribución de tratamiento complementario en embarazadas

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Porcentaje de test ADN-HPV positivo y genotipos más frecuentes en otras localizaciones del tracto ano-genital a nivel mundial según los datos obtenidos de ICO

Tabla 2: Porcentaje de *test* ADN-HPV positivo y genotipos más frecuentes en área ORL por género a nivel mundial según los datos obtenidos de ICO

Tabla 3: Porcentaje de *test* ADN-HPV positivo y genotipo más frecuente en las lesiones de cavidad oral y orofaringe en mujeres y hombres de España según datos obtenidos de ICO

Tabla 4: Descripción de la variable edad

Tabla 5: Distribución por grupos de edad

Tabla 6: Descripción de la variable edad por categoría diagnóstica en la pieza de conización

Tabla 7: Distribución de frecuencias por nº de gestaciones.

Tabla 8: Descripción de la variable gravidez por categoría diagnóstica en la pieza de conización

Tabla 9: Distribución de frecuencias del nº de abortos

Tabla 10: Descripción de la variable abortos por categoría diagnóstica en la pieza de conización

Tabla 11: Descripción de la variable partos

Tabla 12: Distribución de frecuencias del nº de partos

Tabla 13: Descripción de la variable partos por categoría diagnóstica en la pieza de conización

Tabla 14: Distribución de frecuencias del hábito tabáquico

Tabla 15: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre la categoría diagnóstica y el consumo de tabaco

Tabla 16: Distribución de frecuencias del uso de anticonceptivos hormonales (ACO)

Tabla 17: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre la categoría diagnóstica y el uso de ACO

Tabla 18: Distribución de frecuencias del estado inmunitario

Tabla 19: Distribución de frecuencias de las alteraciones inmunológicas

Tabla 20: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre la categoría diagnóstica y el estado inmunológico

Tabla 21: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre la categoría diagnóstica y la infección por otros agentes biológicos.

Tabla 22: Distribución de frecuencias del nº de citologías previas al diagnóstico con displasia-ASCUS

Tabla 23: Número medio de citologías previas en función del diagnóstico histológico

Tabla 24: Distribución de los resultados del *test* HPV.

Tabla 25: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre la categoría diagnóstica y el resultado del *test* HPV

Tabla 26: Distribución del tipo de infección

Tabla 27: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre la categoría diagnóstica y el tipo de infección por HPV

Tabla 28: Distribución de frecuencias por nº de genotipos virales

Tabla 29: Descripción del nº de genotipos virales por categoría diagnóstica

Tabla 30: Distribución de infección por HPV de alto y bajo riesgo (AR/BR)

Tabla 31: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre la categoría diagnóstica y el grado de riesgo de los virus implicados.

Tabla 32: Distribución de frecuencias por genotipo HPV

Tabla 33: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre la categoría diagnóstica y el genotipo HPV

Tabla 34: Distribución de frecuencias de los hallazgos colposcópicos

Tabla 35: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre la categoría diagnóstica y los hallazgos colposcópicos

Tabla 36: Distribución de los resultados citológicos

Tabla 37: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre categoría diagnóstica y diagnóstico citológico

Tabla 38: Distribución de las categorías diagnósticas en la biopsia cervical

Tabla 39: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre categoría diagnóstica y en la biopsia

Tabla 40: Distribución de las categorías diagnósticas en la pieza de conización

Tabla 41: Distribución de localización de la lesión

Tabla 42: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre la categoría diagnóstica y localización de la lesión

Tabla 43: Descriptores del tamaño por categoría diagnóstica

Tabla 44: Distribución del estado de los bordes quirúrgicos

Tabla 45: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre categoría diagnóstica y afectación de bordes quirúrgicos

Tabla 46: Frecuencia de afectación de los bordes quirúrgicos por localización

Tabla 47: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación categoría diagnóstica y localización de bordes afectos

Tabla 48: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre localización de la lesión y localización del borde afecto

Tabla 49: Descriptores del seguimiento postconización

Tabla 50: Descriptores de seguimiento por categoría diagnóstica

Tabla 51: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre bordes pieza de conización y resultado *test* ADN-HPV

Tabla 52: Distribución genotipado HPV 12 meses postratamiento

Tabla 53: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre estado de bordes quirúrgicos y resultado *test* ADN-HPV 12 meses

Tabla 54: Distribución resultado citología y *test* ADN-HPV 12 meses postcono

Tabla 55: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre estado de los bordes quirúrgicos y resultado de pruebas realizadas durante seguimiento postconización (12 meses)

Tabla 56: Distribución de enfermedad residual/recidiva

Tabla 57: Distribución de enfermedad residual y recidiva

Tabla 58: Distribución rangos edad en enfermedad residual/recidiva

Tabla 59: Descripción de la variable edad en enfermedad residual/recidiva

- Tabla 60:** Distribución nº de partos en enfermedad residual/recidiva
- Tabla 61:** Descriptores de paridad en enfermedad residual/recidiva
- Tabla 62:** Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre ACO y enfermedad residual/recidiva
- Tabla 63:** Distribución según el hábito tabáquico en enfermedad residual/recidiva
- Tabla 64:** Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre hábito tabáquico y enfermedad residual/recidiva
- Tabla 65:** Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre alteración del estado inmunitario y enfermedad residual/ recidiva
- Tabla 66:** Distribución de frecuencias *test* ADN-HPV inicial
- Tabla 67:** Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre enfermedad residual/recidiva y *test* ADN-HPV inicial
- Tabla 68:** Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre enfermedad residual/recidiva y tipo de infección
- Tabla 69:** Distribución de genotipos HPV inicial en enfermedad residual/recidiva
- Tabla 70:** Distribución del estado de los bordes en la pieza de conización en enfermedad residual/recidiva
- Tabla 71:** Distribución de localización del borde afecto en la pieza de conización en enfermedad residual/recidiva
- Tabla 72:** Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre enfermedad residual/recidiva y estado de los bordes quirúrgicos
- Tabla 73:** Distribución de resultados en pruebas realizadas durante 12 meses postcono en enfermedad residual/recidiva
- Tabla 74:** Distribución tratamiento complementario en enfermedad residual/recidiva
- Tabla 75:** Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre estado de los bordes y tipo de tratamiento complementario entre enfermedad residual/recidiva
- Tabla 76:** Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre categoría diagnóstica en cono y recono en enfermedad residual/recidiva
- Tabla 77:** Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre categoría diagnóstica en la pieza de reconización y en la pieza de histerectomía

Tabla 78: Distribución de resultados citológicos en la última citología

Tabla 79: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre *test* ADN –HPV a los 12 meses postcono y resultado de la última citología

Tabla 80: Distribución categorías diagnósticas en pieza de conización en embarazadas

Tabla 81: Distribución del hábito tabáquico en embarazadas

Tabla 82: Distribución de uso de ACO en embarazadas

Tabla 83: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre categoría diagnóstica y los hallazgos colposcópicos en embarazadas

Tabla 84: Distribución de diagnóstico en biopsia cervical en embarazadas

Tabla 85: Distribución de categoría diagnóstica en pieza de conización en embarazadas

Tabla 86: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre categoría diagnóstica en pieza de conización y biopsia en embarazadas

Tabla 87: Distribución de resultados citológicos a los 6 y 12 meses postcono en embarazadas

Tabla 88: Distribución de resultado *test* ADN-HPV a los 6 y 12 meses postcono en embarazadas

I: INTRODUCCIÓN

Desde que hice los cursos de doctorado sabía que tendría que escoger un tema para desarrollar el proyecto de tesis doctoral si quería completar los estudios de postgrado y dado que me interesaban diferentes temas, la elección fue bastante compleja. La elección definitiva recayó sobre cómo una infección viral, en este caso el virus del papiloma humano (HPV), puede dar lugar a una neoplasia mediante un proceso oncogénico.

Cuando estaba realizando mis estudios en la facultad este tema me llamó mucho la atención, aunque existían otros virus con capacidad oncogénica, la infección por este virus era muy frecuente y no sólo afectaba a determinados grupos de riesgo, sino que podía afectar a cualquier mujer y a pesar de existir métodos para una prevención primaria y secundaria como el cribado cérvicovaginal todavía la tasa de incidencia de las lesiones preneoplásicas y carcinoma, así como su mortalidad, era muy alta. Después, cuando ya me especialicé, tuve conocimiento de primera mano de esta realidad. Hoy en día, en el desempeño de mi actividad asistencial, sigo encontrando casos de HSIL y cáncer de cérvix en mujeres jóvenes o de mediana edad que posteriormente serán tratadas mediante conización y/o histerectomía radical; pero el problema no queda resuelto únicamente con el tratamiento quirúrgico, ya que tienen que continuar con un protocolo de seguimiento del área ano-genital durante años por el riesgo incrementado de desarrollar otras lesiones preneoplásicas en esa localización e incluso el área ORL.

Así que me decidí a realizar un estudio sobre las mujeres que habían sido conizadas y su posterior seguimiento tras observar dos pacientes de 50 y 48 años de edad con carcinoma epidermoide de vulva y lesión preneoplásica de alto grado (VAIN 2) respectivamente, que habían sido conizadas previamente por HSIL; por lo que me pareció muy interesante hacer un estudio epidemiológico de las pacientes conizadas en el Complejo Universitario de León y su evolución, en un intento de mejorar la comprensión de este proceso, de cara a una posible prevención y optimización de sus tratamientos.

II: OBJETIVOS

II.1.- OBJETIVO GENERAL

Este trabajo se plantea con el fin de dar respuesta al siguiente punto:

Valoración de la evolución y seguimiento realizado en pacientes diagnosticadas de lesión displásica en cérvix uterino y tratadas con conización con asa de diatermia.

II.2.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Análisis de la influencia de los distintos parámetros histológicos de la pieza quirúrgica de conización en los casos con enfermedad residual y/o recidiva, como son:

Afectación de bordes, y en el caso de existir afectación, reseña de la localización

Relación entre borde afecto y recidiva

Estudio de la prevalencia de los distintos tipos de virus HPV en las pacientes tratadas con conización y su relación entre grado de displasia y persistencia:

Constatación de la existencia o no de relación entre las infecciones múltiples y persistencia de lesión postconización

Valoración del tiempo de aclaramiento del virus HPV en las pacientes curadas tras tratamiento con conización

Valoración de la incidencia de casos con lesión residual y/o recidiva tras conización

Valoración de la incidencia de casos con progresión de lesión preneoplásica

Valoración de la incidencia de infecciones o reactivación de HPV tras el tratamiento

III.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

III.1.- CÁNCER DE CUELLO UTERINO: **GENERALIDADES**

El cáncer de cuello uterino se define según el Instituto Nacional del Cáncer de EEUU como el “cáncer que se forma en los tejidos del cuello uterino (el órgano que conecta el útero con la vagina)”, desarrollado fundamentalmente a partir de los epitelios de revestimiento: epitelio pavimentoso poliestratificado del exocérvix, que daría lugar a carcinoma epidermoide o epitelio glandular del endocérvix, a partir del cual se desarrollaría un adenocarcinoma (De la Fuente, 2005; Gómez et al., 2007)

Mediante biología molecular se ha constatado la presencia de ADN del Virus del Papiloma Humano (HPV) en más del 99% de los cánceres cervicales, con lo que se ha definido un modelo molecular para la carcinogénesis inducida por HPV, y ante esta evidencia científica existe consenso mundial en que “el HPV es la causa necesaria, pero no suficiente, del cáncer de cérvix y de sus lesiones precursoras...”, ya que se observan gran número de infecciones por HPV que se resuelven espontáneamente (Puig-Tintoré et al., 2002).

Aunque este hallazgo ha sido uno de los descubrimientos más importantes de los últimos años en la investigación oncológica, se ha constatado que alrededor del 20 % de los casos de cáncer a nivel mundial se podrían atribuir a infección persistente, sobre todo por causa viral. Los virus implicados más frecuentemente, según Pagano et al., 2004; Zheng et al., 2010 y Frazer et al., en 2011, son:

Papilomavirus: implicado en el 5 % de los casos de cáncer a nivel mundial, con afectación del área anogenital y cabeza-cuello.

Hepatitis B y C: alrededor del 4 %, relacionado con cáncer hepático.

Virus de Epstein-Barr (VEB): alrededor del 2 %, relacionado con linfoma, carcinoma nasofaríngeo y gástrico.

Virus linfotrópico Humano de células T tipo 1 (HTLV-1): menos del 1 %, en relación con linfoma en SNC.

HIV-1: menos del 1 %

Herpesvirus Humano 8 (HHV-8): menos del 1 %, en sarcoma de Kaposi.

Poliomavirus de células de Merkel: menos del 1 %, en carcinoma de células de Merkel.

En la mayor parte de los casos de cáncer de cérvix existe una fase previa de preinvasión, con una evolución relativamente lenta, denominada neoplasia cervical intraepitelial, la cual no tiene poder metastatizante. Si se detecta en esta fase y se realiza tratamiento, el adecuado a cada caso, se producirá la curación del proceso y prevención de su evolución a carcinoma.

El cáncer de cérvix es un importante problema de salud, dada su alta incidencia y potencial mortalidad, y dado que afecta principalmente a mujeres jóvenes, implica una morbilidad y mortalidad prematura, potencialmente evitable mediante la realización de determinadas actuaciones sanitarias

III.2.- EPIDEMIOLOGÍA

III.2.1.- INCIDENCIA

A nivel mundial el carcinoma de cérvix es el 4º tumor maligno más frecuente en la mujer, el 7º en cifras globales. Según la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC) en 2012 se contabilizaron 528.000 nuevos casos, con una gran variabilidad según la localización geográfica, dependiendo del nivel de desarrollo del país.

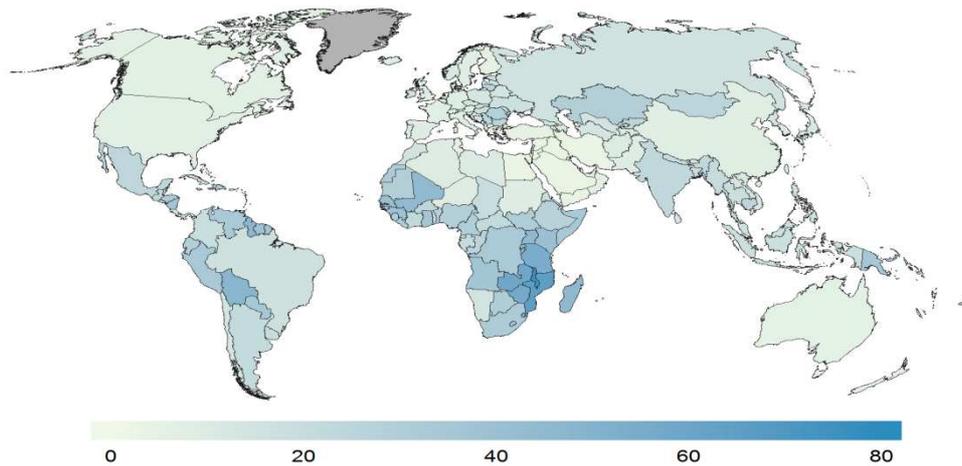


Figura 1: Mapa de incidencia del cáncer de cérvix uterino. Tasas estandarizadas de edad estimada (mundial) por 100.000. Tomado de GLOBOCAN 2012 (IARC). *Section of Cancer Surveillance*

Alrededor del 85 % de los casos se producen en países en vías de desarrollo, principalmente en África Oriental, Melanesia, África del Sur y África Central, con un riesgo estimado por edad mayor de 30, por lo que este tumor representa casi el 12 % del cáncer en mujeres en términos globales. Sin embargo, sólo el 16 % de todos los casos se producen en los países desarrollados (Bray et al., 2008; Ferlay et al., 2013; <http://globocan.iarc>.)

International Agency for Research on Cancer

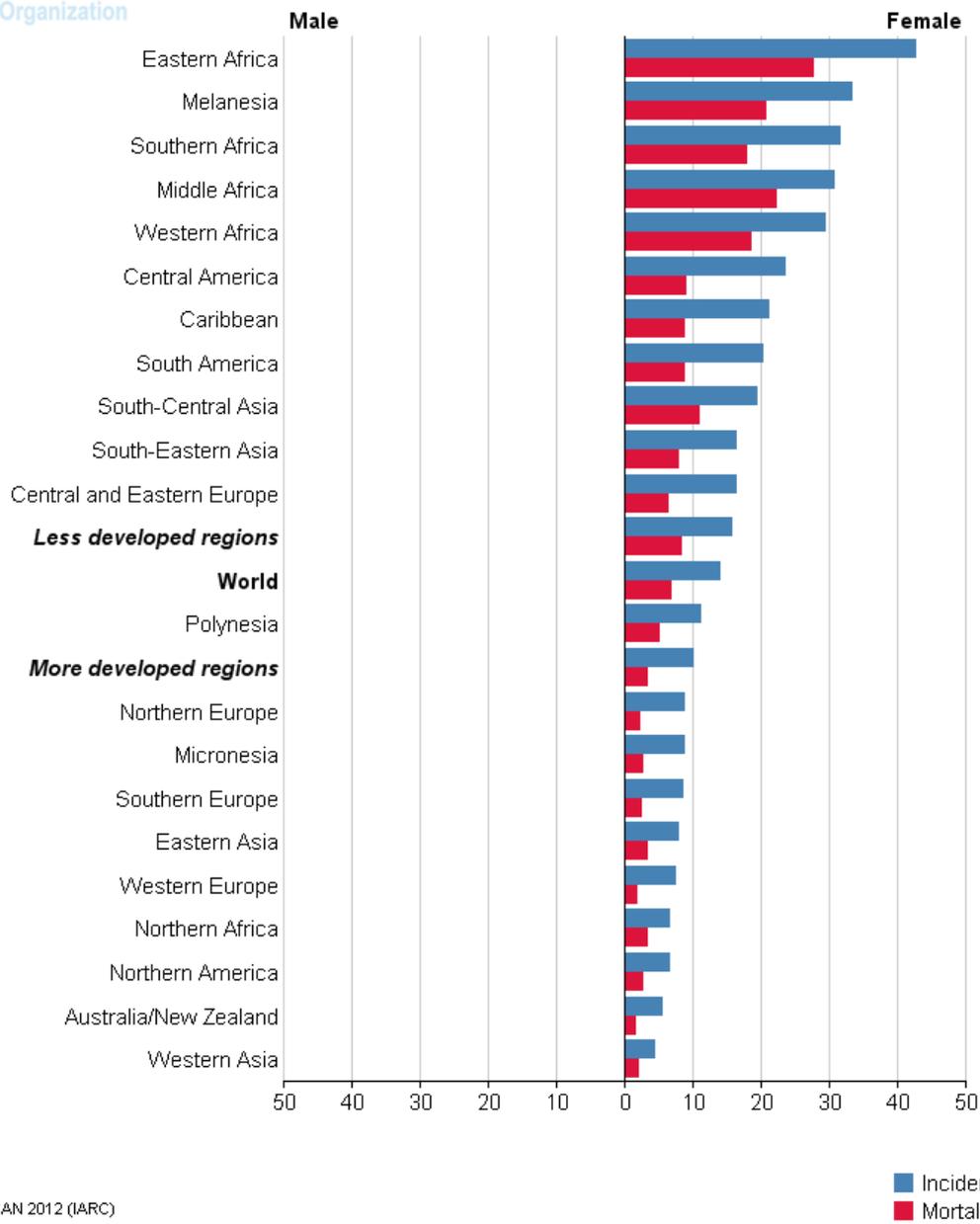


Figura 2: Incidencia y mortalidad asociada al carcinoma de cérvix a nivel mundial. Tomado de GLOBOCAN 2012 (IARC. Section of Cancer Surveillance)

En la Unión Europea también se observan diferencias significativas entre los diferentes países, con 33.354 casos estimados en 2012, y una incidencia de 11,3 casos

por 100.000 mujeres/año, por lo que representa el 7º tumor más frecuente en mujeres (Bray et al., 2008; Ferlay et al., 2013; <http://globocan.iarc>).

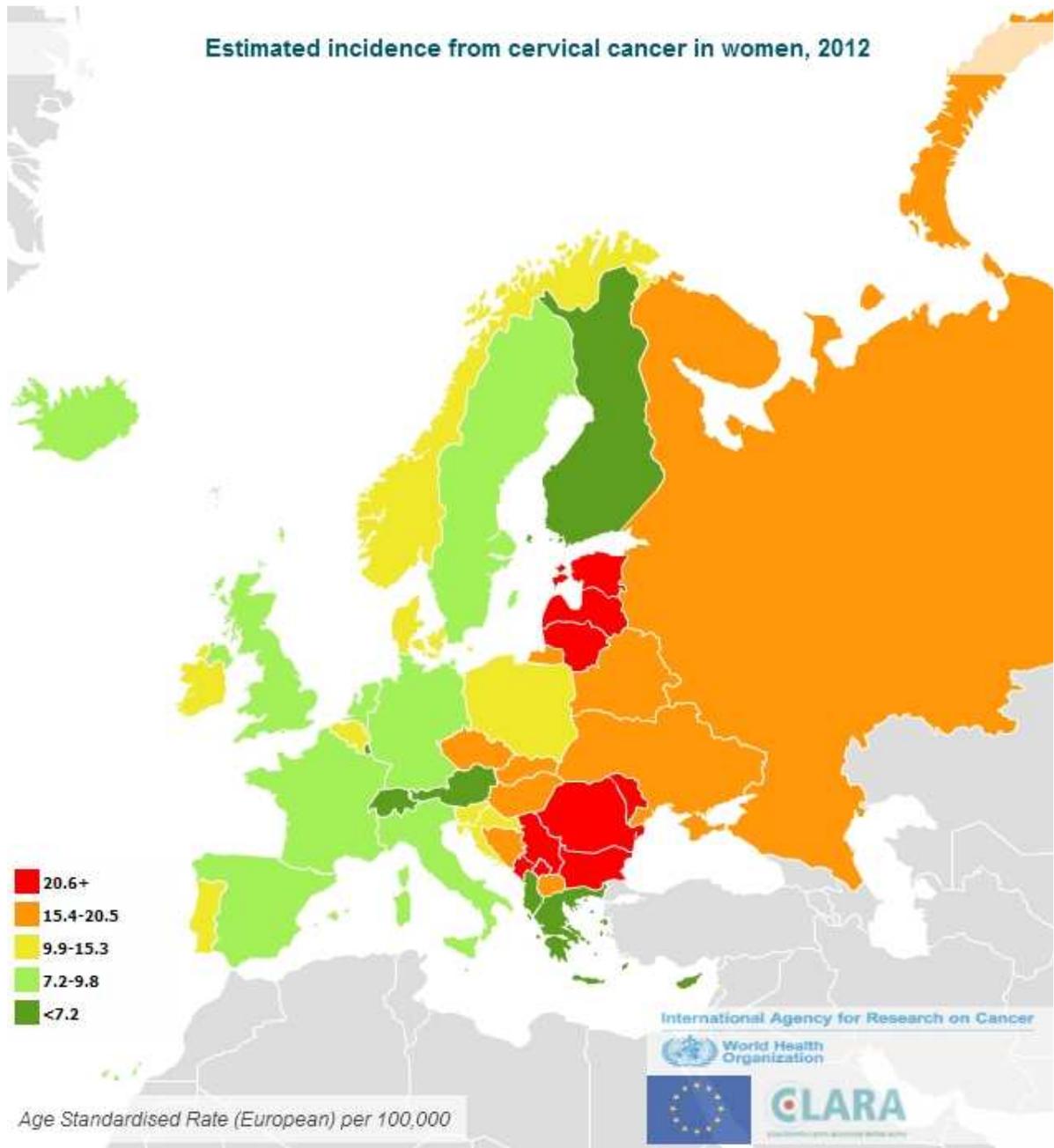


Figura 3: Incidencia estimada de cáncer cervical en mujeres en Europa. Tomado de EUCAN, WHO 2012

En España, con 2.511 casos de cáncer de cérvix diagnosticados en 2012, que suponen una incidencia de 9,1 casos por 100.000 mujeres/año, el cáncer de cérvix es el sexto tumor más frecuente en las mujeres (Bray et al., 2008; Ferlay et al., 2013; <http://eco.iarc.fr/eucan/CancerOne.aspx>).

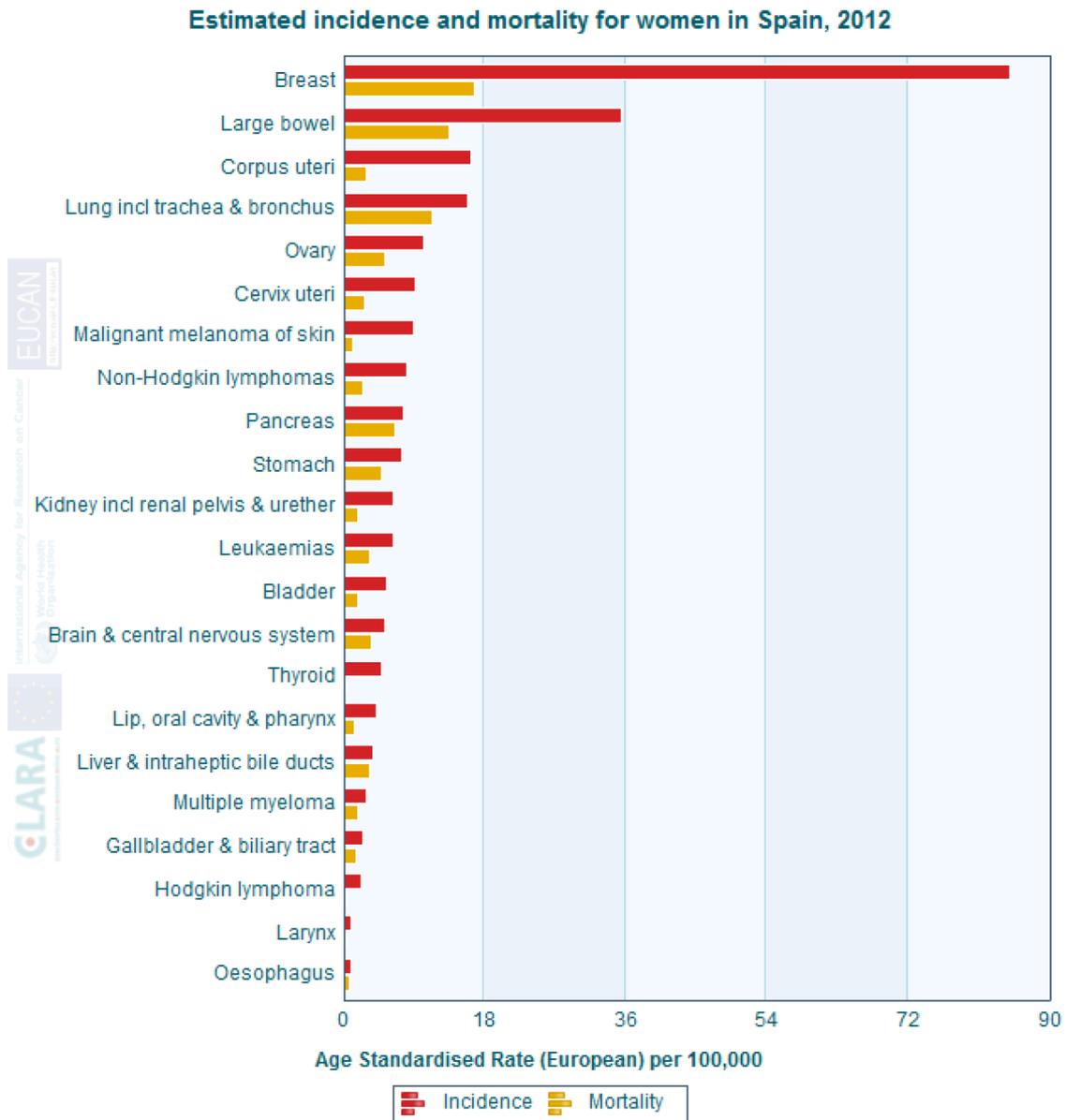


Figura 4: Incidencia y mortalidad estimada en España, 2012. Tomado de EUCAN, WHO 2012

Según Torné-Bladé et al. (2014), la baja incidencia de este tumor en los países más desarrollados se podría explicar en parte debido a la efectividad de los programas de cribado realizados de forma organizada, que implicaría un incremento de la detección de las lesiones infiltrantes en estadio precoz, así como la detección y tratamiento de las lesiones precursoras, todo lo cual conllevaría a una reducción de su incidencia.

III.2.2.-MORTALIDAD

La estimación de muertes por cáncer de cérvix en 2012 fue de 266.000 casos, alrededor del 7,5.% del total de muertes por cáncer. Aproximadamente el 87.% de los casos se producen en regiones menos desarrolladas, con un rango entre menos de 2 casos por 100.000 mujeres/año en Asia Occidental, Europa Occidental y Australia/Nueva Zelanda a más de 20 casos por cada 100.000 mujeres/año en Melanesia, África Central y Oriental (Bray et al., 2008; Ferlay et al., 2013; <http://globocan.iarc.>).

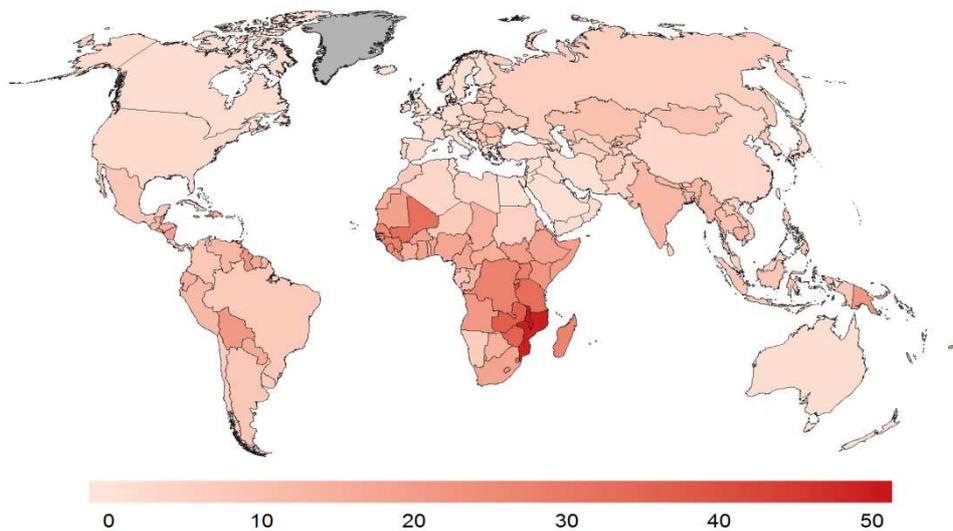


Figura 5: Mortalidad mundial estimada por cáncer de cérvix. Tomado de GLOBOCAN 2012 (IARC), *Section of Cancer Surveillance*

En la Unión Europea se estima que han fallecido por este proceso 12.996 mujeres en 2012, con una incidencia de 3,1 casos por 100.000 mujeres/año. También se observan diferencias significativas entre los países de la Unión Europea, con riesgo moderado en Portugal y bajo riesgo en Italia, Alemania, Austria, Holanda, Bélgica e Inglaterra (<http://globocan.iarc>).

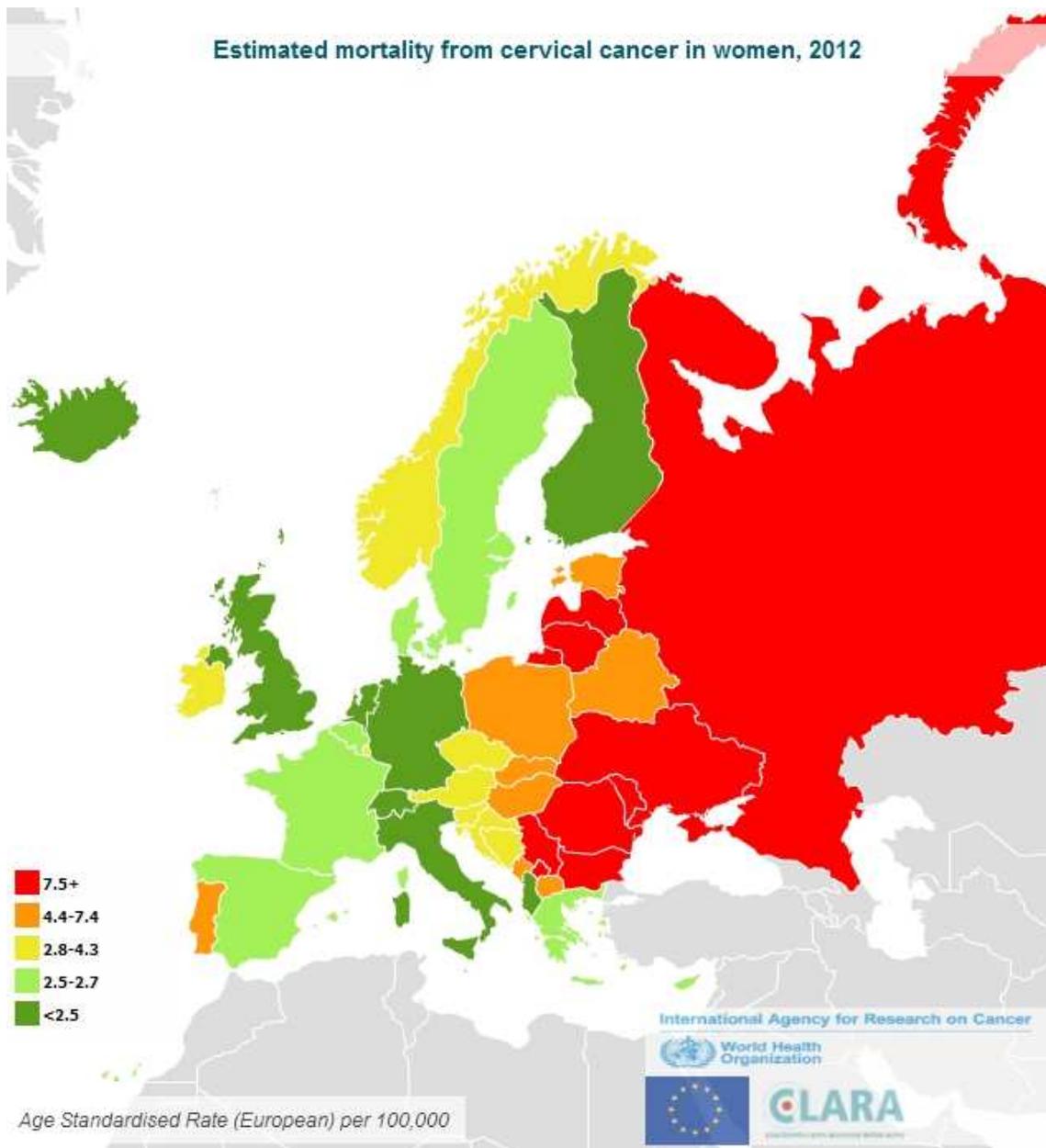


Figura 6: Mortalidad estimada para el cáncer de cérvix en Europa. Tomado de EUCAN, WHO 2012

En España se estima que en 2012 se produjeron 848 muertes, con una incidencia de 2,7 casos por 100.000 mujeres/año, con lo que representa la décima causa de muerte por cáncer en mujeres. Aunque en nuestro país la incidencia y mortalidad son bajas, con tendencia a mantenerse estable o disminuir, sigue siendo necesaria la implementación

de unas estrategias de prevención y programas de cribado adecuados mediante citología cervical, ya que la identificación y tratamiento de las lesiones precancerosas previene eficazmente la evolución a carcinoma (<http://www.hpvcentre.net/>, Diciembre 2014)

Actualmente, la mayor parte de los casos de cáncer de cérvix ocurren en mujeres no controladas con citología mediante cribado cérvico-vaginal. Los programas de cribado deben de tener una cobertura superior al 70 % de la población diana para conseguir una reducción significativa en la incidencia de esta neoplasia (Goya-Canino et al., 2006)

III.3.-INFECCIÓN POR VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (HPV)

La demostración de la relación causal entre la infección por el virus del Papiloma Humano (HPV) y el cáncer de cérvix mediante estudios virológicos, moleculares, clínicos y epidemiológicos ha supuesto un hito en la investigación epidemiológica del cáncer, así como de las lesiones precursoras del mismo (Queiro et al., 2013).

La infección por HPV es la enfermedad de transmisión sexual más frecuente en el mundo, aunque en más del 90 % de los casos evoluciona a curación espontánea. Si no se elimina el virus se produce una infección persistente, aproximadamente en el 10-20 % de los casos, y esto podría dar lugar a lesiones preneoplásicas/neoplásicas tras un periodo de latencia, dependiendo del tipo viral (AR o BR). Algunos tipos de HPV, sobre todo el HPV 16, son potentes carcinógenos en la especie humana, y algunos estudios lo describen cuantitativamente como el segundo carcinógeno más frecuente después del tabaco, por lo que sería responsable, en medicina humana, de aproximadamente el 6 % de todos los tumores en conjunto: un 10 % en las mujeres en total y del 15 % en mujeres en los países en vías de desarrollo (Bosch et al., 2011). Los

HPV 16 y 18 son responsables del 70 % de los casos de carcinoma escamoso de cérvix (Muñoz et al., 2006).

Aunque en el 99 % de los casos de cáncer cervical se ha encontrado ADN de HPV, también se han descrito otros cofactores que pueden modificar el riesgo de cáncer, aceptados mundialmente o con evidencia científica demostrada (Puig-Tintoré et al., 2002; Petry., 2011), como son:

Virales:

tipo viral (HPV de AR o BR)

carga viral

variantes filogenéticas

integración con el ADN celular

Genéticos:

susceptibilidad genética: dado que es una infección muy frecuente en los humanos, sólo en un pequeño porcentaje de casos se desarrollarán lesiones

respuesta inmunitaria celular y humoral

Medioambientales:

tabaco

hormonas esteroideas (uso prolongado de ACO y alta paridad): facilitan la transición de infección a neoplasia

coinfección con HIV

Otros factores relacionados que son muy importantes en los países en vías de desarrollo, son:

Edad de la primera relación sexual

Edad del primer embarazo

La importancia de la infección por HPV no sólo se limita al cérvix uterino, ya que existe una relación directa con el riesgo de desarrollar cáncer en otras localizaciones, sobre todo en tracto genital y cavidad oral (Stanley et al., 2010)

III.3.1.- PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR HPV

La infección por HPV es la ITS más frecuente en el mundo, con una prevalencia mundial estimada del 10 % en mujeres con hallazgos citológicos normales, con una incidencia diferente según la región y la edad (Bruni et al., 2010; de Sanjosé et al., 2007; <http://www.hpvcentre.net>).

Las regiones con mayor prevalencia son África y América Latina en contraposición a Europa, Norteamérica y Asia que presentan una menor prevalencia. La prevalencia de HPV ajustada por país varía entre un 1,6 % y un 41,9 % (Bruni et al., 2010; de Sanjosé et al., 2007; <http://www.hpvcentre.net>).

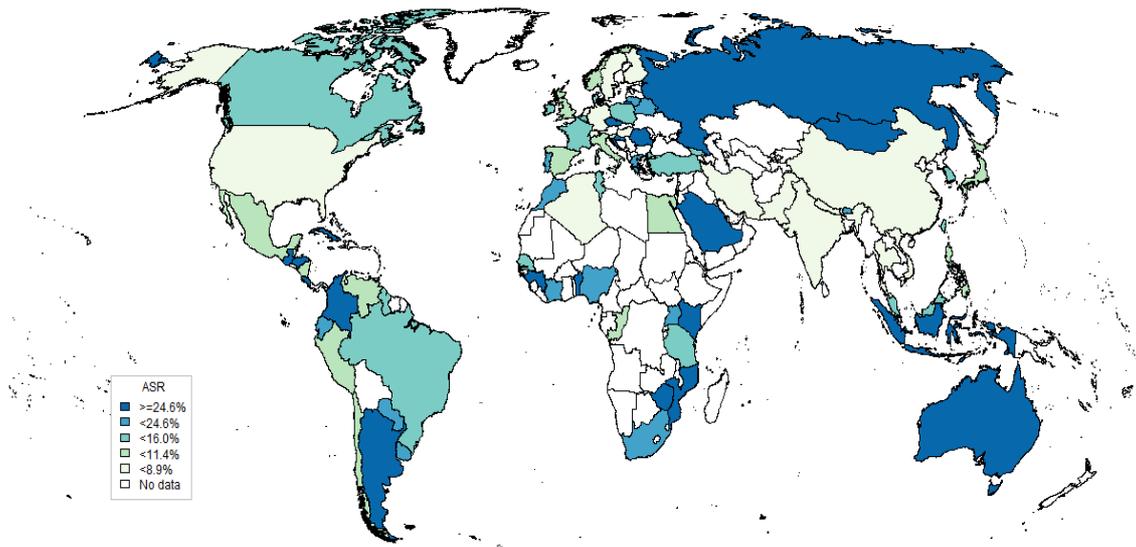


Figura 7: Mapa de la prevalencia mundial de HPV en mujeres con citología normal. Tomado de ICO Information Centre on Human Papilloma Virus (HPV) and Cancer, 2015.

En función de la edad, se observa una mayor prevalencia en las mujeres menores de 35 años y un segundo pico entre los 45 y los 55 años, con una menor prevalencia en edades medias de la vida. Se estima que al menos el 75-80 % de las mujeres sexualmente activas podrían haber sido infectadas por HPV a los 50 años (Bosch et al., 2008; Petry, 2011).

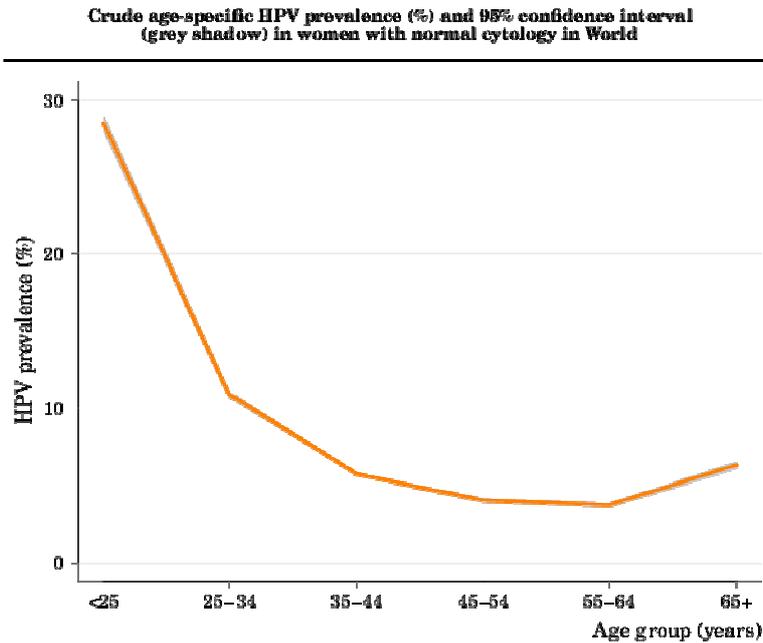


Figura 8: Prevalencia cruda por edad de infección por HPV en mujeres con citología normal a nivel mundial. Tomado de ICO Information Centre on Human Papilloma Virus (HPV) and Cancer, 2015

En España, según los estudios realizados en 2008 por De Sanjosé et al. (ESTUDIO AFRODITA), en 2009 por Castellsagué et al. (ESTUDIO CLEOPATRA) y en 2010 por Bruni et al. con una población de 18.147.440 mujeres sexualmente activas mayores de 18 años se observó positividad para ADN HPV cervical en 1.938.996.

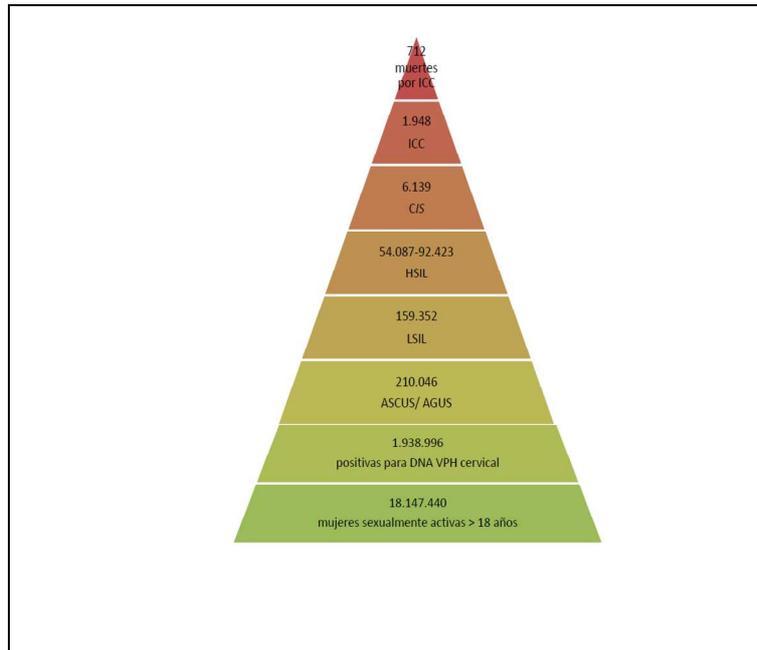


Figura 9: Estimaciones de la carga de enfermedad por infección cervical por VPH en España. Tomado de De San José, curso de la SEAP “Epidemiología Cáncer de cuello uterino en España”, 2014

Según Torné Bladé et al. 2014, se estima una tasa global de infección por HPV en mujeres sexualmente activas del 14,3 % y de infección por virus HPV de alto riesgo en torno al 12,2 %, por lo que, a pesar del cribado, se estima que cada año se seguirán diagnosticando alrededor de 2.511 nuevos casos de carcinoma de cérvix, y posiblemente 848 muertes.

III.3.2.- ESTRUCTURA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (HPV)

El Virus del Papiloma Humano (HPV) pertenece al género A de la familia *Papovaviridae*, es un pequeño virus de ADN de doble cadena circular de aproximadamente 8000 pares de bases, que asociado a histonas dan lugar a un nucleosoma. Las partículas víricas son proteínicas, sin envoltura, por lo que son muy

estables, con capacidad para desarrollar una infección persistente así como resistencia a numerosos tratamientos farmacológicos. Tienen un diámetro de 45-55 nm., con una cápside viral icosaédrica que consta de 72 capsómeros.

Este virus se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza y afecta a diferentes especies, aunque cada tipo suele presentar especificidad por una especie determinada (de Villiers et al., 2004; Alba et al., 2007).

Se trata de un virus con un genoma limitado, no puede codificar enzimas limitantes de la replicación viral, por lo que depende de la replicación de la célula huésped para su propia replicación (www.hpvmedicalcenter.com.ar)

El genoma viral se divide en 3 regiones principales, como se señala en la figura 9:

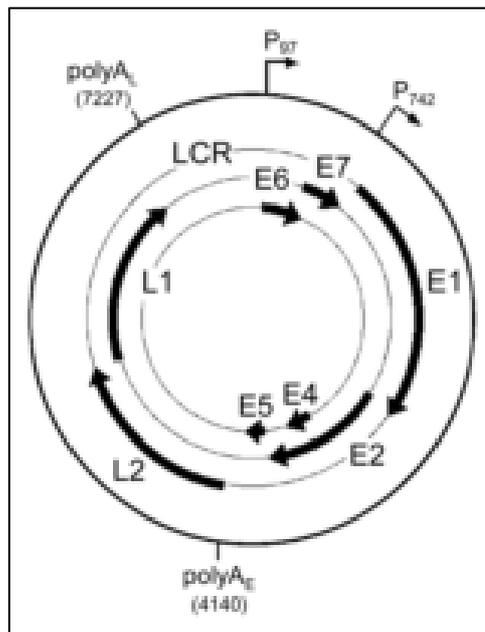


Figura 10: Estructura del genoma del HPV Tomado de Monograph IARC, 2005, pág 49 según Fehrmann & Laimins (2003)

Región URR (upstream regulatory region, región no codificante pero sí reguladora)

Está localizada al lado del origen de la replicación viral, pero no codifica proteínas. Controla la transcripción y por lo tanto la síntesis de las proteínas de las regiones precoz y tardía. Contiene secuencias a las que se unen diferentes factores de transcripción como el AP 1, el factor 1 de transcripción específico de queratinocitos (KRF 1), y otros. Es determinante en la probabilidad de infección por un genotipo determinado para un huésped específico.

Controla la expresión de E6 y E7.

Región E, precoz o temprana (E: early)

Representa aproximadamente el 45 % del genoma viral. Está localizada a continuación de la región URR, consta de 6 regiones codificantes (E1, E2, E4, E5, E6, E7) y codifica proteínas no estructurales, cuya función es la de controlar la replicación viral.

E1, E2, E4, E5: implicadas en la síntesis de proteínas relacionadas con la estructura y función viral.

E1: codifica proteínas necesarias para la replicación y función viral

E2: codifica dos proteínas que junto a las proteínas de E1 actúan como activadoras de la transcripción, por lo que son necesarias para la replicación viral extracromosómica

E4: implicada en la maduración y replicación viral

E5: estimula la proliferación de las células infectadas a través de la interacción con receptores de membrana del tipo EGF y PDGF.

E6 y E7: sintetizan proteínas con alto poder oncogénico, con capacidad transformante y de inmortalización celular.

Región L o Tardía (L: late)

Corresponde aproximadamente al 40 % del genoma viral, con dos regiones codificantes L1 y L2, que codifican proteínas que forman parte de la cápside viral. La transcripción de L1 y L2 está regulada por factores reguladores de la transcripción producidos en las células más diferenciadas de la superficie cervical.

L1: genera la principal proteína estructural de la cápside, participa en la integración del virus con la célula huésped y además tiene la capacidad de generar anticuerpos, hecho importante en la generación de vacunas. (Joyce et al., 1999; Culp et al., 2006)

L2: codifica proteínas de menor tamaño, implicadas presumiblemente en el ensamblaje del virión. (Alba et al., 2007). Es la responsable de la mayor variabilidad interespecies de la cápside viral (de Villiers et al., 2004)

Los genes de expresión temprana (E) difieren en su secuencia entre los diferentes tipos de HPVs y los genes de expresión tardía (L) son muy similares entre sí, hecho muy importante que se ha tenido en cuenta para el desarrollo de vacunas.

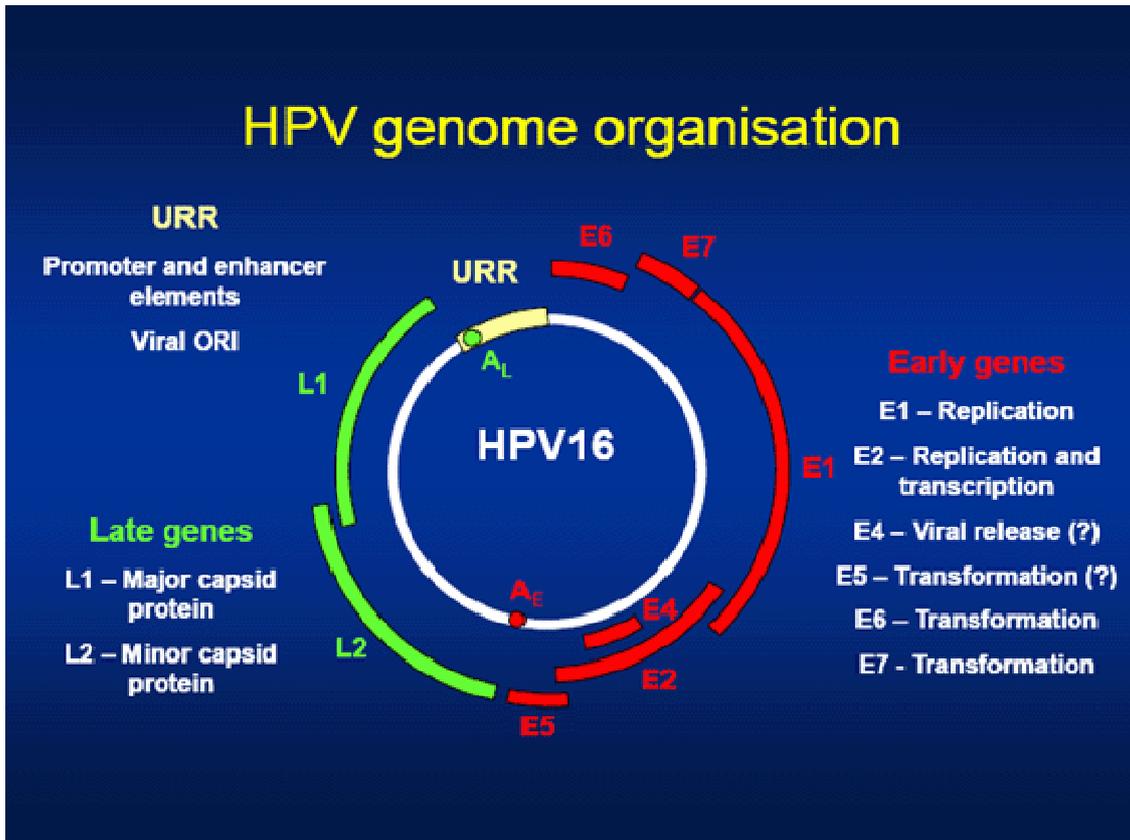


Figura 11: Organización genómica del HPV. Tomado de HPV MEDICAL CENTER& MEDICAL GROUP (pág. Web) 2015

III.3.3.- CLASIFICACIÓN DEL HPV

Los primeros intentos de clasificación del HPV humano se basaron en la capacidad de estos virus para infectar el epitelio, dividiéndolos, en función del tipo de epitelio, en:

Cutáneotrópicos: epitelio escamoso

VPHs 1, 4, 5, 8, 41, 48, 60, 63 y 65

Mucosotrópicos: epitelio mucoso

VPHs 6, 11, 13, 16, 18, 26, 30, 31, 33, 34, 35, 39, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 73

Sin embargo, se observaron casos de afectación de ambos epitelios por el mismo virus HPV, por lo que se clasificaron posteriormente en función de su capacidad para producir verrugas en piel (HPV 1) o en el área anogenital (HPV 6, 16 y 18), pero también existían casos de HPV que ocasionaban lesiones en ambas localizaciones.

Actualmente se clasifican filogenéticamente, en función de las diferencias existentes en las secuencias de los nucleótidos dentro de las regiones codificadoras de las proteínas E6, E7 y L1; así se determinó que (de Villiers et al., 2004; Xi et al., 1998; Villa et al., 2000):

- (a) Los **genotipos** tienen menos de un 90 % de homología en la secuencia de estas regiones.
- (b) Los **subtipos** presentan una homología entre el 90-98 % dentro de un genotipo determinado.
- (c) Las **variantes** tienen más de un 98 % de homología dentro de ese subtipo

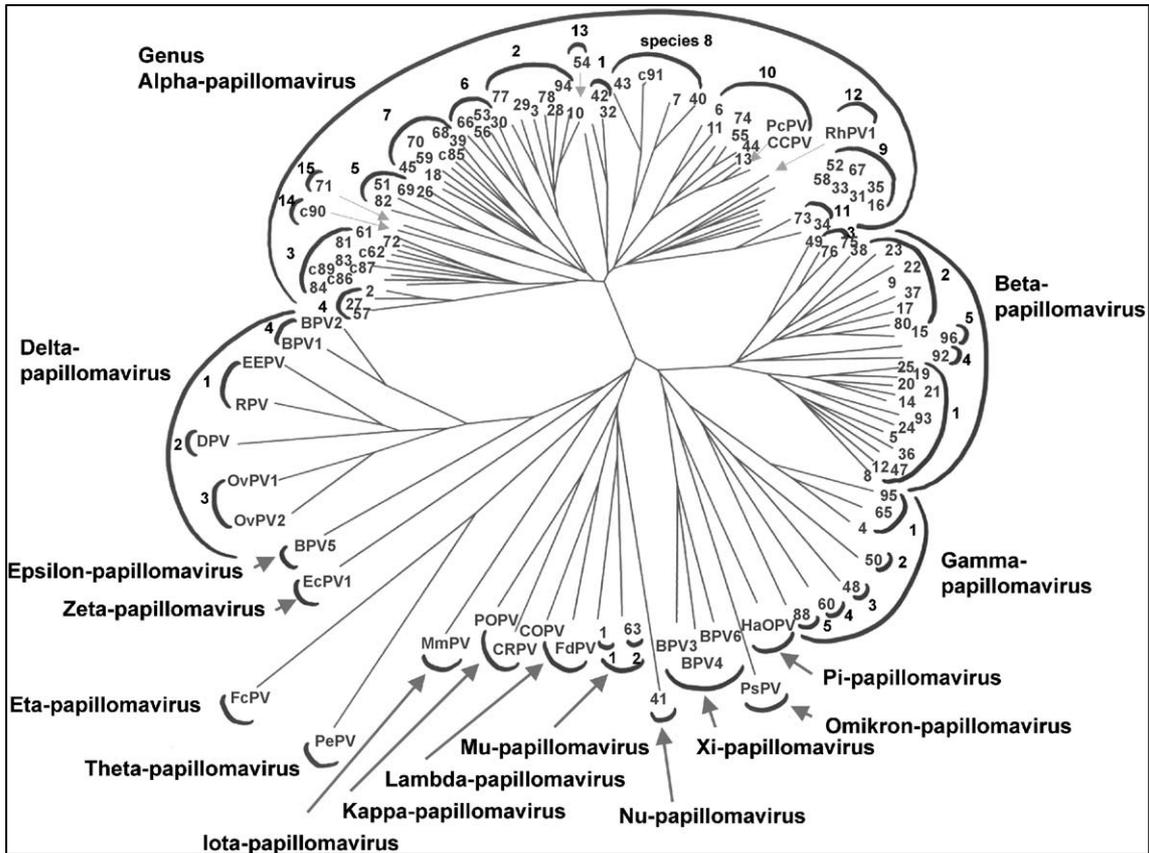


Figura 12: Árbol filogenético del HPV. Tomado de de Villiers (2004)

Así mismo, Dunne et al. en un artículo publicado 2007, clasifican estos virus en función de su riesgo oncogénico, en

- (a) Alto riesgo: VPH 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73, 82 y 85
- (b) Bajo riesgo: VPH 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 62, 71, 72, 81, 83, 84 y 89.

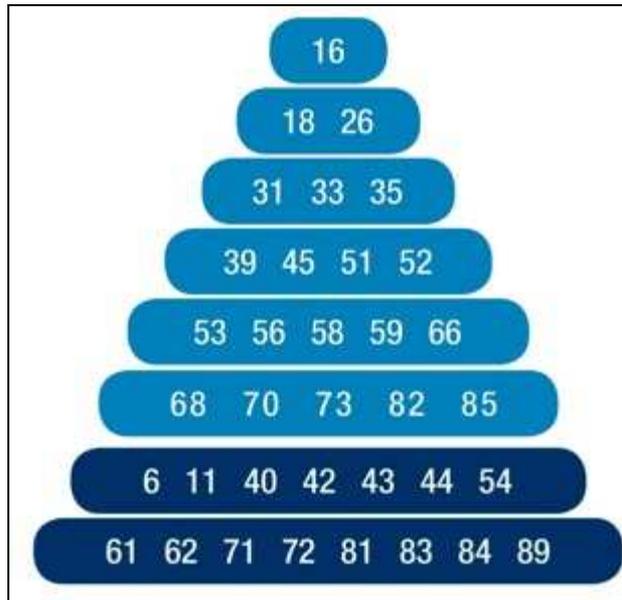


Figura 13: Clasificación de HPV según su riesgo oncológico. Tomado de http://genomica.es/diagnosico_in_vitro_productos_clart_hpv2.cfm

III.3.4.- INFECCIÓN E INTERACCIÓN VIRUS-HUÉSPED

El HPV es uno de los patógenos más frecuentemente transmitidos por vía sexual. Se han descubierto más de 100 subtipos diferentes de HPV, de los que aproximadamente 40 de ellos se transmiten por vía sexual. El 70 % de los casos de cáncer de cérvix están asociados a HPV de AR: 16 (más frecuente), 45, 31, 33, 35, 52 y 58.

La infección del tracto genital inferior por HPV se produce por contacto sexual y suele ser asintomática, aunque en algunos casos da lugar a verrugas genitales, lesiones preneoplásicas y/o cáncer (Wright, 2015, www.uptodate.com)

Antes de desarrollar el mecanismo de infección y el ciclo vital del virus, se debe resaltar que las características histológicas del cérvix uterino juegan un papel muy importante en el desarrollo de las lesiones preneoplásicas y neoplásicas asociadas a este

virus, hecho que permite explicar por qué es más frecuente el carcinoma en esta localización, en comparación con otras áreas.

El cérvix uterino consta de exocérvix, el cual está tapizado por epitelio escamoso y endocérvix, que presenta un revestimiento de epitelio columnar. Ambos epitelios se unen mediante la unión escamo-columnar, también denominada zona de transformación. La localización de esta zona varía según la edad y estado hormonal de la mujer y no es constante a lo largo de la vida de la mujer, por lo que se pueden observar dos situaciones (Puig-Tintoré et al., 2011; Wright, 2015; www.uptodate.com):

- (a) El epitelio escamoso del exocérvix rebasa el orificio cervical interno y se introduce por el endocérvix, dando lugar a metaplasia
- (b) El epitelio columnar del endocérvix se extiende y tapiza el exocérvix.

El HPV es un patógeno intracelular y epiteliotropo, que requiere la diferenciación escamosa terminal para su replicación. El HPV tiene preferencia por el epitelio inmaduro cervical, por las células escamosas basales o de reserva y por las células metaplásicas, ya que poseen actividad mitótica. La infección inicial se produce en las células basales del epitelio escamoso inmaduro, posiblemente, a través de pequeñas laceraciones o erosiones en la mucosa/piel, produciéndose el contacto entre las células basales del epitelio escamoso y el virus a través de la membrana basal mediado por un proteoglicano heparansulfato. Al producirse la proliferación de las células infectadas se favorece la progresión y la infección viral (Joyce et al., 1999; Giroglou et al., 2001; Selinka et al., 2007).

Durante la reparación de la erosión, las células basales sobreexpresan la integrina $\alpha\beta 4$ que interacciona con L1, una proteína de la cápside, que se encuentra en la superficie del virus. Este hecho promueve la internalización del virus dentro de la célula. (<http://www.Inmunopaedia.org>)

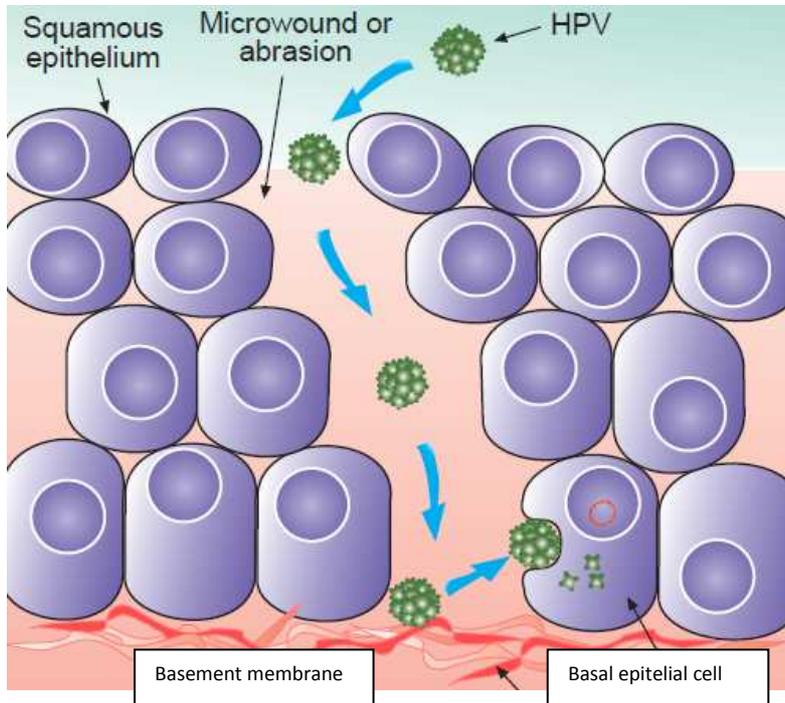


Figura 14: Internalización del HPV en la célula. Tomado de <http://www.Inmunopaedia.org>

La mayor parte de las infecciones cervicales por HPV se producen en mujeres jóvenes, son transitorias y suelen resolverse mediante la respuesta inmune del huésped durante los dos primeros años tras la adquisición viral, dando lugar a una regresión espontánea. Este hecho depende del estado inmunológico de la paciente, ya que se ha observado que la resolución se retrasa o es menos frecuente en pacientes inmunodeprimidos (por HIV o drogas), por lo que se incrementa entre tres y veinte veces el riesgo de desarrollar un carcinoma. En pacientes con infección por HIV, el aclaramiento viral requiere más del doble de tiempo que en una mujer no infectada por HIV (Wright et al., 2006)

Una vez que el virus está dentro de la célula puede dar lugar a dos tipos de infección:

Infección latente

El virus se localiza en las células basales, con presencia de un pequeño número de copias de ADN HPV en forma libre llamadas episomas en el núcleo. En esta fase hay una baja replicación y una mínima expresión de las proteínas virales E1 y E2 (www.Inmunopaedia.org).

Dado que se trata de una infección no productiva no se observarán las alteraciones citológicas características de la infección por HPV, por lo que en esta fase el proceso no podría ser detectado por análisis citológico ni por las técnicas moleculares de rutina dado el escaso número de copias virales (Snijders et al, 2004; Schiffman et al., 2007; www.Inmunopaedia.org).

Infección productiva

Tiene lugar principalmente en el estrato intermedio y superficial del epitelio. En esta fase la replicación del ADN viral es independiente de la replicación celular, y se producen numerosos viriones. El virus aprovecha el proceso de maduración epitelial expresando otros genes virales como E1, E2, E4, E5, E6 y E7 (Schiffman et al., 2007; www.Inmunopaedia.org).

Las células basales infectadas maduran y se mueven hacia la superficie para reponer las células superficiales descamadas. En esta fase el epitelio produce determinados factores de transcripción específicos de la diferenciación, que también estimulan la producción de las proteínas de la cápside viral. Tras la diferenciación del epitelio escamoso, los genes tempranos del HPV son expresados, produciéndose la amplificación de numerosas copias virales. La expresión de proteínas virales tardías (L1 y L2) y el ensamblaje viral se producen durante la diferenciación terminal del epitelio escamoso, tras la cual se liberan los virus desde las capas más superficiales (Schiffman et al., 2007; www.Inmunopaedia.org)

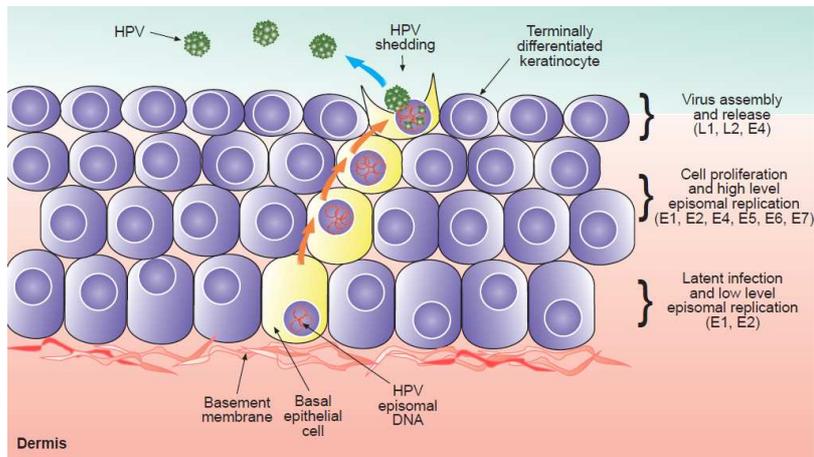


Figura 15: Replicación viral dentro de las células epiteliales. Tomado de www.Inmunopaedia.org

En esta fase se observan los efectos citopáticos producidos por el virus, por lo que pueden ser detectados mediante estudios citológicos o histológicos. Los efectos citopáticos observables son: acantosis, coilocitosis, células multinucleadas, vacuolización citoplasmática y atipia nuclear (Wright et al., 2011).



Imagen 16: Coilocito en citología convencional

Según los patrones de expresión génica y las alteraciones clínicas que se manifiesten, se pueden observar tres fases de infección (Von Kenebel Doeberitz y Vinokurova, 2009; Ulrich Petry et al., 2011):

Fase latente

Se produce una infección por escasas partículas virales, sin afectar a la historia natural de la célula dado que no se expresan los genes virales. El control de esta fase estaría ligado, al menos, por la metilación de los genes virales en las células infectadas. Aunque existen pocos datos concluyentes, se cree que la mayor parte de las infecciones por HPV terminarán en esta fase, como si se tratara de un modelo de infección abortivo (Petry et al., 2011).

Fase permisiva

Por alguna razón, hasta el momento desconocida, algunas infecciones no se resuelven y evolucionan a esta fase, caracterizada por la baja expresión de los genes E6 y E7 en las células basales, que permite la expansión lateral de un clon de células basales infectadas, regulado por el gen viral E2.

Fase transformante

Esta fase se caracteriza por una marcada sobreexpresión de los genes E6 y E7 en las células basales que evaden el control de la proteína E2.

III.3.5.- RESPUESTA INMUNE

La infección por HPV es una infección muy frecuente, asintomática, que se suele resolver en un periodo corto de tiempo, en el que se produce un aclaramiento viral y una respuesta inmune mediada por anticuerpos. El virus dispone de mecanismos para evitar la respuesta inmune (www.Inmunopaedia.org), que se resumen a continuación:

- (a) La replicación del HPV se produce en una zona anatómica avascular, hecho que favorece la evasión viral del sistema inmune, debido a la inaccesibilidad de las diferentes células implicadas en la respuesta inmune a las células infectadas.
- (b) La infección viral no produce respuesta inflamatoria que conlleve la activación del sistema inmune, dado que el HPV no es un virus citolítico y no produce viremia.
- (c) No se produce la inicialización de la cascada antiviral intracelular, debido a las oncoproteínas E6 y E7 que interfieren con el Interferón 1.
- (d) Los queratinocitos infectados del epitelio cervical no producen ni liberan citoquinas inflamatorias para activar las células de Langerhans presentes en el epitelio de forma natural, por lo que no se produce la activación del sistema inmune.
- (e) Se produce una disminución de receptores HLA clase I en la superficie celular, impidiendo a los linfocitos T citotóxicos CD8+ la detección de las células infectadas por el virus, debido al atrapamiento del receptor de HLA clase I dentro del aparato de Golgi, promovido por la proteína viral E5.

- (f) La pérdida de expresión de HLA clase I en la superficie celular activaría a las células Natural Killer, pero estas células no suelen localizarse en el estrato basal del epitelio ni tampoco suelen migrar a esta localización, por lo que tampoco se produce la activación de esta respuesta inmune.

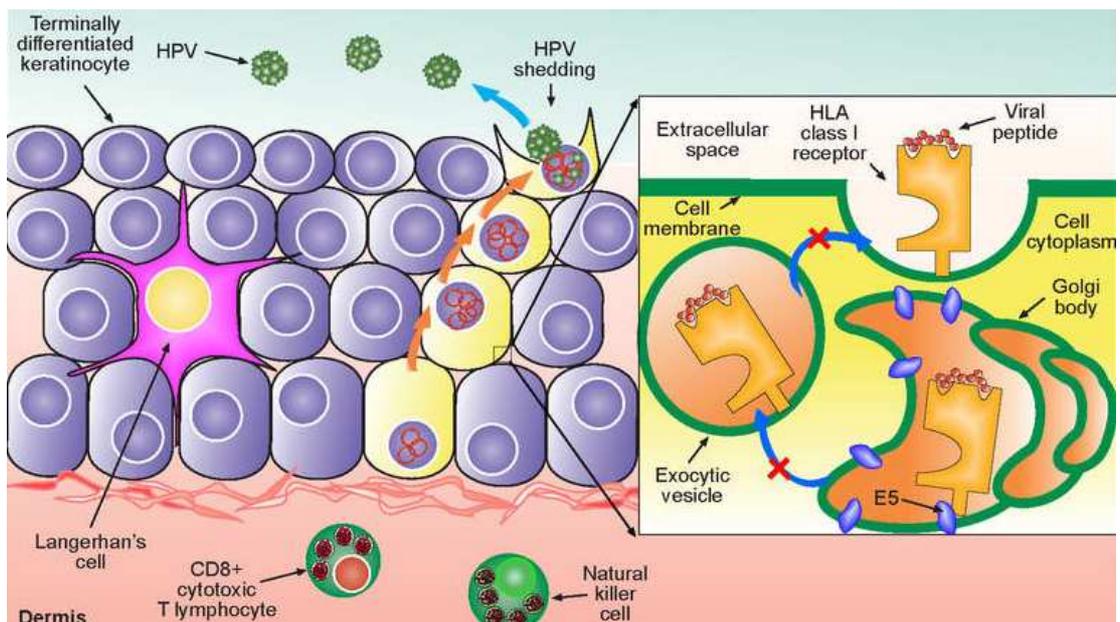


Figura 17: Estrategias de evasión del sistema inmune. Tomado de www.Inmunopaedia.org

III.3.6.- ONCOGÉNESIS

La infección crónica o persistente se define por la detección de ADN-HPV en dos muestras consecutivas con más de seis meses de intervalo (Woodman et al, 2006) e incluso algunos autores lo amplían hasta los doce meses (Wright, 2015).

Según diferentes estudios el aclaramiento viral se produce en más del 50 % de las mujeres a los 6-18 meses desde la infección y en el 80-90 % entre los 2 y los 5 años tras la infección (Ho et al., 1998; Kjaer et al., 2002; Wright et al., 2004; Castle et al., 2005; Khan et al., 2005; Rodriguez et al., 2008; Moore et al., 2011; Wright, 2015).

La persistencia de la infección se relaciona con los siguientes factores:

Edad: algunos estudios como el realizado por Bosch et al. en 2006 refieren una persistencia de infección por HPV de AR del 50 % en mujeres mayores de 55 años, frente al 20 % en mujeres jóvenes (de edades inferiores a 25 años) (Bosch et al., 2006; Wright 2015).

Duración de la infección: cuanto más tiempo tarde en aclararse el virus, mayor será el riesgo de infección persistente (Plummer et al., 2007; Wright et al., 2015; www.uptodate.com).

Infección por HPV de alto riesgo oncogénico: la infección por HPV de AR implica mayor riesgo de persistencia de la infección que en los casos de infección por HPV de BR (Ho et al , 1998; Wrigh, 2015).

La infección persistente por un virus oncogénico o de AR implica un incremento del riesgo de desarrollar lesiones preneoplásicas, de cáncer cervical y de otros cánceres anogenitales, incluso de cabeza y cuello. El aclaramiento del virus predice la regresión de las lesiones (Walling et al , 1999; Nobbenhuis et al , 2001; Schlecht et al , 2001; Bory et al , 2002; Kjaer et al , 2002; Wrigh et al., 2004; Rodríguez, 2008; Koshiol et al , 2008; Petry et al , 2011; Wright et al., 2015).

Después de la infección de las células escamosas, el material genético viral se replica en el núcleo celular en forma de episoma circular cerrado. Cuando se produce la diferenciación celular se amplifica con numerosas copias, y en este paso se produce un hecho muy importante: el gen E2 codifica un factor de transcripción E2 que suprime la transcripción de las oncoproteínas E6 y E7. Las proteínas E6 y E7 intervienen en la inactivación de dos genes supresores de tumores, p53 y pRB(www.Inmunopaedia.org).

El incremento de la transcripción de E6 y E7 provoca la destrucción del gen supresor p53 y del gen del retinoblastoma (pRB), por lo que se producen alteraciones en el ADN celular, hecho que posibilita el desarrollo de carcinoma.

Las proteínas p53 y gen del retinoblastoma Humano (pRB) son genes supresores. Es importante destacar en este momento las acciones que desarrollan p53 y el gen del retinoblastoma humano (pRB), funciones esenciales que evitan la división de las células con ADN dañado, y por lo tanto evitan la transformación maligna.

P53: es un factor de transcripción nuclear que activa la transcripción de genes relacionados con la parada del ciclo celular, e induce la reparación del ADN dañado y la apoptosis. Actúa frente a las agresiones del ADN celular.

Gen del retinoblastoma humano (pRB): inactiva el factor de transcripción E2F-DP, el cual inicia los factores de transcripción relacionados con la replicación del ADN.

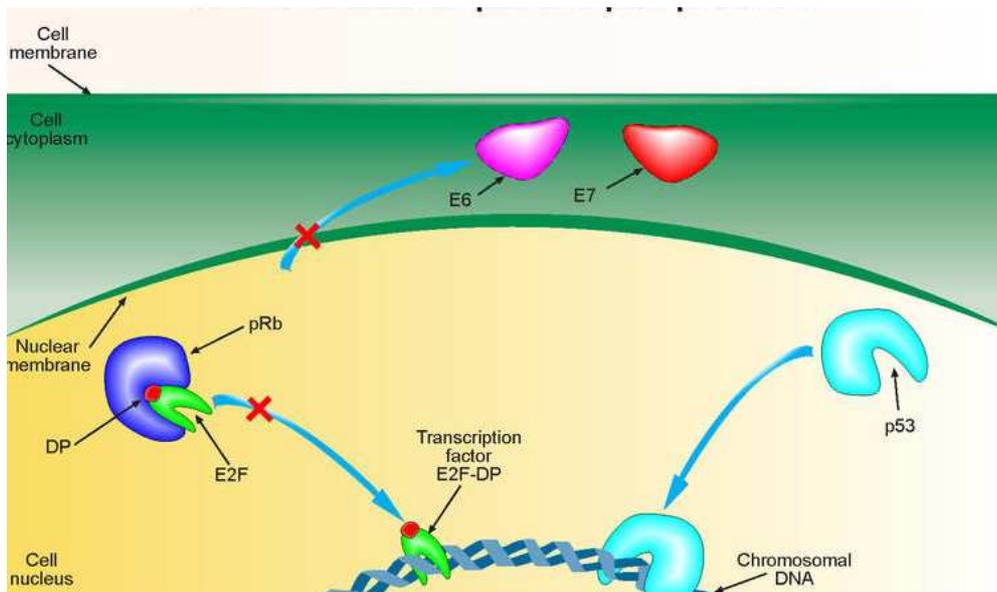


Figura 18: Función de p53 y pRB. Tomado de www.Inmunopaedia.org.

En ocasiones, durante la replicación celular se produce la integración del ADN viral en el ADN celular, hecho que ocasiona una alteración del gen viral E2,

produciéndose una disminución de la síntesis de proteínas E2, lo cual implica un incremento de la síntesis de E6 y E7 que conlleva un incremento del riesgo oncogénico.

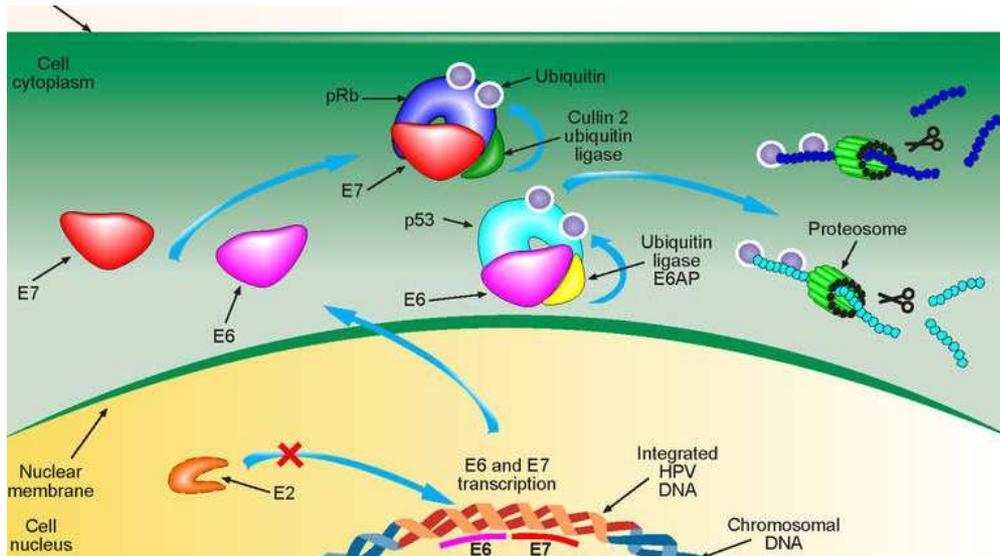


Figura 19: Inactivación de p53 y pRB. Tomado de www.Inmunopaedia.org

La pérdida de estos genes supresores supone la posibilidad de división de las células con ADN dañado, con el consiguiente riesgo oncogénico asociado.

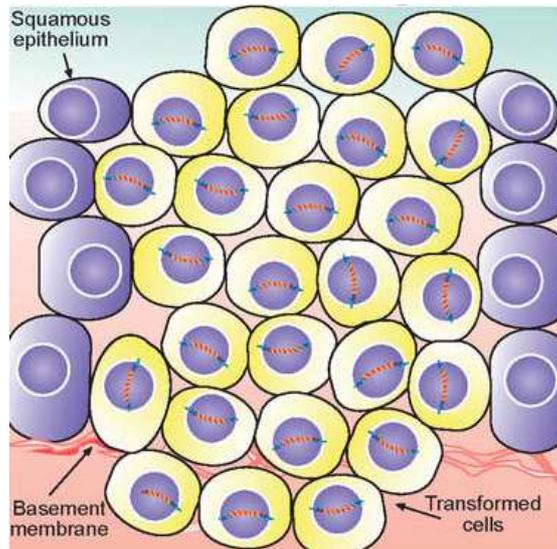


Figura 20: Proliferación de células con ADN dañado. Tomado de Inmunopaedia

III.3.7.- LESIONES PRECURSORAS

En 1886 Sir Jon Williams observó la presencia de alteraciones histológicas en el epitelio cervical adyacente al carcinoma epidermoide de cérvix uterino de varias pacientes, las cuales no presentaban infiltración de la lámina propia (Williams, 1888, *Cancer of the uterus: Harveian lectures for 1886*. Lewis, London). Posteriormente, otros autores como Cullen y Brothers en 1932 describieron una relación temporal y espacial entre estas lesiones no infiltrantes y el carcinoma infiltrante, hasta llegar al reconocimiento científico de que el carcinoma in situ es un precursor del carcinoma epidermoide infiltrante, y que el cribado de la población femenina mediante citología cérvico-vaginal puede prevenir el desarrollo de cáncer mediante la detección y el tratamiento de las lesiones precursoras del mismo (Kolstad et al., 1976; Koss et al., 1963; Wright, 2011).

En 1949 Papanicolau introdujo el término “**discariosis**” en citología y de “**displasia**” en histopatología para definir estos hallazgos, pero será posteriormente Reagan, en 1953, quien consagrará el término de displasia para referirse a estas lesiones.

En 1961, en el Primer Congreso Internacional de Citología, en Viena, se llega a un consenso para designar los cambios citológicos mayores en cérvix como **carcinoma invasor**, **carcinoma in situ** y **displasia**, y ésta se subdividiría en **displasia leve**, **displasia moderada** y **displasia severa**. Esta clasificación se empleará tanto en citología como en histopatología. Con esta clasificación no se evitaron dos problemas importantes, como son la existencia de desacuerdo para la denominación de una lesión como displasia grave o carcinoma *in situ* (CIS) y la diferente actuación de los clínicos ante lesiones denominadas como CIS o como displasia, ya que asumían que el CIS era una entidad biológica diferente de la displasia y con distinto potencial maligno, por lo que no trataban las lesiones displásicas (Lacruz et al., 2003).

Posteriormente Richart, en 1967, propone el término de **NEOPLASIA INTRAEPITELIAL ENDOCERVICAL, CIN/NIC**, subdividido en 3 grados progresivos según su severidad:

CIN I o displasia leve: definido por la presencia de leves cambios atípicos en las células del 1/3 basal del epitelio de revestimiento del cérvix. Se suelen observar los efectos citopáticos del virus HPV, denominados como atipia coilocítica. Es una lesión de bajo grado (Wright et al., 2015).

CIN II: se observan moderados cambios atípicos en las células de los 2/3 basales del epitelio escamoso cervical, con persistencia de la maduración. Anteriormente a esta denominación se la designaba como displasia moderada. Es una lesión de alto grado.

CIN III: se observan cambios atípicos severos que afectan a más de los 2/3 basales del epitelio escamoso e incluso a todo su espesor. La denominación previa era de displasia severa y carcinoma *in situ*.

Tras la confirmación de la relación causal del HPV con el carcinoma de cérvix sumada a los nuevos conocimientos sobre la biología del HPV y de la oncogénesis, así como la subjetividad en la diferenciación entre CIN II y CIN III, surgió la necesidad de modificar esta clasificación, sobre todo en citología, por lo que en 1988 se crea el “Sistema o Clasificación de Bethesda” para reportar los informes citológicos, unificando criterios y aportando recomendaciones según la experiencia acumulada. Posteriormente surgen nuevas modificaciones de la misma hasta la actual de 2001. La importancia de esta clasificación radica en el hecho de crear un sistema binario para la categorización de las anomalías celulares preneoplásicas (Lacruz et al., 2003; Darragh et al., 2012; Wright et al., 2015):

Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (L-SIL), que incluye el término CIN I de la clasificación de Richart y las alteraciones celulares producidas por HPV

Lesión intraepitelial escamosa de alto grado (H-SIL), que incluye los términos CIN II y CIN III de la clasificación previa.

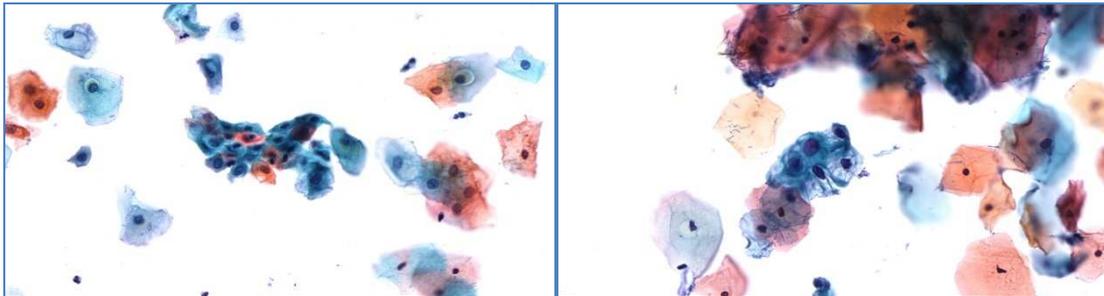
En 2012, el College of American Pathology y la American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, mediante el Lower Anogenital Squamous Terminology (LAST) Project, publicaron unos cambios en la terminología aplicables a todas las lesiones intraepiteliales asociadas a HPV en el tracto anogenital. Estos términos se pueden aplicar tanto a la citología como a la histología. Los criterios que definen esta nueva clasificación son (Darragh et al., 2012; Wright et al., 2015):

Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (LSIL)

Proliferación de células escamosas o metaplásicas con atipia nuclear, irregularidades de la membrana nuclear e incremento de la relación núcleo/citoplasma. Existe maduración a lo largo del espesor epitelial. Sólo se observan mitosis en el 1/3 inferior del epitelio

y/o

Presencia de los efectos citopáticos producidos por HPV, coilocitosis, incluyendo además multinucleación, agrandamiento nuclear y pleomorfismo con halos claros perinucleares, sin signos de lesión preneoplásica de alto grado.

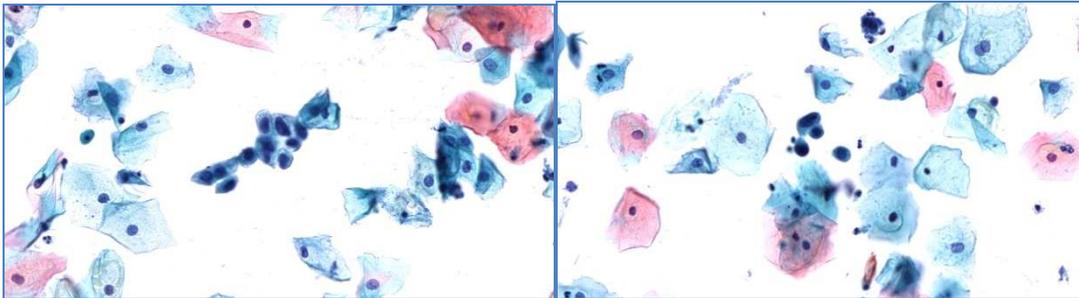


Figuras 21 y 22: LSIL en citología en medio líquido

Lesión intraepitelial escamosa de alto grado (HSIL)

Definida por una proliferación de células escamosas o metaplásicas con cambios nucleares atípicos (incremento del tamaño nuclear, irregularidad de la membrana nuclear e incremento de la relación núcleo/citoplasma así como mitosis, las cuales

pueden observarse a lo largo de todo su espesor. No existe maduración o es muy escasa y limitada al tercio medio o superior.



Figuras 23 y 24: HSIL en citología en medio líquido

Oncogénesis:

El proceso oncogénico es lento, se calcula que desde la infección hasta el desarrollo de HSIL (CIN 3) podrían pasar desde 7 a 15 años, y tras 10 años evolucionar a carcinoma infiltrante (Bosh et al., 2003; Alba et al., 2007). El riesgo a 30 años de progresión a cáncer infiltrante varía entre el 30 y el 50 % en las lesiones escamosas intraepiteliales de alto grado (HSIL) que no han sido tratadas, porcentaje similar a los datos obtenidos para las lesiones preneoplásicas de vulva y de ano. (McCredie et al., 2008 y 2010; Jones et al., 2001; Machalek et al., 2012; Darragh et al., 2012).

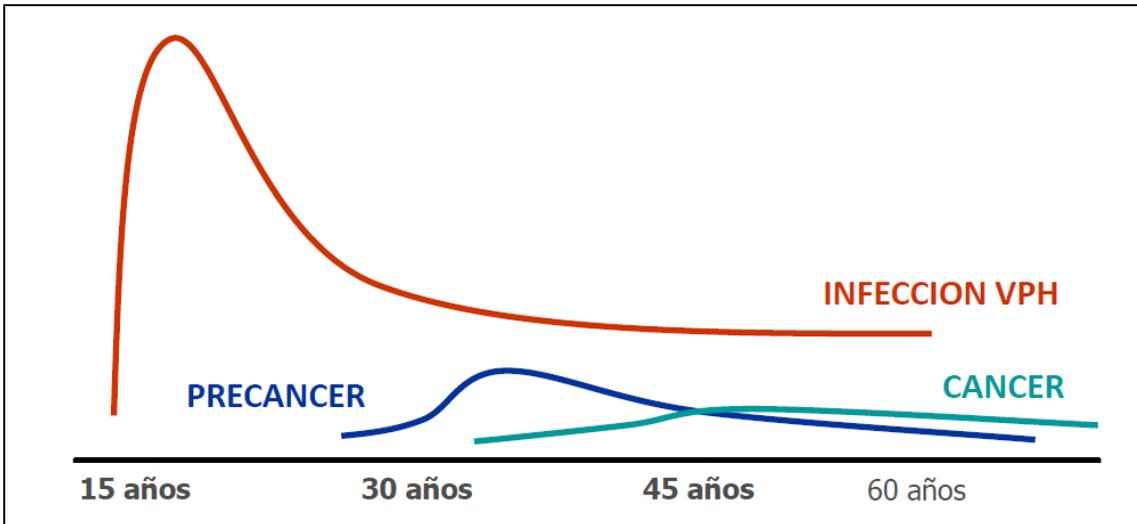


Figura 25: Historia natural de la infección por HPV. Tomado de Schiffman, 2005 y de Desanjós, 2014

En la mayor parte de los casos la infección por HPV es transitoria, y durante el primer y segundo año desde la detección se puede producir el aclaramiento viral o una infección latente, y esto dependerá de la inmunidad celular de la paciente (Burchell et al., 2006). La infección viral puede persistir más de dos años en el 10 % de los casos, aproximadamente, lo que conlleva un mayor riesgo de desarrollar lesiones preneoplásicas de alto grado (HSIL).

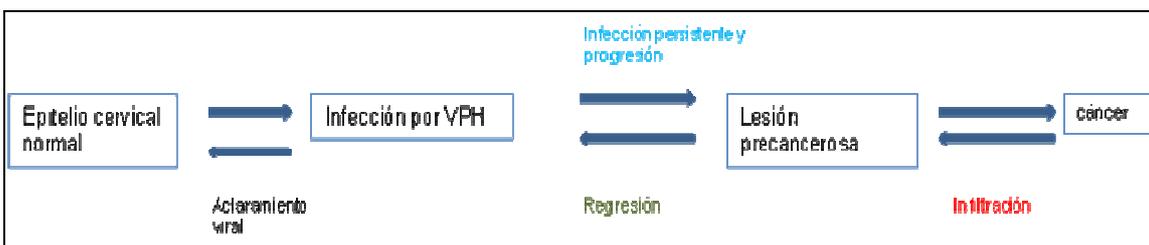


Figura 26: Desarrollo de la lesión preneoplásica y cáncer tras la infección por HPV.

También se ha observado que algunos casos considerados en fase de aclaramiento viral posteriormente tenían una reactivación de la infección, debido a una

infección latente, en la cual hay escasas copias del virus en el epitelio. La reactivación de la infección podría explicar el incremento de la prevalencia de HPV en mujeres postmenopáusicas puesto de manifiesto en los diferentes estudios epidemiológicos (de Sanjosé et al., 2007; Wright, 2011).

Los HPV de AR oncogénico presentan un aclaramiento más lento que los HPV de BR, pero también se observa menor tasa de aclaramiento en los casos de infección que persisten más de 36 meses. (Schiffman et al., 2007).

Según Cantor et al, la probabilidad de que un HSIL regrese a LSIL en el periodo de 1 año es 3 veces mayor que un LSIL evolucione a HSIL (Cantor et al., 2005; Alba et al., 2007).

También es importante remarcar que según algunos estudios realizados existe la posibilidad de que una célula basal infectada dé lugar a HSIL sin la presencia previa de LSIL (Schiffman et al., 2005, Alba et al., 2007).

Además de todo lo anterior, el factor más importante en la infección y progresión a cáncer es el genotipo viral, si es de AR o BR, ya que si se trata de una infección por HPV 16 el riesgo acumulado para desarrollar HSIL es del 40 % en las mujeres con infección persistente.

La infección por múltiples virus HPV también se ha relacionado con la persistencia de infección (Ho et al., 1998; Alba et al., 2007).

III.3.8.- COFACTORES

Dado que la infección por virus HPV de alto riesgo oncogénico es una condición necesaria pero no suficiente para el desarrollo de cáncer de cérvix, además del largo intervalo de tiempo entre la infección y el desarrollo de cáncer cervical y del hecho de que sólo algunos casos lo desarrollan, es lógico pensar que otros factores estarán implicados en el proceso oncogénico, modulando el riesgo de progresión desde la

infección viral hasta el desarrollo de cáncer (Castellsague et al., 2002 y 2003; Kurman et al., 2011).

Cofactores exógenos o medioambientales

Hábito tabáquico: el tabaco y la infección por HPV tienen un efecto sinérgico en el desarrollo de SIL y cáncer (Castellsagué et al., 2003; Luhn et al., 2013; Wrigth et al., 2015). El riesgo de desarrollar cáncer es de dos a cuatro veces más alto en mujeres fumadoras que en las no fumadoras. Además supone un riesgo acumulado (Trevathan et al., 1983; Wrigth et al., 2015). Productos como la nicotina, cotinina, y los derivados nitrosados de la nicotina (NNK) se concentran en el moco cervical, produciendo daño celular y alteración de la inmunidad local.

Es el cofactor más importante relacionado con la progresión a cáncer.

Anticonceptivos hormonales (ACO): el uso de anticonceptivos hormonales durante años (sobre todo a partir de 5 años) incrementa el riesgo de desarrollar cáncer, ya que aumenta la expresión de E6 y E7 del HPV. Los estrógenos y progestágenos inhiben la apoptosis y modifican la respuesta inmunitaria local, favoreciendo la progresión de las lesiones ya presentes en el cérvix. Este riesgo disminuye a niveles basales a los 5-10 años de abandono de los anticonceptivos (Castellsagué et al., 2002 y 2003; Cogliano et al., 2005 ; Appleby et al., 2006 y 2007; Wrigth et al., 2015)

Otras ETS: determinados agentes patológicos, como *Herpes simplex*, *Clamidia spp* o HIV, favorecen el desarrollo de la neoplasia y preneoplasia, ya que facilitan la persistencia de la infección por HPV (Anttila et al., 2001; Madeleine et al., 2007; Wrigth et al., 2015)

Factores nutricionales: algunos estudios señalan una relación inversa con el consumo de licopenos y de betacarotenos en la dieta. También señalan el posible efecto protector del folato, de la vitamina E y del retinol (Rieck et al, 2006; Wright, 2011)

Nivel socioeconómico bajo (de Sanjosé et al., 2000 y 2003)

Cofactores virales

Genotipo viral: la infección por algunos genotipos virales, sobre todo los de alto riesgo oncogénico, y especialmente los genotipos 16 y 18 supone un riesgo muy elevado de progresión a lesión preneoplásica y cáncer (Castellsagué et al., 2002). Estos genotipos tienen una integración más efectiva en el genoma humano, hecho que favorece una progresión más rápida a lesiones preneoplásicas de alto grado (Vinokurova et al., 2008)

Variantes del HPV: las variantes del virus HPV pueden influir en el pronóstico de las lesiones preneoplásicas, debido a diferentes funciones o por la habilidad para evadir la respuesta inmune del hospedador, favoreciendo la persistencia y la progresión de las lesiones. Se observan diferencias geográficas en las variantes del HPV 16, y en las variantes no europeas se observa mayor riesgo de progresión a cáncer (Wang et al., 2003, Grodzni et al., 2006)

Carga viral: diferentes estudios sugieren que la carga viral es un marcador de infección persistente, aunque no se utiliza de forma rutinaria para el pronóstico de evolución a cáncer. En casos con infección por HPV 16 y 18 y resultados del estudio citológico compatibles con la normalidad, se observa mayor riesgo de progresión si tienen una carga viral elevada detectada mediante PCR. Se ha observado que cuanto mayor es la carga viral, medida con HC2, mayor es el grado de la lesión preneoplásica. Cifras superiores a 100 URL se asocian con lesión cervical en más del 90 % de los casos, mientras que si la cifra es inferior a 10 URL no se suele observar lesión.

Es muy importante tener en cuenta que los niveles bajos de carga viral no excluyen la posibilidad de una lesión preneoplásica (Moberg et al., 2004 y 2005, Ordi et al., 2003, Clavel et al., 2001)

Integración viral: cuanto mayor es la carga viral mayor es la posibilidad de integración del virus en el ADN del huésped (Hudelist et al., 2004)

Coinfección: algunos estudios sugieren la posibilidad de que la coinfección de diferentes genotipos virales incrementa el riesgo de progresión, aunque otros han demostrado que en caso de coinfección la tasa de aclaramiento es independiente en cada genotipo viral (Molano et al., 2003)

Cofactores endógenos (del huésped)

Conducta sexual: se ha observado mayor riesgo de infección en mujeres que inician sus relaciones sexuales a edad temprana. El inicio precoz de las relaciones sexuales (sobre todo en menores de 16 años) favorecería el riesgo de infección debido a que en estas edades se observan determinadas características en la zona de unión escamosa-columnar, que no están presentes en mujeres de mayor edad, como son: inmadurez cervical, déficit del flujo cervical, así como mayor grado de ectopia (Kjaer et al., 1998; Bosch et al., 2002; Winer et al., 2005).

Así mismo, existe una relación directa entre el número de parejas sexuales y el mayor riesgo de contagio.

Elevada paridad: algunos estudios relacionan una elevada paridad con el desarrollo de lesiones preneoplásicas y cáncer, y esto podría deberse a las modificaciones hormonales e inmunológicas que se producen durante la gestación y el parto que afectan al cérvix así como factores nutricionales y traumáticos (Muñoz et al., 2002; Castellsagué et al., 2002 y 2003; Wrigth et al., 2015). Las mujeres con una elevada

paridad mantienen durante muchos años la zona de transformación en el exocérvix y esto permite una exposición directa a la acción del HPV así como a otros cofactores también relacionados (Autier et al., 1996) Además el incremento de los niveles hormonales de estrógenos y de la progesterona, producido de forma fisiológica durante el embarazo, puede modular la respuesta inmune e incluso influir en el riesgo de lesión persistente o incluso en la progresión de las lesiones preneoplásicas a carcinoma (Sethi et al., 1998; Muñoz et al., 2002)

Inmunosupresión: tanto el riesgo de infección por HPV como el desarrollo de lesiones preneoplásicas se incrementa en estados de inmunodepresión.

HIV: se observa un incremento del riesgo de lesión preneoplásica en mujeres con infección HIV frente a mujeres no infectadas, 64 % y 27 % respectivamente. Cuanto mayor es la inmunodepresión, con recuentos muy bajos de CD4, mayor es el riesgo de lesión preneoplásica y cáncer. El cáncer de cérvix es uno de los tumores de mayor incidencia en pacientes afectados por SIDA (Wright et al., 1994, Duerr et al., 2001, Ellerbrock et al., 2000, Wrigth et al., 2015)

Tratamiento con inmunosupresores: se ha observado mayor riesgo de desarrollar preneoplasia en mujeres sometidas a tratamiento con inmunosupresores durante largo tiempo, sobre todo en mujeres con transplante o con lupus eritematoso sistémico (Williams et al., 1994; Sillman et al., 1984, Ognenovski et al., 2004, Malouf et al., 2004, Ozsaran et al., 1999, Tam et al., 2004, Wrigth et al., 2015)

Intervalo entre cribado cérvico-vaginal: se ha demostrado una relación directa entre el intervalo entre cribados y el riesgo de cáncer de cérvix (Wright, 2011)

III.4.-PREVENCIÓN

Se define la prevención como una serie de “acciones orientadas a la erradicación, eliminación, o minimización del impacto de la enfermedad y la discapacidad”, e incluye medidas sociales, políticas, económicas y terapéuticas (Last, 1988).

III.4.1.- PREVENCIÓN PRIMARIA

Definida como “actos destinados a disminuir la incidencia de una enfermedad reduciendo el riesgo de nuevos casos” (Last, 1988).

Respecto al cáncer de cérvix, el objetivo es prevenir la infección por HPV y dentro de las medidas primarias tenemos:

Uso de preservativo

Vacunación profiláctica frente a HPV

Hace años se disponía de dos vacunas profilácticas frente al HPV, compuestas por partículas similares morfológica e inmunológicamente a virus nativos (VLP), sin capacidad infectiva, replicativa ni oncogénica, ya que no poseen ADN viral. Las proteínas L1 de cada vacuna no son similares, además siguen distintos procesos de elaboración lo que les confiere diferentes propiedades biológicas (Cortés et al., 2010)

Hoy en día disponemos de 3 vacunas aprobadas para la prevención de la infección por ciertos tipos de HPV. Todas estas vacunas protegen frente a HPV -16 y 18.

(a) Gardasil®:

Actúa frente a HPV 16, 18, 6 y 11. Los HPV 6 y 11 son responsables del 90 % de las verrugas genitales.

(b) Gardasil 9®

Esta vacuna protege también frente a otros virus de alto riesgo, como son: 31, 33, 45, 52 y 58, además de los virus anteriores.

(c) Cervarix®

Esta vacuna ofrece protección frente a los virus HPV 16 y 18.

III.4.2.- PREVENCIÓN SECUNDARIA

La prevención secundaria hace referencia a los “actos destinados a disminuir la prevalencia de una enfermedad, reduciendo su evolución y duración” (Last, 1988).

Respecto al cáncer de cérvix uterino, su objetivo es detectar de forma precoz las lesiones precursoras y cáncer, mediante cribado cérvico-vaginal.

El cribado de cáncer cervical es una estrategia sanitaria realizada en personas que no presentan ningún síntoma de enfermedad y está basado en la detección de anomalías celulares o de infección por HPV-AR en los casos sospechosos de lesión preneoplásica y neoplásica para su posterior tratamiento. Sus objetivos son disminuir la incidencia y mortalidad por este cáncer, para lo cual se requiere una cobertura mínima del 70 % de la población (Cortés et al., 2010).

Requiere un *test* con una alta sensibilidad (para evitar la progresión de CIN a carcinoma infiltrante) y una elevada especificidad (para no sobretratar los LSIL/CIN1, que en la mayor parte de los casos regresarán espontáneamente).

El cribado puede ser:

Oportunista: se realiza a petición del interesado o tras una consulta por otro motivo médico

Poblacional: se ofrece a toda la población diana, de manera sistemática mediante la utilización de un protocolo, además de una adecuada evaluación continua de la calidad y de los resultados.

En Castilla y León se realiza cribado cérvico-vaginal desde 1986, y su estrategia ha variado a lo largo de los años dependiendo de la evidencia científica.

La **población diana** tiene unos **criterios de inclusión**, que son

- (a) Residentes en Castilla y León
- (b) Mujeres de 25 a 64 años de edad
- (c) Mujer sexualmente
- (d) Sin sintomatología ginecológica

Y unos ***criterios de exclusión*** que son

- (a) Permanentes: mujeres con histerectomía total
- (b) Temporales: mujeres sin relaciones sexuales
mujeres con sintomatología ginecológica

No son situaciones excluyentes el embarazo, la inmunosupresión ni la infección por HIV.

El **cribado** consiste en la realización de estudios citológicos, determinación de oncoproteínas por métodos inmunohistoquímicos y otras técnicas de detección de HPV. Además el **intervalo de cribado** depende de la edad:

Mujeres entre 25 y 34 años: citología cérvico vaginal cada 3 años (las dos primeras citologías con un intervalo de 12 meses)

Mujeres de 35 a 64 años: citología cérvicovaginal convencional y determinación de HPV cada 5 años.

III.4.2.A.- Citología

Se basa en el estudio morfológico de las células exfoliadas mediante el raspado y cepillado de la mucosa exocervical y endocervical de la mujer mediante la utilización de una espátula (toma exocervical) y de un cepillo (toma endocervical). Se produce mayor descamación celular cuanto más inmadura es la lesión, ya que disminuye la cohesión celular.

El objetivo de esta prueba es la detección de las lesiones escamosas intraepiteliales de alto grado (HSIL), del cáncer microinvasivo y del adenocarcinoma *in situ* endocervical (AIS).

Puede detectar también cambios inflamatorios, infecciosos o presencia de células anormales/neoplásicas.

III.4.2.A.1.-Citología convencional: extensión y fijación en portaobjetos

Es una técnica barata y de realización sencilla. Requiere una espátula de madera (espátula de Ayre) y un cepillo para la toma endocervical. Se recoge una muestra de la zona de transformación, que es donde se suelen originar las lesiones preneoplásicas y neoplásicas del cérvix uterino con una toma del exocérvix y otra del endocérvix.

Toma exocervical:

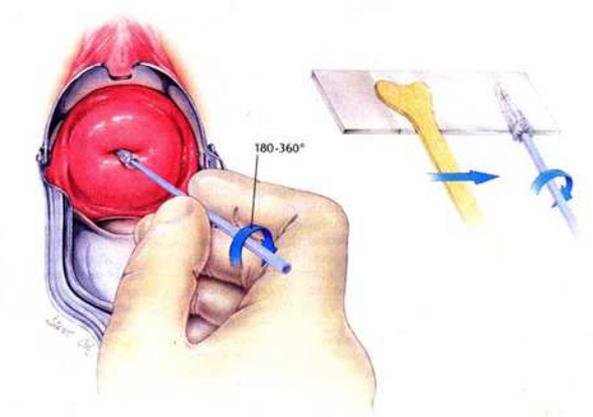


Figura 27: Toma de muestras para citología cervico-vaginal. Tomado de <http://www.androsmedic.com/blog/virus-del-papiloma-humano/>

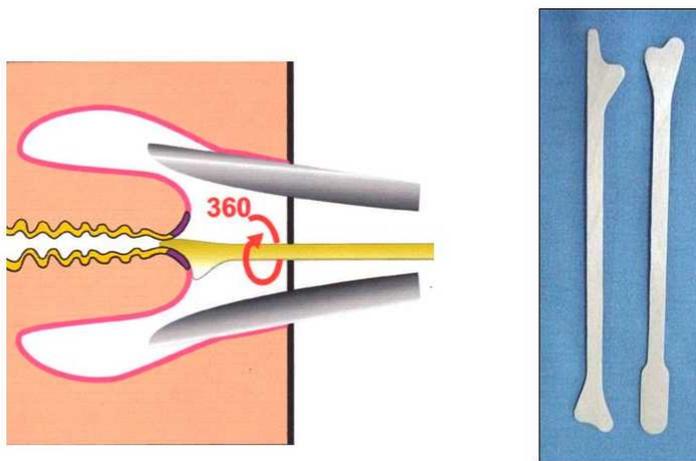


Figura 28 y 29: Toma exocervical con espátula y diferentes modelos de espátula. Tomado de "Protocolo de detección precoz del cáncer cervical. Gobierno de Cantabria. Fuente: Figura modificada a partir de: European Commission. European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening. Second edition. Arbyn M, et al. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 2008"

Toma endocervical:

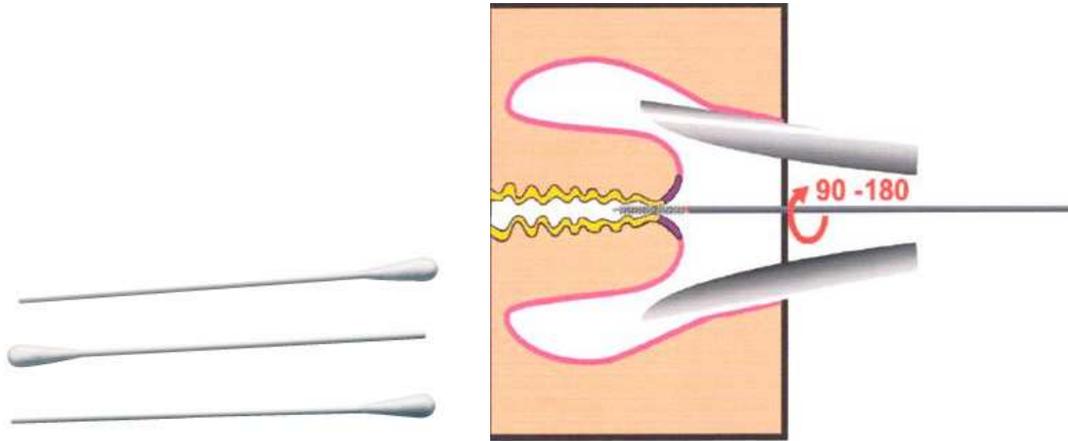


Figura 30 y 31: Toma endocervical. Tomado de “Protocolo de detección precoz del cáncer cervical. Gobierno de Cantabria. Figura modificada a partir de: European Commission. European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening. Second edition. Arbyn M, et al .Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 2008”

El material así obtenido se extenderá sobre un portaobjetos para proceder a su fijación, tinción y estudio.

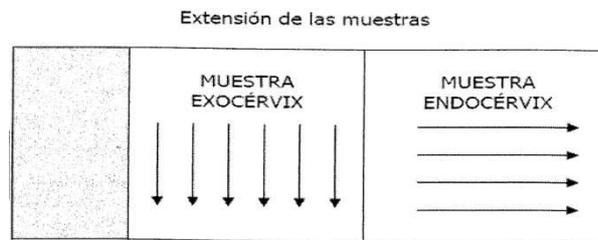


Figura 32: Extensión de la muestra citológica. Tomado de “Programa de cribado de cáncer de cuello de útero en Osakidetza” 2008.

III.4.2.A.2.-Citología en medio líquido

Se realiza la toma con una espátula y un cepillo, que a continuación se introducen en la solución del líquido fijador, habitualmente de base alcohólica, que permite su almacenaje y transporte al laboratorio, donde posteriormente se procesa. Se obtienen preparaciones en una sola capa, hecho que permite una valoración más sencilla de la

morfología celular que en las citologías convencionales y una disminución de los artefactos por defecto de fijación, exceso de sangre o inflamación.

Esta técnica se desarrolló para solventar los problemas que afectan a la citología convencional, como el elevado número de muestras inadecuadas para diagnóstico, que implica una posterior repetición de la toma citológica, además de acortar el tiempo de lectura por el citólogo/citotécnico.

También permite la realización de técnicas complementarias como son: inmunocitoquímica (p16, Ki67 u otros marcadores) y molecular (determinación de ADN-HPV), así como la lectura automatizada de la muestra citológica mediante el análisis de la imagen y la morfometría (BD Focal Point® de Becton Dickinson y ThinPrep Imager® de Hologic) (Torné-Bladé et al., 2014)



Figura 33: Tomado de <http://g5tecnologiaeducativa.blogspot.com.es/p/thinprep.html>

Figura 34: Tomado de http://www.wcpl.com/physician_supplies.asp

Existen numerosos sistemas en el mercado, dentro de los cuales los más utilizados son:

Thin Prep® (Cytoc, Boxborough, MA, USA)

BD Sure Path™ System (formerly, AutoCyte PREP, BD Diagnostics, Diagnostic Systems - TriPath USA)

III.4.2.A.3.- Sistemas de lectura automatizada

Para optimizar (disminuir el tiempo de cribado) y estandarizar el cribado de las preparaciones citológicas en medio líquido de los servicios de Anatomía Patológica y Citología se desarrollaron sistemas de lectura automatizada que utilizan el análisis de la imagen y de la morfometría celular mediante la medición de la densidad óptica de los núcleos y de la relación núcleo/citoplasma. Estos sistemas seleccionan áreas sospechosas que posteriormente el citotécnico revisa. Si no se puede establecer un diagnóstico en esas áreas sospechosas se procederá a la revisión clásica de toda la preparación citológica. Los sistemas de lectura aprobados por la FDA son: BD Focal Point® de Becton Dickinson y el ThinPrep Imager® de Hologic.

En los escasos estudios realizados los datos respecto a la sensibilidad son contradictorios ya que no se ha observado claramente un aumento de la sensibilidad (Thrall et al., 2008; Halford et al., 2010; Dalla et al., 2013).

III.4.2.A.4.- Informe citológico (Bethesda)

Tras la revisión de la muestra citológica y según los hallazgos encontrados se emite un informe que clasifica los hallazgos citológicos según la clasificación citológica de Bethesda 2001 (Bosch et al., 2008):

Clasificación citológica, Bethesda 2001

IDONEIDAD DE LA MUESTRA

Satisfactoria para evaluación (señalar la presencia o ausencia de células endocervicales o metaplásicas)

Insatisfactoria para valoración ... (especificar el motivo)

Muestra rechazada o no procesada ... (especificar el motivo)

Muestra procesada y examinada, pero insatisfactoria para valoración de anomalías epiteliales debido a ... (especificar el motivo)

CATEGORIZACIÓN GENERAL (opcional)

Negativa para lesión intraepitelial o malignidad

Células epiteliales anormales

Otras

INTERPRETACION / RESULTADO

Negativa para Lesión Intraepitelial o Malignidad

Organismos

Trichomonas vaginalis

Hongos morfológicamente compatibles con *Cándidas*

Flora sugestiva de vaginosis bacteriana

Bacterias morfológicamente compatibles con *Actinomyces*

Cambios celulares compatibles con virus del herpes simple

Otros hallazgos no neoplásicos (Opcional)

Cambios celulares reactivos asociados a

inflamación (incluye reparación típica)

radiación

dispositivo intrauterino

Células glandulares post histerectomía

Atrofia

Células epiteliales anormales

Células escamosas

Células escamosas atípicas (ASC)

de significado indeterminado (ASC-US)

no puede excluir lesión escamosa intraepitelial de alto grado (ASC-H)

Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (LSIL)

incluye: cambios por virus del papiloma humano / displasia leve / neoplasia cervical intraepitelial (CIN) 1

Lesión escamosa intraepitelial de alto grado (HSIL)

incluye: cambios por displasia moderada y severa, carcinoma in situ; CIN 2 y CIN 3

Carcinoma escamoso

Células glandulares

Células glandulares atípicas (AGC) (*especificar endocervical, endometrial o sin especificar*)

Células glandulares atípicas, posible neoplasia (*especificar endocervical o sin especificar*)

Adenocarcinoma in situ endocervical (AIS)

Adenocarcinoma

Otros

Células endometriales en mujer ≥ 40 años

LECTURA AUTOMATIZADA Y TÉCNICAS AUXILIARES (Incluir si precisa)

NOTAS DIDACTICAS Y SUGERENCIAS (Opcional)

Figura 35: Resultados de Citología: "Sistema Bethesda 2001 (modificado)"

Células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US)

Se definen como “cambios citológicos sugestivos de LSIL que son cuantitativa o cualitativamente insuficientes para un diagnóstico definitivo” (Solomon et al, 2002). Este hallazgo se debe considerar como un diagnóstico de exclusión.

Células escamosas atípicas sugestivas de HSIL (ASC-H)

Son células con un citoplasma inmaduro y núcleo más grande que el de las células metaplásicas habituales, con aumento de la relación núcleo/citoplasma anisonucleosis e irregularidades en la membrana nuclear, así como leve hiperchromasia. También pueden observarse grupos celulares con características reparativas o con anomalías epiteliales que incluso pueden sugerir el diagnóstico de carcinoma, por lo que conviene incluirlas en esta categoría para su correcto seguimiento clínico. Estas alteraciones son insuficientes para realizar el diagnóstico citológico de HSIL.

LSIL

Se observan células escamosas maduras, que se disponen habitualmente de forma aislada, con núcleos agrandados, 4-6 veces el tamaño nuclear de las células intermedias normales, con núcleos de membranas irregulares e hiperchromáticos con cromatina granular fina de distribución uniforme, sin nucléolo prominente asociado. Se observan frecuentes células binucleadas.

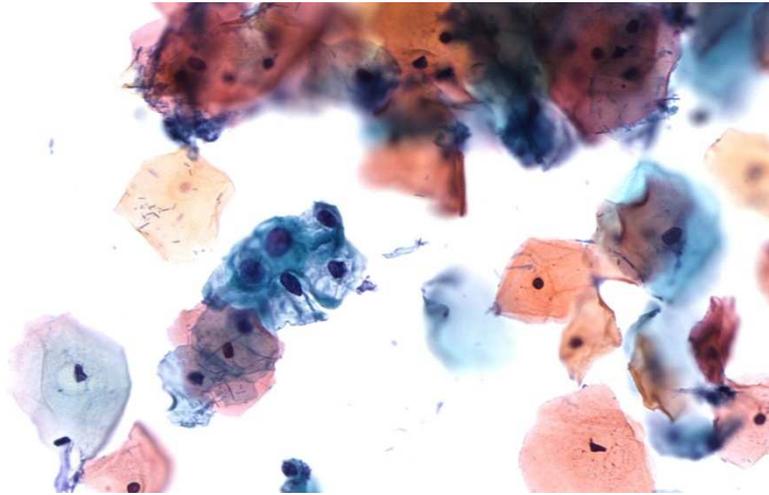


Figura 36: LSIL en citología en medio líquido

También se pueden observar otras células con cambios citopáticos producidos por la infección viral, los denominados “coilocitos”, que son células con un halo claro citoplasmático perinuclear, ópticamente bien definido, que presenta un refuerzo citoplasmático denso y que asocia algún grado de anomalía nuclear, como puede ser: agrandamiento nuclear, irregularidad de la membrana nuclear, hipercromasia, bi o multinucleación o picnosis. En algunas situaciones se puede observar un halo perinuclear inespecífico que puede confundirse con los cambios coilocíticos, pero sin la atipia nuclear asociada, que se puede observar en:

Glucogenización de las células

Cambios inflamatorios

Infección por Tricomonas

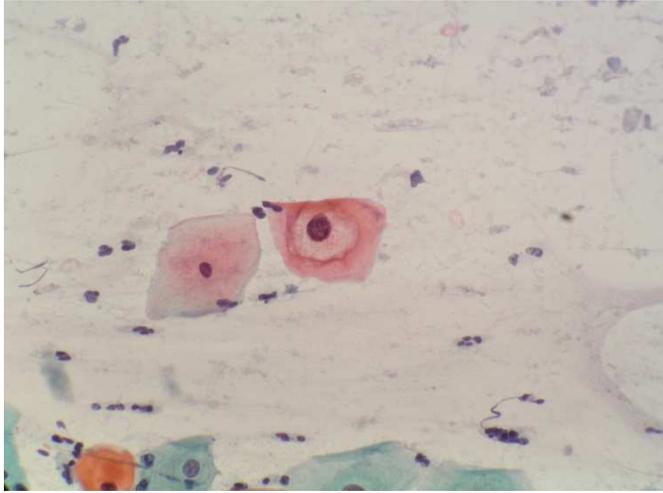


Figura 37: Coilocito en citología convencional

HSIL

Citológicamente se caracteriza por la presencia de células, dispuestas de forma aislada o en grupos e incluso agregados sincitiales, con aumento de la relación núcleo/citoplasma, con núcleos de características anormales y citoplasma inmaduro. Los núcleos suelen ser más pequeños que los observados en las células diagnósticas de LSIL, de 2 a 5 veces el tamaño del núcleo de una célula intermedia.

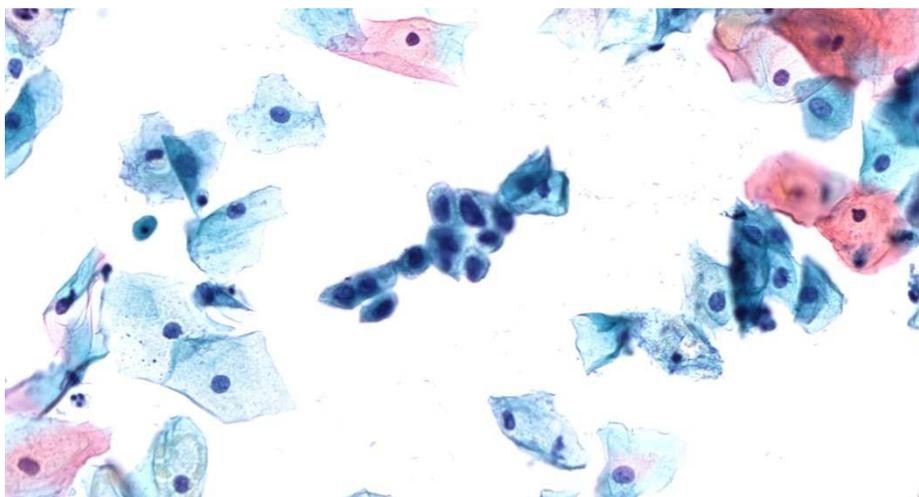


Figura 38: HSIL en citología en medio líquido

Carcinoma escamoso:

Se observan 2 variantes:

Carcinoma escamoso no queratinizante:

Se caracteriza por un frotis con numerosas células aisladas o en grupos sincitiales, que presentan rasgos inmaduros, con aumento de la relación núcleo/citoplasma, aunque suele ser menor que en las células diagnósticas de HSIL, membrana nuclear irregular y distribución irregular de la cromatina. Destaca la presencia de nucléolo prominente y un fondo diatésico tumoral necrótico. También se observan mitosis, e incluso alguna atípica.

Carcinoma escamoso queratinizante:

En el frotis se observan células dispuestas de forma aislada, aunque también se pueden observar pequeños grupos, con marcada heterogeneidad, con células alargadas y en forma de renacuajo, aumento de la relación núcleo/citoplasmática, núcleos opacos y citoplasmas eosinófilos densos.

Las características que sugieren la posibilidad de un **carcinoma infiltrante** son

- a) Presencia de macronucleolos en núcleos con cromatina granular dispersa
- b) Fondo diatésico tumoral

Células glandulares atípicas de significado indeterminado (AGUS)

Las células glandulares muestran cambios que exceden los cambios reactivos y reparativos, pero sin observar los cambios diagnósticos de adenocarcinoma.

Adenocarcinoma endocervical *in situ* (AIS)

Los criterios para el diagnóstico de AIS son:

- a) Aglomeración y superposición nuclear
- b) Grupos de células con empalizada nuclear y aspecto deflecado
- c) Núcleos agrandados y pseudoestratificados
- d) Hiperchromasia nuclear con cromatina grumosa de distribución uniforme
- e) Numerosas mitosis y cuerpos apoptóticos
- f) Menor cantidad de citoplasma y mucina que en las células endocervicales normales
- g) Ausencia de diátesis tumoral y detritus inflamatorios

Adenocarcinoma endocervical

Además de los criterios presentes en el AIS se observa diátesis tumoral necrótica, que sugiere infiltración estromal.

III.4.2.B.- Determinación de oncoproteínas por métodos inmunohistoquímicos

III.4.2.B.1.- p16-INK4a (p16)

Proteína inhibidora de la quinasa, dependiente de ciclina. Se detecta cuando la proteína del gen del retinoblastoma (pRb) está mutada, delecionada o inactivada. La proteína del retinoblastoma en condiciones normales se une al factor de transcripción

E2F, bloqueando la transcripción de los genes implicados en el ciclo y la proliferación celular además de en la codificación del gen para el inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina p16. Impide la replicación y proliferación continua de las células (Torné-Bladé et al., 2014).

Esta proteína se expresa de forma habitual en las células endocervicales, en las células endometriales y en las células metaplásicas, y también se ha observado reacción cruzada con la infección por tricomonas.

Con las técnicas inmunohistoquímicas se observa una marcada sobre-expresión de esta proteína en los casos con infección por HPV de AR, en lesión preneoplásica (sobre todo de alto grado) o carcinoma, por lo que es un marcador excelente de HSIL tanto en estudios histológicos como citológicos. Las lesiones reactivas son prácticamente negativas en todos los casos (Torres et al., 2012). Se estima que sería necesario realizar esta determinación en menos del 10 % de todas las biopsias de un laboratorio (Darragh et al., 2012, Torné-Bladé, 2014).

Para considerar la tinción como positiva se debe observar una intensa tinción nuclear y/o citoplasmática en la capa basal con extensión como mínimo al tercio basal del epitelio. No se requiere la tinción de todo el espesor epitelial. La tinción nuclear focal y/o parcheada, irregular o en damero no se considera positiva, y puede corresponder a metaplasia escamosa o LSIL. La tinción citoplasmática, en gota o de células aisladas se define como negativa (Darragh et al., 2012; Torres et al., 2012)

Según diferentes estudios se ha observado una sensibilidad para las lesiones de alto grado (HSIL) entre el 100 y el 80 % y una especificidad entre el 100 y 70 % (Torres et al., 2012).

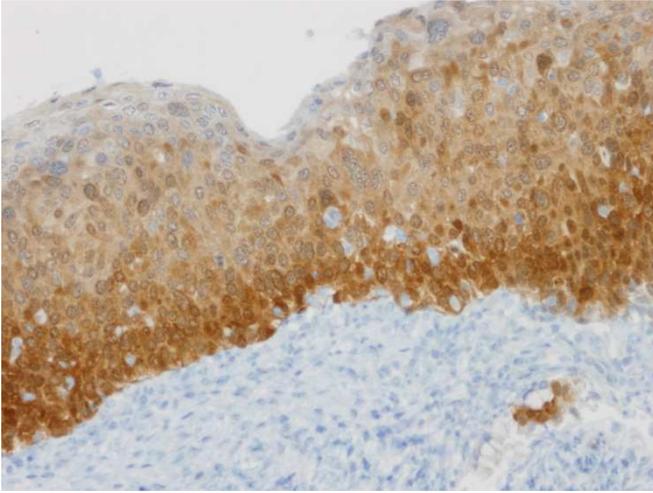


Figura 39: Tinción p16 positiva en biopsia de cérvix con HSIL

EL Colegio Americano de Patólogos (CAP) recomienda utilizar p16 en (Torné-Bladé et al, 2014):

- (a) Lesiones dudosas en las que se considere como diagnóstico diferencial una lesión de alto grado: atrofia, metaplasia escamosa inmadura, etc.
- (b) Discrepancias entre patólogos
- (c) Diagnóstico diferencial entre LSIL y HSIL
- (d) Casos con citología de HSIL y biopsia de LSIL, ASCUS, ASC-H o normal.

También es útil en la identificación de lesiones pequeñas o escasamente representativas, muestras con artefacto tanto en la biopsia como en la pieza de conización y en el análisis del legrado endocervical (Torres et al., 2012).

III.4.2.B.2.- ki-67 (Mib1)

Antígeno que identifica las células en fase proliferativa. Se ha utilizado en histología como apoyo diagnóstico en casos dudosos, aunque es poco específico de lesión

preneoplásica, ya que también se observa expresión aumentada en casos reactivos. La tinción es positiva cuando se tiñe el núcleo (Torres et al., 2012).

Se observa una relación directa entre el grado y la extensión de la positividad con el grado de la lesión preneoplásica.

Epitelio normal: positividad limitada al estrato basal

L-SIL: tinción positiva en el tercio inferior o dos tercios del espesor epitelial.

H-SIL: positividad difusa

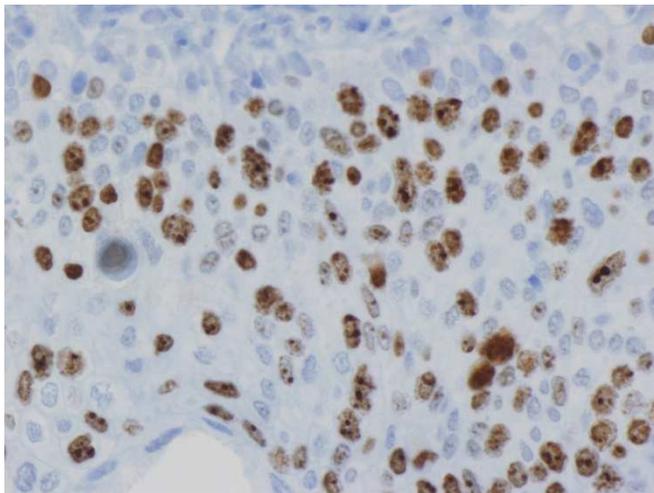


Figura 40: Tinción inmunohistoquímica ki-67 en biopsia de cérvix con HSIL

No se recomienda realizar esta determinación de forma rutinaria (Darragh et al., 2012).

III.4.2.B.3.- Tinción dual p16/ki-67

Independientemente de la interpretación morfológica, la positividad citoplasmática para p16 y nuclear para ki-67 en la misma célula se considera resultado positivo en citología. Algunos estudios demuestran una sensibilidad ligeramente menor que la detección de ADN-HPV de AR aunque tiene una especificidad mayor, por lo que posiblemente sea de utilidad para citologías dudosas e incluso cribado en el futuro (Torné-Bladé, 2014).

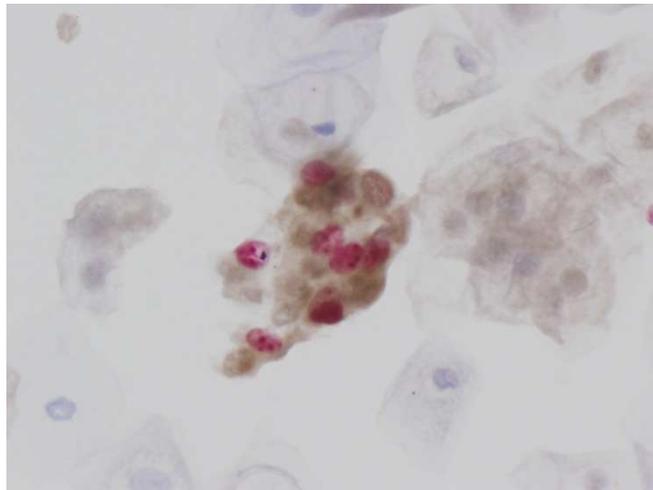


Figura 41: Tinción inmunohistoquímica dual p16/ki-67 en citología en medio líquido

III.4.2.B.4.-Otras determinaciones IH

ProEX C®

Nombre comercial de la combinación de dos antígenos que detectan la proteína 2 del mantenimiento de minimicrosomas (MCM2) y la topoisomerasa II α , que se encuentran sobreexpresadas en procesos con una inducción aberrante de la fase S del

ciclo celular, como ocurre en las células infectadas por el virus HPV (Torres et al., 2012).

Si se compara con p16-INK4a no se observa incremento de la sensibilidad ni de la sensibilidad para la detección de lesiones de alto grado. Diferentes estudios muestran una sensibilidad entre el 79 y el 92.% y una especificidad entre el 28 y el 100.% (Halloush et al., 2008; Torres et al., 2012).

No se utiliza de rutina

Ciclina o PCNA

El Antígeno Nuclear de Proliferación Celular o ciclina, es un antígeno relacionado con la proliferación celular y presenta niveles elevados en las fases S, G y M del ciclo celular. La tinción es nuclear (Sánchez-Rosales et al., 2004; Torres et al., 2012).

Presenta una relación directa entre el grado y extensión de la lesión preneoplásica y la positividad del antígeno (Mittal et al., 1993; Sanchez-Rosales et al., 2004).

No se han observado diferencias significativas entre este marcador y Ki-67, sin observar ventaja de uno sobre el otro.

No se utiliza de forma rutinaria.

Cdc6 y Mcm5

Son dos antígenos relacionados con la proliferación celular similares a ki-67, por lo que carecen de especificidad (Torres et al., 2012).

No se utilizan de forma rutinaria.

Anti –HPV L1

Con este marcador se detecta la proteína L1 del HPV mediante una tinción citoplasmática. Algunos autores, como Hernández et al, en 2011, consideraron la posibilidad de la utilización de este marcador para clasificar a los pacientes según el riesgo de progresión de lesión preneoplásica a carcinoma infiltrante.

No se utiliza de forma rutinaria.

EGFR

Su expresión inmunohistoquímica está aumentada en las lesiones preneoplásicas y en el carcinoma infiltrante (Alameda et al., 2014).

No se utiliza de forma rutinaria.

III.4.2.C.- Sistemas para la detección de ADN-HPV

Estas técnicas se basan en la detección del HPV, mediante el análisis específico de secuencias de ADN, del ARN que produce el virus o de las diferentes proteínas sintetizadas a partir del ARN, en el material procedente de la toma (Lacruz et al., 2003; Torné-Bladé et al., 2014).

Aunque desde 1983 ya se utilizaban métodos moleculares para la detección de HPV, no ha sido hasta casi una década después cuando se han desarrollado adecuadamente los diferentes métodos de hibridación para resolver las limitaciones previas de los mismos (Syrjanen et al., 2000).

Se pueden utilizar diferentes métodos para la detección del ADN y ARN viral, basados en la hibridación (aumentando la cantidad del ADN buscado en una muestra) o mediante amplificación basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

(aumentando la cantidad del ácido nucleico en el proceso previo a la detección). Ambos métodos se basan en la separación de la doble cadena de ADN viral mediante el incremento de la temperatura. Se basan en enfrentar el ADN de la muestra, con o sin amplificación, con una sonda de ADN conocido y complementaria de la secuencia de ADN que intentamos localizar, la cual se marca para su posterior detección, permitiendo así la visualización del producto de la hibridación entre la sonda marcada y el ADN problema. También se están utilizando métodos que detectan el ARN mensajero de las oncoproteínas virales E6 y E7.

Además de la detección del virus también se requiere su genotipado. (Torné-Bladé et al., 2014).

Actualmente existen alrededor de 140 métodos de detección de HPV en el mundo, de los cuales sólo están aprobadas por la FDA para el cribado poblacional los siguientes (Torné-Bladé et al., 2014):

III.4.2.C.1.- Captura de híbridos (Hybrid Capture® 2 o HC2) HPV DNA test (QIAGEN)

Es el método más utilizado, fue aprobado en 2003, y sólo puede ser utilizado en células en suspensión, por lo que no se puede utilizar en muestras titulares. Es un método no automatizado y consiste en una técnica de hibridación que utiliza una secuencia complementaria de ARN.

La sonda complementaria se marca con un producto luminiscente, que permite la visualización de los híbridos resultantes entre la sonda problema y secuencia complementaria marcada, mediante un luminómetro. El resultado obtenido es cualitativo (positivo o negativo para HPV-AR) y semicuantitativo, ya que mide la intensidad de la reacción en unidades relativas de luz (URL), por lo que permite una

estimación de la carga viral o de la cantidad de virus en la muestra (Ordi et al., 2003 y 2005).

Permite la detección de 13 tipos de HPV-AR, los cuales son: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52,56,58,59 y 68), aunque no especifica el genotipo viral.

Es una técnica con una alta sensibilidad, aunque se observan aislados casos de falsos positivos por reacción cruzada con algunos tipos de HPV de bajo riesgo (Ramirez-Hidalgo et al., 2013; Torné-Bladé et al., 2014).

III.4.2.C.2.- Cervista® HPV HR test (Hologic)

Es una técnica automatizada de hibridación que permite la detección de HPV en muestras de citología líquida. Tras realizar la extracción del ADN viral se aplica este *test*, que utiliza el método “invader” para la lectura del caso mediante una reacción luminiscente y se informa como positivo/negativo para HPV-AR. No informa de la carga viral.

Permite la detección de 14 tipos virales de AR divididos en 3 grupos:

Mix 1: 51, 56 y 66

Mix 2: 18, 39,45, 59 y 68

Mix 3: 16, 31, 33, 35, 52 y 58

Es una técnica aprobada en 2009, muy sensible, en la que no se reconocen reacciones cruzadas con virus de BR, aunque si se requiere la tipificación del virus se deberá realizar una segunda prueba (Torné-Bladé et al., 2014).

III.4.2.C.3.- Cobas® 4800 HPV test (Roche)

Es un método automatizado, aprobado en 2011, que detecta el HPV mediante reacción PCR a tiempo real en muestras de citología en medio líquido. Se informa como positivo/negativo para HPV-AR, y en los casos positivos indica el genotipo presente en la muestra.

Detecta la presencia de los siguientes virus: 16, 18, 31, 33,35,39,45,51,52, 56, 59, 66 o 68. Además también informa sobre la carga viral, y no se han detectado reacciones cruzadas con virus de BR.

III.4.2.C.4.- Aptima® HPV test (Gen-Probe Inc.)

Es un sistema automatizado, aprobado en 2011, que permite la detección de 14 tipos de HPV-AR mediante el análisis del ARNm de las oncoproteínas E6 yE7 virales en muestras de citología en medio líquido.

Se describe como un método más específico que los anteriormente descritos en los casos de LSIL y ASCUS (Arbyn et al., 2012; Cattani et al., 2009) además de tener la misma sensibilidad. Esta técnica podría ser útil en los casos con HPV positivo y citología negativa.

Se utiliza en la plataforma Panther como co- test y en la selección de casos con células ASCUS (Arbyn et al., 2012; Lloveras et al., 2013; Torné-Bladé et al., 2014).

III.5.- PROGRAMA DE PREVENCIÓN Y DETECCIÓN PRECOZ DEL CÁNCER DE CUELLO DE ÚTERO

En el año 2014 se consensó un nuevo protocolo para el cribado del cáncer cervical, con participación de la Sociedades Españolas de Ginecología y Obstetricia (SEGO), de Patología Cervical y Colposcopia (AEPCC), de Anatomía Patológica (SEAP) y Citología (SEC).

El inicio del cribado se debe realizar a los 25 años (independientemente de la edad de inicio de las relaciones sexuales y de otros factores de riesgo) y finalizar a los 65 años, siempre que haya habido previamente un cribado adecuado y éste haya sido negativo durante los 10 años previos además de no tener antecedentes de lesión preneoplásica o cáncer de cérvix tratado durante los 20 años previos al cribado.

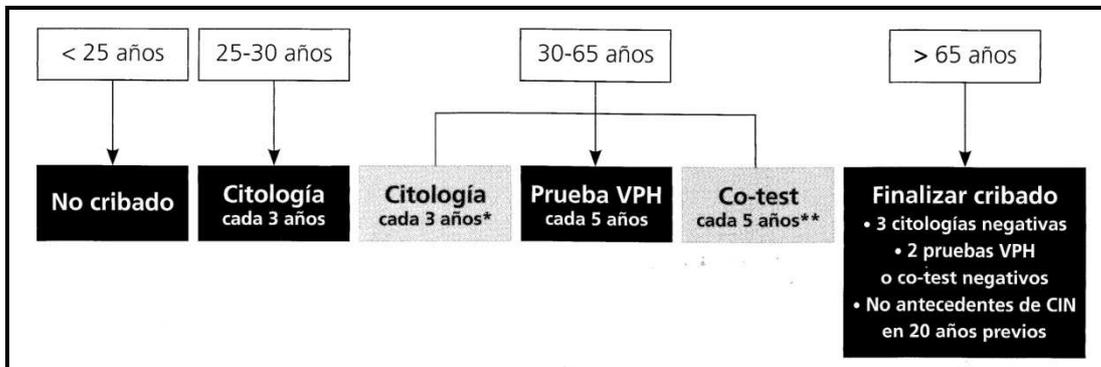


Figura 42: Recomendación de cribado. Tomado de “Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero”, 2014

CONDUCTA ANTE RESULTADOS ANORMALES EN LAS PRUEBAS DE CRIBADO (Alameda et al, 2014):

En la figura 35 se resume el protocolo recomendado en los **casos con citología negativa y HPV positivo**

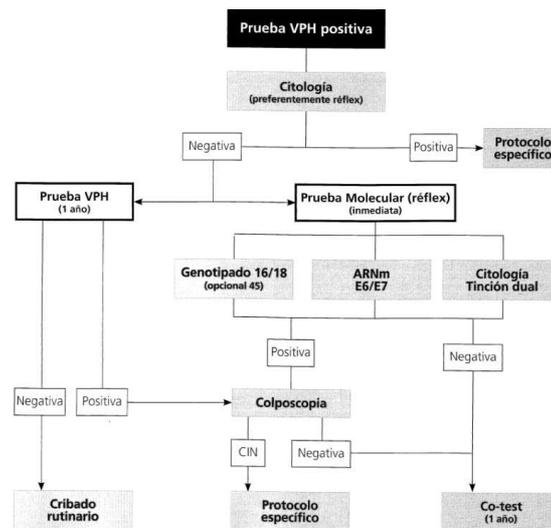


Figura 43: Cribado en citología negativa y *test* ADN- HPV positivo. Tomado de “Oncogüia SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero”, 2014

Si la **citología** es **no satisfactoria** se debería seguir el protocolo que se expone en la figura 36:

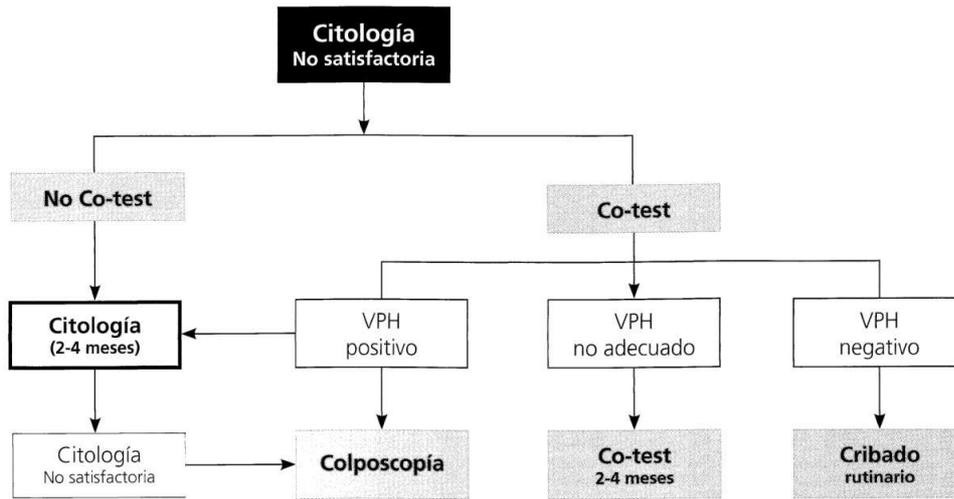


Figura 44: Cribado en citología no satisfactoria. Tomado de "Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero", 2014.

Ante una citología con resultado de **ASCUS** se pueden seguir 3 protocolos diferentes con una seguridad y eficacia similar

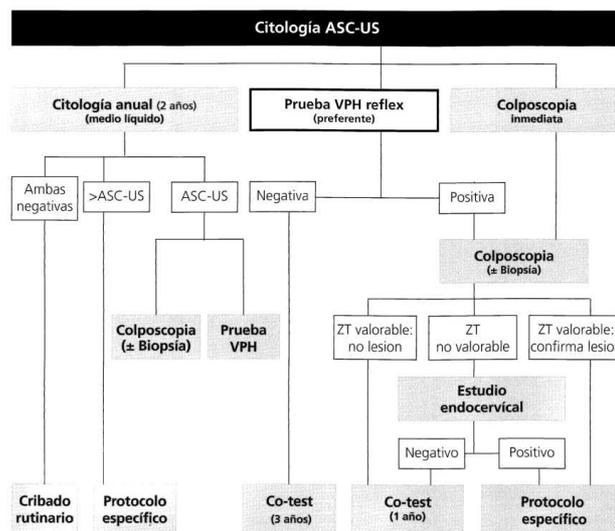


Figura 45: Cribado en ASCUS. Tomado de “Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero”, 2014

Existen casos particulares cuyo seguimiento será el siguiente:

Mujeres gestantes: la conducta a seguir es la misma que en la población general, aunque el estudio colposcópico puede diferirse hasta las 6 semanas post-parto.

Mujeres postmenopáusicas: la recomendación es similar a la población general.

Mujer de menos de 25 años (aunque no se recomienda el cribado en estas pacientes) se debería realizar citología anual durante 2 años. La actuación recomendada es superponible a las pacientes con este mismo rango de edad y citología LSIL.

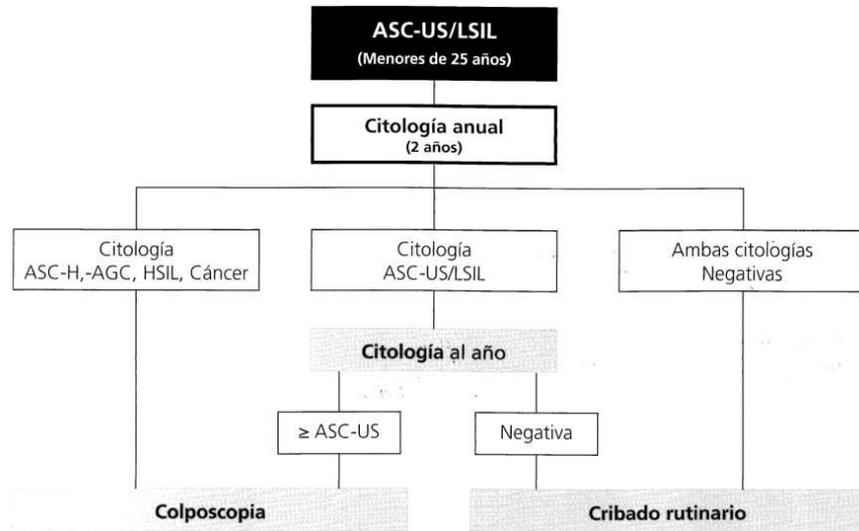


Figura 46: Cribado en ASCUS o LSIL en mujeres menores de 25 años. Tomado de “Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero”, 2014

El diagnóstico citológico de **ASC-H** es muy poco frecuente (0,27-0,6 % del cribado citológico) pero representa un riesgo mayor de lesión HSIL que la citología ASCUS o LSIL aunque menor que si el resultado es de HSIL. En casos de mujeres menores de 25 años, se recomienda la misma actuación que en la población general.

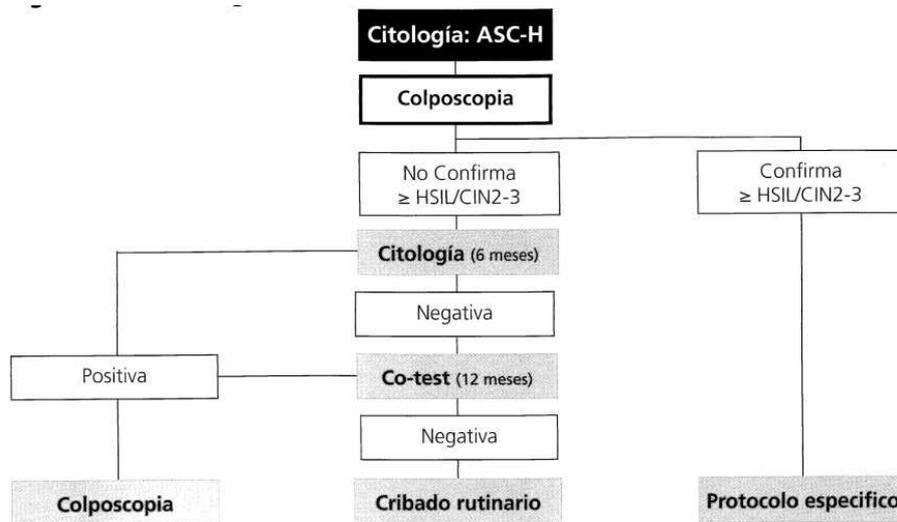


Figura 47: Cribado en ASC-H. Tomado de “Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero”, 2014

Si el resultado citológico es **LSIL**, se recomienda:

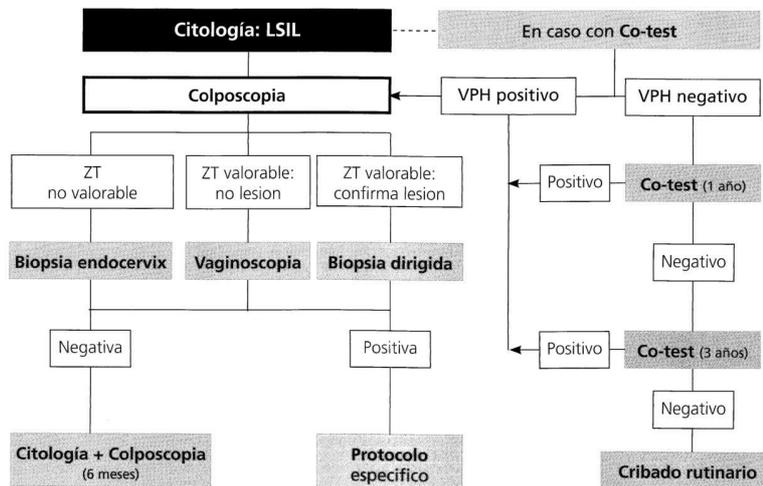


Figura 48: Cribado en LSIL. Tomado de “Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero”, 2014

En cuanto a las consideraciones particulares:

Mujer menor de 25 años, se debería realizar citología anual durante 2 años sin colposcopia asociada.

Mujeres embarazadas sólo se recomienda la realización de colposcopia, que incluso se podría diferir hasta 6 semanas postparto

Mujeres post-menopáusicas se puede repetir la citología a los 6 y 12 meses o realizar una prueba de HPV o colposcopia.

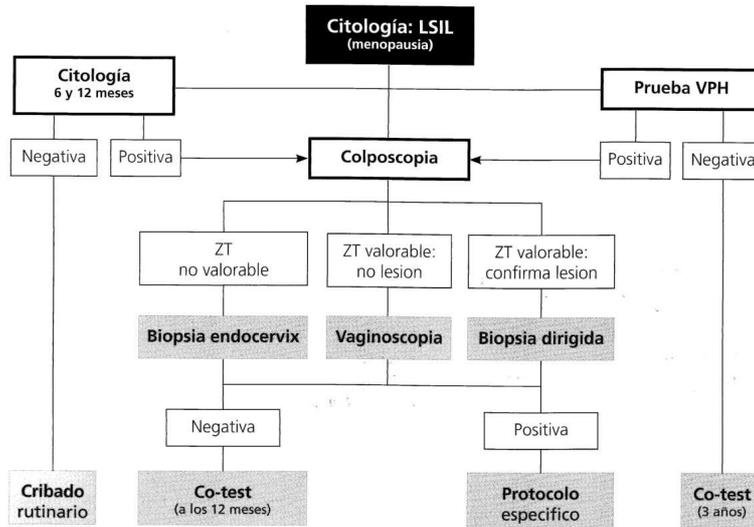


Figura 49: Cribado en mujeres postmenopáusicas con LSIL. Tomado de “Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero”, 2014

Ante un resultado citológico de **HSIL** se admiten dos posibles actuaciones:

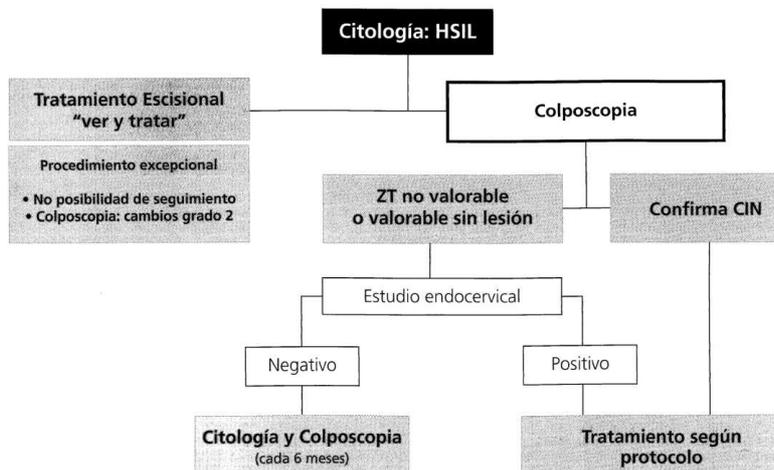


Figura 50: Cribado en HSIL. Tomado de “Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero”, 2014

En pacientes menores de 25 años, el riesgo de un carcinoma infiltrante es muy bajo, por lo que se recomienda lo siguiente:

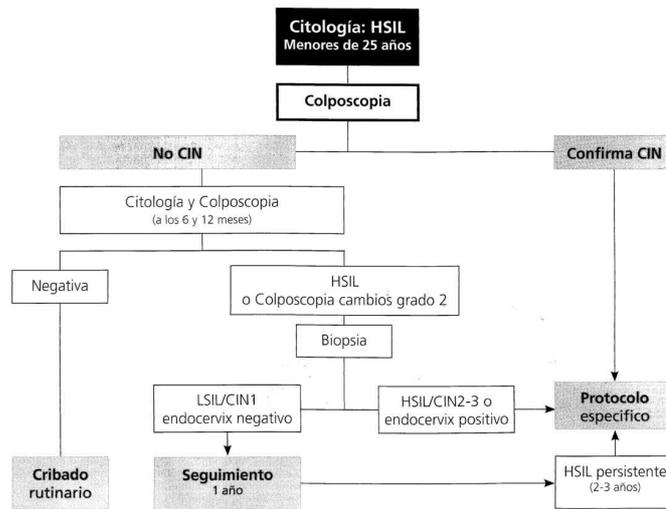


Figura 51: Cribado en mujer menor de 25 años con HSIL. Tomado de “Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero”, 2014

Si el resultado es de **atipia de células glandulares (AGUS/ACG)** se procederá como se indica en la figura 44:

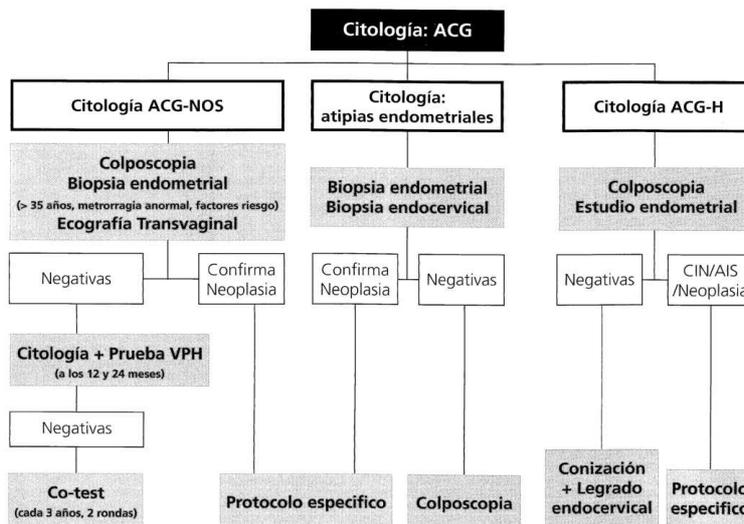


Figura 52: Cribado en AGUS/ACG. Tomado de “Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero”, 2014

En cuanto a **mujeres vacunadas**, no existe una recomendación de cribado específica, aunque posiblemente el comienzo de cribado será más tardío, con un mayor intervalo de cribado (Torné-Bladé, 2014). Cortés et al. (2012) aconseja iniciar el cribado a los 30 años con una prueba de detección de HPV y repetirla a los 5 años si ésta fuese negativa. En los casos positivos se realizaría una citología, y si su resultado fuese HSIL, se remitiría a colposcopia. Si la citología fuera informada de cualquier otro resultado anómalo, se realizaría la determinación del tipo viral. Si éste fuese positivo para HPV 16 o 18, se remitiría a colposcopia. Si se tratara de otro tipo viral, no 16 ni 18, se recomienda repetir de forma anual el *test* de HPV y la citología. (Cortés et al., 2012; Puig-Tintoré et al., 2011)

En **mujeres tratadas por lesión preneoplásica** se realiza otro seguimiento, ya que en el 15 % de los casos, aproximadamente, se puede diagnosticar en los próximos 2

años post-tratamiento una nueva lesión preneoplásica (Kocken et al., 2012) Alameda et al., 2014). Además, se ha observado un riesgo de desarrollar cáncer de cérvix entre 3 y 12 veces mayor que en la población general durante los siguientes 10-20 años. (Melnikow et al., 2009; Soutter et al., 2006; Edgren et al., 2007; Alameda et al., 2014).

Con este seguimiento se pretende identificar a las pacientes con lesión persistente o recurrente para su posterior tratamiento. La tasa de persistencia/recurrencia se sitúa entre el 3 y el 10 % de los casos tratados. (Martin-Horsch et al., 2010) e incluso en algunos estudios se sitúa en un rango de 5-25 % (Kocken et al., 2012).

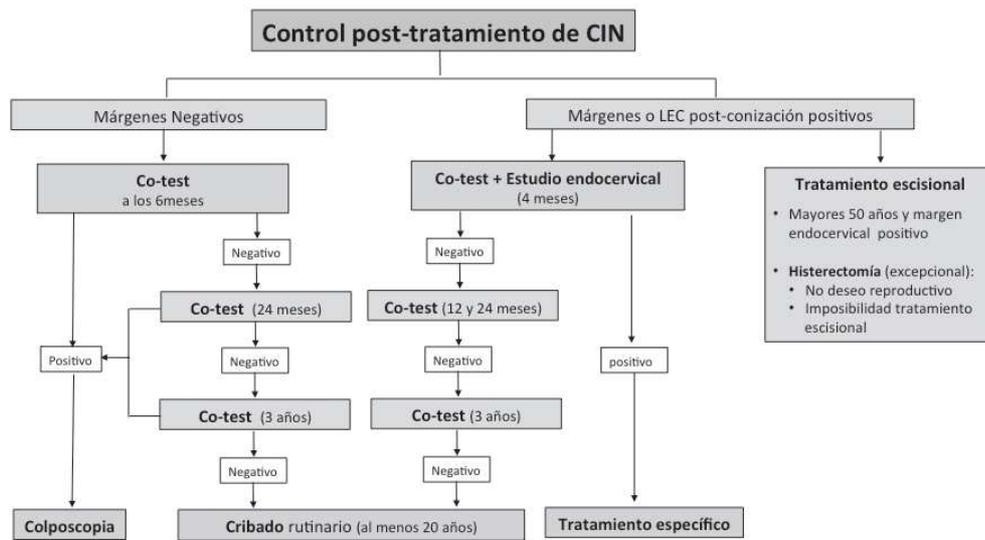


Figura 53: Cribado en post-tratamiento de lesiones preneoplásicas. “Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero”, 2014

III.6.- COLPOSCOPIA

El estudio colposcópico consiste en la visualización del tracto genital femenino mediante un microscopio binocular que permite la identificación de cambios en la mucosa por visualización directa o mediante la aplicación de ácido acético al 3-5 % en la mucosa durante 10 segundos o de una solución yodoyodurada de lugol (*test* de Schiller), técnica que facilita la detección, localización y valoración de la extensión de las lesiones benignas, preneoplásicas y malignas así como la posibilidad de realizar una biopsia en las áreas más sospechosas para su correcta tipificación histológica.

Para que esta técnica se considere satisfactoria es necesaria la visualización de toda la zona de transformación, por lo que se requiere una buena formación y experiencia del especialista.

El objetivo de la colposcopia es aumentar la sensibilidad de la citología y tiene como finalidad (Puig-Tintoré et al., 2002):

- (a) Confirmar la presencia de lesión
- (b) Descartar infiltración
- (c) Determinar el grado de la lesión
- (d) Valorar las características de la lesión: topografía, extensión, afectación o no glandular
- (e) Valorar la existencia de multicentricidad
- (f) Seleccionar la conducta terapéutica y tipo de tratamiento si es preciso

Es una prueba muy sensible para la detección de lesiones preneoplásicas pero su especificidad es limitada. Según diferentes estudios existe una moderada correlación entre los hallazgos colposcópicos y el diagnóstico histológico (Petry et al., 2011).

Actualmente se clasifican los hallazgos según la nomenclatura de la Federación Internacional de Patología Cervical y Colposcopia (IFCPC) de 2011:

TERMINOLOGÍA COLPOSCÓPICA DEL CUELLO UTERINO DE IFPC 2011 ¹			
EVALUACIÓN GENERAL		<ul style="list-style-type: none"> Adecuada/inadecuada a causa de ...(por ej.: cuello uterino no claro por inflamación, sangrado, cicatriz) Visibilidad de la unión escamocolumnar: completamente visible, parcialmente visible, no visible. Tipos de zona de transformación 1,2,3	
HALLAZGOS COLPOSCÓPICOS NORMALES		Epitelio escamoso original: <ul style="list-style-type: none"> Maduro Atrófico Epitelio columnar <ul style="list-style-type: none"> Ectopía Epitelio escamoso metaplásico <ul style="list-style-type: none"> Quistes de Naboth Aberturas glandulares y/o criptas glandulares Deciduosis en el embarazo	
HALLAZGOS COLPOSCÓPICOS ANORMALES	Principios generales	Ubicación de la lesión: dentro o fuera de la zona de Transformación, ubicación de la lesión según las agujas del reloj. Tamaño de la lesión Número de cuadrantes del cuello uterino que cubre la lesión, tamaño de la lesión en porcentajes del cuello uterino.	
	Grado 1 (Menor)	Epitelio acetoblanco delgado. Borde irregular	Mosaico fino, Puntillado fino
	Grado 2 (Mayor)	Epitelio acetoblanco denso, Aparición rápida de epitelio acetoblanco. Orificios glandulares abiertos con bordes engrosados.	Mosaico grueso, Puntillado grueso. Bordes delimitados, Signo del límite del borde interno, Signo de cresta o sobreelevado.
	No específicos	Leucoplasia (queratosis, hiperqueratosis), Erosión Solución de Lugol (Test de Schiller): positivo/negativo	
SOSPECHA DE INVASIÓN		Vasos atípicos Signos adicionales: Vasos delgados, superficie irregular, lesión exofítica, necrosis, ulceración (necrótica), tumoración nodular.	
HALLAZGOS VARIOS		Zona de transformación congénita, Condiloma, Pólipo (exocervical /endocervical) Inflamación,	Estenosis, Anomalia congénita, Anomalías post tratamiento, Endometriosis

TERMINOLOGÍA COLPOSCÓPICA DEL CUELLO UTERINO – APÉNDICE DE IFPC 2011 ¹	
Tipos de tratamiento de escisión	Tipo de escisión 1,2,3
Medidas de la muestra de escisión	Largo – distancia del margen distal/externo al margen proximal/interno Grosor – distancia del margen estromal a la superficie de la muestra extirpada Circunferencia (Opcional)- el perímetro de la muestra extirpada.

Figura 54: Terminología colposcópica del cuello uterino Clasificación colposcópica de IFPC 2011. Tomado de <http://www.colpoweb.org/docs/Nueva-Nomenclatura-IFPC-aprobada.pdf>

Los hallazgos colposcópicos sugestivos de cáncer invasor son (Petry et al., 2011):

- (a) Vasos atípicos
- (b) Superficie irregular, erosionada o ulcerada
- (c) Cambio acetoblanco denso
- (d) Punteado o mosaico amplio e irregular

Las indicaciones para la realización de biopsia cervical y posterior estudio histológico, según Puig-Tintoré (2011), son:

Biopsia dirigida del ectocérvix

Colposcopia anormal con cambios mayores

Colposcopia anormal y satisfactoria con cambios menores y citología \geq a LSIL

Estudio de endocérvix por legrado o citología por cepillado

Colposcopia anormal con lesión que penetra en canal endocervical

Citología anormal con colposcopia no satisfactoria

Citología con lesiones glandulares: AGUS, AIS, adenocarcinoma

Antes de practicar un tratamiento destructivo

Estudio de endometrio por legrado o microaspiración

Citología con lesiones glandulares en mujeres de edad igual o superior a 35 años:
AGUS, AIS, adenocarcinoma

III.7.- ESTUDIO HISTOLÓGICO

III.7.1.- Biopsia de cérvix

Tras la localización de una lesión colposcópica de cambios mayores se realiza una toma de muestras para biopsia con una pinza sacabocados. También se realizará biopsia en los casos con resultado citológico de HSIL, ASC-H o AGC para descartar una lesión de mayor grado y en LSIL si se va a realizar observación sin tratamiento (Petry et al., 2011).

Las lesiones intraepiteliales escamosas (SIL) se caracterizan microscópicamente por pérdida de maduración y/o maduración desordenada, aumento de la proliferación celular y atipia citológica. Según el grado de afectación se clasifican en (Bosch et al., 2008):

LSIL: caracterizado por la desorganización de las células de la capa basal/parabasal, el aumento de células inmaduras de tipo basaloide, atipia citológica y aumento de la actividad proliferativa en forma de mitosis. Estas alteraciones están limitadas al tercio inferior del epitelio. En las capas superiores se pueden observar acantosis con coilocitosis e hiper-paraqueratosis

La presencia de coilocitos con grandes núcleos bizarros, se suele asociar a infección por HPV de alto riesgo.

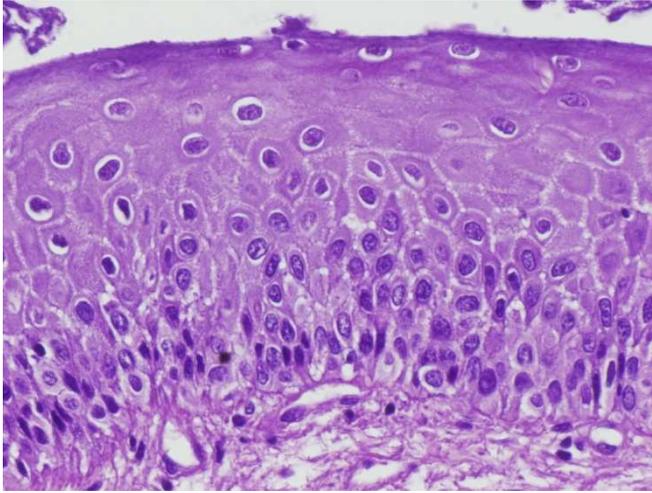


Figura 55: LSIL en biopsia de cérvix

HSIL: se caracteriza por la presencia de células inmaduras de aspecto basaloide, con alteración de la polaridad, anisonucleosis e hiperchromasia, que afecta a más del tercio inferior del epitelio. Se observan mitosis por encima del tercio inferior del epitelio cervical. También se pueden observar cambios colocíticos en las capas superficiales.

En la clasificación CIN (Neoplasia Cervical Intraepitelial) estos hallazgos se corresponden con CIN II si afecta a los 2/3 inferiores y CIN III si afecta a todo el espesor epitelial.

Es importante destacar en el informe anatomopatológico la presencia o no de afectación/extensión intraglandular.

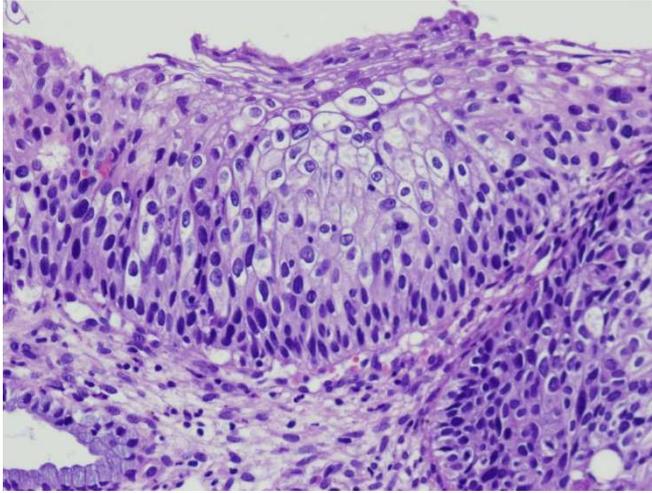


Figura 56: HSIL (CIN II) en biopsia de cérvix

En algunos casos se plantea diagnóstico diferencial con:

Atrofia: caracterizada por un epitelio adelgazado constituido por células inmaduras, pero sin pleomorfismo nuclear ni mitosis.

Metaplasia escamosa inmadura: se observa engrosamiento del epitelio, constituido por células inmaduras con preservación de la polaridad, y sin pleomorfismo ni mitosis

Metaplasia escamosa inmadura atípica: definida por la presencia de una población monomorfa de células inmaduras con preservación de la polaridad, con núcleos de cromatina fina, ocasional nucléolo y ausencia o baja actividad mitótica. Es una entidad rara y se suele observar en la proximidad de SIL.

Lesiones reactivas (cervicitis aguda y crónica): se caracterizan por un marcado infiltrado inflamatorio, agudo o crónico, con cambios reactivos a nivel epitelial con células uniformes, membrana nuclear sin irregularidades, cromatina fina y nucléolo prominente.

AIS: se caracteriza por la presencia de glándulas endocervicales con alteración arquitectural, con proyecciones papilares complejas y patrón cribiforme focal, revestidas por epitelio columnar atípico, con pseudoestratificación nuclear, siendo éstos elongados e hipercromáticos. La relación núcleo/citoplasma está aumentada y sólo se observa mínima cantidad de mucina intracitoplasmática. También se observan numerosas figuras de mitosis así como cuerpos apoptóticos.

En ocasiones se plantea diagnóstico diferencial con

cambios reactivos/reparativos secundarios a inflamación, infección viral, irradiación glándulas con reacción de Arias-Stella

hiperplasia microglandular

endometriosis

metaplasia tubárica

restos mesonéfricos

adenocarcinoma infiltrante

III.7.2.- Legrado endocervical

Es un procedimiento por el cual se extrae una muestra de tejido del endocérvix uterino, mediante microlegrado o mediante un cepillo endocervical para frotis citológico. Posteriormente ese tejido o muestra citológica se observa microscópicamente para valorar la presencia o no de signos de lesión preneoplásica o carcinoma.

Una de las causas más frecuentes de discrepancias diagnósticas entre citología y biopsia y de los falsos negativos en la colposcopia es la localización endocervical de las lesiones preneoplásicas.

III.7.3.- Conización

Es una técnica terapéutica y diagnóstica que consiste en la extirpación de una porción del cérvix uterino, en forma de cono. El tipo de exéresis depende de la topografía de la lesión y se debe adaptar a la edad de las pacientes y al tamaño de la lesión. En una mujer joven sería suficiente con la extirpación de un cono ancho y poco profundo, ya que la zona de transformación se suele encontrar en el exocérvix. En mujeres mayores debería de ser un cono más profundo ya que la zona de transformación se suele encontrar a lo largo del canal endocervical. (Puig-Tintore, 2011)

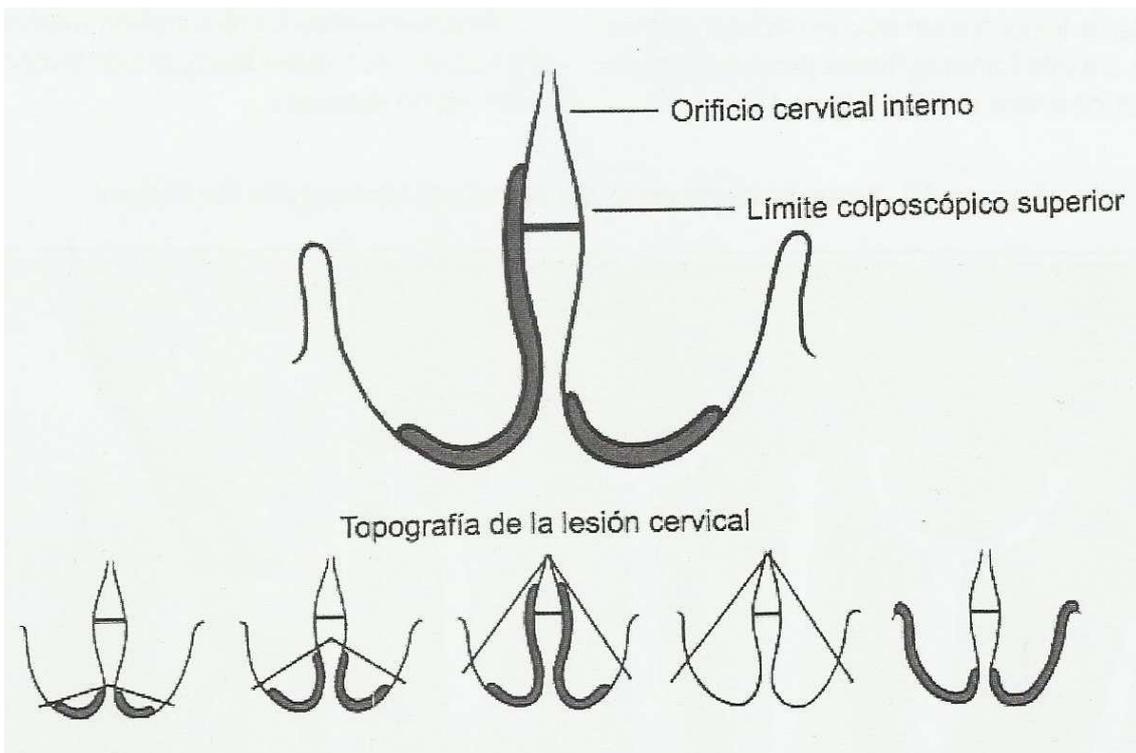


Figura 57: Topografía de la lesión preneoplásica. Tomado de Puig-Tintoré, 2011.

Indicaciones de la conización

Lesión no visible en su totalidad (colposcopia insatisfactoria)

Lesión endocervical

Discordancia de resultados entre la citología, colposcopia y biopsia

Sospecha de microinvasión

Lesiones glandulares: AIS

Recurrencia post-tratamiento

Lesiones de alto grado (HSIL)

Según el método utilizado se dividen en:

Conización con bisturí frío

Ha sido el tratamiento clásico de las lesiones preneoplásicas durante años, ya que permitía la conservación del cérvix. Hoy en día no se utiliza, al haber sido desplazada por otros tipos de conización. Su principal ventaja era la ausencia de artefactos térmicos en la pieza quirúrgica.

Conización con láser de CO₂

Se desarrolló posteriormente a la conización con bisturí frío y permite el tratamiento ambulatorio, la preservación de la capacidad reproductora y mínimas complicaciones postquirúrgicas así como un adecuado seguimiento.

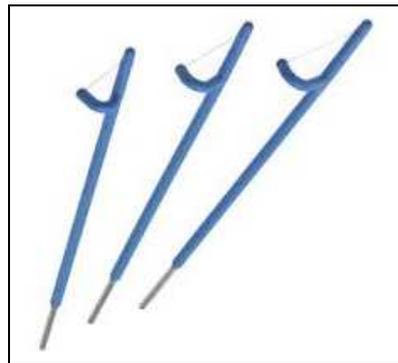
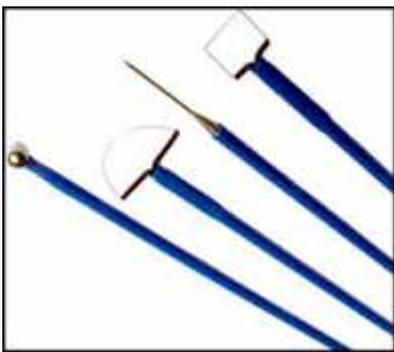
Las desventajas son: elevado coste del equipo utilizado, mayor dificultad técnica con mayor tiempo quirúrgico y la presencia de artefacto térmico en los bordes quirúrgicos.

Conización con asa diatérmica (LLETZ/LEEP)

Esta técnica fue introducida en 1984 por Cartier, y se utilizaba sólo con fines diagnósticos. Posteriormente Prenville en 1989 extendió su uso con fines terapéuticos, al incorporar asas de mayor tamaño que permitían la extirpación de la zona de transformación. (Puig-Tintoré, 1986 y 2011). Es una técnica más barata, rápida y de fácil aprendizaje. No suele ocasionar problemas durante el postoperatorio y permite la realización de un adecuado seguimiento.

Esta técnica consiste en la extirpación de toda la zona de transformación, incluyendo toda la lesión, mediante el uso de un asa de alambre conectada a un generador de alta frecuencia, que al realizar un suave movimiento rotatorio de 360° extirpa una pieza quirúrgica en forma de cono. La extirpación debería de ser practicada en un solo tiempo, para realizar el estudio histológico en un solo fragmento que evitará errores de interpretación, sobre todo en cuanto a la valoración de los bordes de escisión.

Diferentes tipos de asas de diatermia:



Figuras 58 y 59: Diferentes tipos de asas de diatermia. Tomado de drbenjamingloria.com

Los inconvenientes de esta técnica son: alto porcentaje de extirpaciones incompletas (en algunas series hasta del 44 % de los casos), extirpación en dos piezas (dificulta la interpretación microscópica de los márgenes) y un alto porcentaje de conos negativos (entre el 14-30 %) (Puig-Tintoré, 2011).



Figura 60: Pieza de conización abierta a las 6 horarias

III.8.- TRATAMIENTO DE LAS LESIONES PRECURSORAS

Podemos afirmar que no hay ninguna técnica conservadora que sea más efectiva que otra para el tratamiento de las lesiones preneoplásicas. La conducta terapéutica

depende del diagnóstico, con una evaluación conjunta de la citología, la colposcopia, la biopsia y el *test* HPV, además de la información clínica (Bosch, 2008).

El objetivo del tratamiento es la eliminación de la lesión preneoplásica, pero reuniendo además una serie de requisitos:

Baja morbilidad

Máxima conservación de la función reproductora

Baja incidencia de recidiva

Garantía de un seguimiento citológico y colposcópico adecuado

Relación coste-beneficio adecuada

Podemos clasificar los tratamientos en:

III.8.1.- Destructivos

Se basan en emplear un agente físico o químico que destruya el epitelio cervical anómalo, el cual posteriormente será reemplazado por epitelio escamoso normal. El tratamiento debe ser capaz de destruir hasta 6-8 mm en profundidad, para llegar a criptas glandulares profundas y así evitar la posibilidad de afectación de las mismas por la lesión (Guido et al., 2003).

El principal inconveniente de esta técnica radica en la imposibilidad de obtener material para estudio histológico, por lo que requiere la toma de una biopsia previa antes de la realización de un tratamiento destructivo, pudiendo así prever así la posibilidad de un carcinoma infiltrante.

Los requisitos para realizar este tratamiento son los siguientes:

- (a) Lesión completamente visible
- (b) No extensión al canal endocervical
- (c) No sospecha de carcinoma infiltrante o microinvasión

- (d) No sospecha de lesiones glandulares
- (e) Concordancia entre diagnóstico citológico e histológico
- (f) Garantía de seguimiento posterior

Se puede implementar un tratamiento destructivo por diferentes métodos: termocoagulación, electrocoagulación, criocoagulación, vaporización con láser de CO₂.

Este tratamiento se suele utilizar sólo en lesiones preneoplásicas de bajo grado, dado que el porcentaje de curación en lesiones de alto grado es muy bajo.

III.8.2.- Escisionales

Son tratamientos en los que se extirpa completamente la lesión, cuya pieza quirúrgica se deriva posteriormente para estudio anatómo-patológico para confirmar la presencia de lesión preneoplásica, descartar la posibilidad de un carcinoma infiltrante y además, confirmar la extirpación completa mediante el estudio de los bordes quirúrgicos.

Conización (Bosch et al., 2008)

Es la técnica más empleada, sobre todo la conización mediante asa de diatermia.

Se puede realizar una exéresis cónica (extirpación de la zona de transformación) o una doble escisión: exocérvix y endocérvix, en forma de sombrero de copa.

En las lesiones de alto grado (HSIL) tras el tratamiento escisional se debería realizar un legrado endocervical, ya que su positividad está asociada con evolución y recidiva de la lesión.

Una conización diagnóstica se considera terapéutica si cumple las siguientes condiciones:

pieza de tamaño adecuado al tamaño del cérvix
márgenes exocervical, endocervical y profundo libres de lesión
legrado endocervical negativo
colposcopia, citología y *test* HPV negativos a los 6 meses

Histerectomía

Este tratamiento no está indicado como primera vía de tratamiento, ya que presenta una elevada morbilidad además del riesgo de tratamiento insuficiente en caso de carcinoma infiltrante oculto.

Las posibles indicaciones son:

- (a) Imposibilidad técnica para la realización de conización por una mala visualización del cérvix, en casos de estenosis vaginal u obesidad mórbida
- (b) Conización con bordes afectos en mujeres que hayan cumplido su deseo genésico o en casos que no se pueda realizar un seguimiento posterior adecuado
- (c) Presencia de otra enfermedad asociada que requiera este tratamiento.

Los riesgos postratamiento son poco frecuentes, aunque hay que tenerlos en cuenta si se trata de pacientes jóvenes con deseo genésico, y son los siguientes:

A corto plazo: hemorragia e infecciones

A largo plazo: estenosis cervical e incompetencia cervical

En algunos estudios se ha observado en pacientes tratadas con asa de diatermia un riesgo de partos prematuros de alrededor del 11 %, de bajo peso al nacer en el 8 %

y de rotura prematura de membranas en el 5 % con respecto a mujeres no tratadas (Bosch et al., 2008).

Tratamiento sin biopsia previa “Ver y tratar” (Alameda et al., 2014)

Es una modalidad de tratamiento poco frecuente, ya que consiste en la realización de una conización en pacientes con citología informada como HSIL y cambios menores en la colposcopia, sin la realización previa de una biopsia para confirmar el diagnóstico de HSIL.

Se suele realizar en pacientes con un alto riesgo de pérdida de seguimiento tras el diagnóstico de HSIL.

El diagnóstico y tratamiento se realiza en una sola visita, para evitar la pérdida de seguimiento de la paciente.

El mayor inconveniente de esta modalidad terapéutica es el elevado porcentaje de conizaciones con resultado histológico negativo, incluso en más del 40 % de los casos según algunas series, lo que implica un sobre-tratamiento injustificado (Ferenczy et al., 1996).

III.9.- LESIÓN PRENEOPLÁSICA Y CÁNCER DE CÉRVIX EN EMBARAZO

El cáncer de cérvix es una de las neoplasias más frecuentemente diagnosticadas durante el embarazo, junto al de mama, enfermedad de Hodking, leucemia o melanoma. Este hecho se ve favorecido porque durante los dos primeros trimestres de la gestación se produce una disminución de la respuesta del sistema inmune frente al HPV, la cual se

recuperará rápidamente a principios del tercer trimestre e incluso se acentuará durante el postparto (Bosch et al., 2008).

La incidencia de cáncer de cérvix en mujeres embarazadas, según diferentes estudios, se ha estimado en 1-10 por cada 10.000 mujeres embarazadas, rango que depende de la inclusión o no de los casos de carcinoma *in situ* así como los casos de mujeres diagnosticadas en el período postparto (Nguyen et al., 2000; Palle et al., 2000 y Van Calsteren, 2005). La mitad de estos casos se suelen diagnosticar prenatalmente y el resto durante los 12 primeros meses postparto.

Se estima que alrededor del 3 % de los carcinomas de cérvix han sido diagnosticados durante el embarazo (Nguyen et al., 2000). Dado que el protocolo de seguimiento del embarazo incluye la inspección cérvico-vaginal, toma citológica y palpación local, se puede detectar precozmente la presencia de cáncer cervical.

Según diferentes estudios la incidencia de citología con alteraciones displásicas en las mujeres embarazadas se ha estimado en el 5-8%. Además se ha observado que las mujeres embarazadas tienen el doble o incluso el triple de probabilidad de ser diagnosticadas de cáncer de cérvix en estadio operable (Zemlickis et al., 1991).

Aparte de entrar en el protocolo de seguimiento del embarazo, también se observan ciertas ventajas fisiológicas normales con respecto a las mujeres no embarazadas: se puede visualizar mejor la zona de transformación durante el embarazo ya que se produce una eversión de la unión escamo-columnar. A pesar de estas ventajas también se observan inconvenientes, ya que se producen cambios fisiológicos en el epitelio glandular y en el estroma cervical debido a los altos niveles de estrógenos, que pueden llevar a producir errores diagnósticos.

Ante una citología positiva se debe seguir el mismo protocolo que en las mujeres no gestantes, por lo que se realizará una valoración colposcópica y una toma de biopsia si procede, ya que este procedimiento no produce efectos secundarios importantes y es muy útil para descartar la posibilidad de un carcinoma infiltrante.

Aunque el seguimiento de las pacientes embarazadas con lesión preneoplásica es similar al de la población general, su tratamiento tiene ciertas limitaciones, ya que la conización, independientemente del procedimiento empleado, se asocia a

complicaciones tanto para la madre como para el feto, además de presentar una alta tasa de lesiones residuales, que según algunos autores sería de hasta el 50 % de los casos (Palle et al., 2000), por lo que la conización únicamente estaría indicada durante la gestación en aquellos casos en los que es imposible confirmar o excluir la posibilidad de un carcinoma.

Si una paciente embarazada tiene una lesión preneoplásica diagnosticada mediante citología, colposcopia y biopsia de cérvix, se deberá revisar cada seis-ocho semanas mediante citología y colposcopia e incluso con toma de biopsia si se sospecha progresión a carcinoma mediante colposcopia. A las ocho semanas postparto se volverá a evaluar mediante citología, colposcopia y biopsia y se realizará tratamiento si procede.

Las lesiones diagnosticadas de HSIL tienen una alta tasa de regresión que varía según los estudios entre el 47-50 % de los casos durante los 6-12 meses postparto.

Dependiendo de una serie de factores, si se requiere realizar tratamiento quirúrgico durante el embarazo, éste se debería realizar durante el segundo trimestre (14-20 semanas de gestación). La técnica quirúrgica con menor tasa de complicaciones a largo plazo es la conización con asa de diatermia (Karam et al., 2014, Conner et al., 2013).

III.10.- HPV EN OTRAS LOCALIZACIONES

El virus HPV también ha sido relacionado con el desarrollo de neoplasias y lesiones preneoplásicas en otras localizaciones anatómicas, como hemos comentado previamente en esta revisión bibliográfica:

Área anogenital (sin incluir cérvix)

vulva

vagina

ano

pene

Cavidad oral

nasofaringe

orofaringe

hipofaringe

Piel: verrugas y condilomas acuminados

Respecto a otras localizaciones del área ano-genital, excluyendo el cérvix uterino, se observa un incremento de la prevalencia de casos de carcinoma epidermoide y lesiones intraepiteliales asociadas a infección por virus HPV.

En las siguientes tablas se exponen los rangos de prevalencia de *test* HPV positivo en los carcinomas y lesiones escamosas intraepiteliales de estas localizaciones, así como los genotipos virales más frecuentes, según la bibliografía revisada por el ICO (Institut Català d'Oncologia) Information Centre on HPV and Cancer (2015).

		Carcinoma	Neoplasia intraepitelial
VULVA	Test HPV +	0,0 % (Boncinini 2005, Italia) y 72,7 % (Koyamatsu 2003, Japón)	41,7% (Lerma 1999, España) y 100 % (Sanjosé 2013, Asia)
	Genotipo HPV + frec.	16 (19,4 %)	16 (67,1 %)
		33 (1,8 %)	33 (10,2 %)
		18 (1,5 %)	6 (2,4 %)
		45 (0,9 %)	11 (2,4 %)

VAGINA	Test HPV +	43,8 % (Koyamatsu 2003, Japón) y 90,7 % (Carter 2011, USA)	40,0 % (Tsimptaki 2012, Grecia) y 100 % (Frega 2007, Italia)
	Genotipo HPV + frec	16 (43,6 %) 31 (3,9 %) 18 (3,7 %) 33 (3,7 %)	16 (56,1 %) 18 (5,3 %) 52 (5,3 %) 73 (4,8 %)
ANO	Test HPV +	1,4 % (Lai 1998, China) y 100 % (Meyer 2013, USA)	AIN 50,0 % (Phanuphaak 2013, Tailandia) y 100 % (Hampl 2007, Alemania)
	Genotipo HPV + frec	16 (71,4 %) 18 (4,2 %) 33 (3,0 %) 6 (2,4 %)	16 (72,1 %) 6 (9,3 %) 11 (7,0 %) 18 (4,7 %)
PENE	Test HPV +	11,5 % (Yanagawa 2008, Japón) y 87,5 % (Lebelo 2014, Sudáfrica)	PeIN 76,7 % (Manuelier 2013, Austria) y 100 % López-Romero 2013, México)
	Genotipo HPV + frec	16 (65,4 %) 11 (39,5 %) 6 (5,0 %) 45 ()	16 (71,0 %) 18 (29,0 %) 6 (21,4 %) 11 (15,4 %)

Tabla 1: Porcentaje de test ADN-HPV positivo y genotipos más frecuentes en otras localizaciones del tracto ano-genital a nivel mundial según los datos obtenidos de ICO

En España, la incidencia cruda de casos de cáncer relacionado en estas localizaciones con HPV es la siguiente:

Cáncer de vulva:	1,6-4 %
Cáncer de vagina:	0,3-0,7 %
Cáncer de ano:	
	Mujer: 0,3-1,8 %
	Hombre: 0,4-1,9 %
Cáncer de pene:	1,2-2,8 %

Durante los últimos años se ha observado un incremento significativo del número de casos de cáncer de cabeza y cuello debido al incremento de casos de carcinoma de células escamosas relacionado con HPV (Moore et al., 2015). Según los últimos datos recogidos en algunos artículos, tres de cada cuatro nuevos carcinomas orofaríngeos diagnosticados son *test* ADN-HPV positivos (Mehanna et al., 2013; Chaturvedi et al., 2011).

En la siguiente tabla se refleja la incidencia de *test* DNA-HPV positivo en los carcinomas localizados en área ORL (ICO HPV Information Centre, 2015).

		Mujer	Hombre
Cavidad oral	<i>Test</i> HPV +	4,0 % (Herrero 2003, Cuba) y 60 % (Zhang 2004, China)	0,0 % (HerreRo 2003, Cuba) y 81,3 % (Zhang 2004, China)

Orofaringe	Test HPV +	39,0 % (Reimers 2007, Alemania) y 100 % (Kuo 2008, Taiwan)	14,35 % (Li 2007, China) y 82,1 % (Lohavanichbuth 2009, USA)
Hipofaringe	Test HPV +	0,0 % (Torrente 2005, Chile) y 60,0 % (Shidara 1994, Japón)	56,5% (Azzimonti 2004, Italia) y 79,0 % (Lie 1996, Noruega)

Tabla 2: Porcentaje de *test* ADN-HPV positivo y genotipos más frecuentes en área ORL por género a nivel mundial según los datos obtenidos de ICO

Sólo en algunos artículos se reflejan los genotipos más frecuentes (ICO HPV Information Centre, 2015), sin especificar el sexo de los casos a estudio, los cuales son:

Cavidad oral: HPV 16 (25,3-1,1 %), HPV 11 (3,6 %), HPV 18 (2,6-1 %), HPV 33 (2,4 %)

Orofaringe: HPV 16 (62,5-25 %)

Hipofaringe: HPV 16 (31,3-2,3 %), HPV 11 (3,1 %), HPV 18 (3,1 %), HPV 6 (3,1 %)

En España, según los datos que ofrece ICO HPV Information Centre, la incidencia cruda de cáncer de faringe relacionado con el virus HPV, excluyendo la nasofaringe, es de:

Mujer: 0,7 %
 Hombre: 5,9 %

También disponemos de información sobre la prevalencia del *test* ADN-HPV positivo y el virus más frecuente implicado en los carcinomas del área ORL, como se refleja en la siguiente tabla:

		Mujer	Hombre
Cavidad oral	Test HPV +	6,3 % (Herrero 2003) y 36,7 % (Llamas-Martínez 2007)	6,7 % (Herrero 2003) y 47,4 % (Llamas-Martínez 2007)
	Genotipo HPV + frec.	16 (6,3 %)	16 (5,7 %)
Orofaringe	Test HPV +	60,0 % (Herrero 2003)	6,0 % (Herrero 2003)
	Genotipo HPV + frec.	16	16

Tabla 3: Porcentaje de *test* ADN-HPV positivo y genotipo más frecuente en las lesiones de cavidad oral y orofaringe en mujeres y hombres de España según datos obtenidos de ICO

Para el carcinoma localizado en hipofaringe, Pérez-Ayala, en 1990, observó una prevalencia de positividad en los *test* ADN-HPV en el 25,7 % de los pacientes, sin especificar el sexo, mientras que Álvarez-Álvarez (1997), en las mismas condiciones,

hace referencia a una prevalencia de positividad del 56,9 %. Los genotipos HPV más frecuentes son:

HPV 16: 56,9 % (Pérez-Ayala, 1990) y 5,7 % (Álvarez-Álvarez, 1997)

HPV 6: 22,9 % (Álvarez-Álvarez, 1997)

III.11: VAIN

La neoplasia vaginal intraepitelial (VAIN) es muy rara, aunque como suele ser asintomática su incidencia real es difícil de conocer. Se estima una prevalencia entre el 1 y el 3 % de todas las neoplasias intraepiteliales, ya que el cribado cervico-vaginal ha facilitado también su detección.

Aunque se desconoce la historia natural de su génesis, parece indiscutible que el HPV está implicado en su desarrollo, ya que se ha encontrado ADN-HPV en aproximadamente el 94 % de los casos, según diferentes estudios (Puig-Tintoré et al., 2011). Tampoco es bien conocida su tasa de progresión a cáncer, aunque según la bibliografía se estima en el 9 % si no es tratada y entre el 2 y el 8 % si es tratada (Kagie, 1998; Puig-Tintoré et al., 2002, Boonlikit et al., 2010). El riesgo de cáncer oculto se estima en un 1 %.

Los factores de riesgo para el desarrollo de VAIN son los mismos que para las lesiones preneoplásicas de cérvix, siendo los más importantes la conducta sexual, el hábito tabáquico y la inmunodepresión.

En el 50 % de los casos, aproximadamente, se observan lesiones multifocales. La localización más frecuente es el tercio superior y posterior de la vagina. La valoración colposcópica de la vagina es muy dificultosa, incluso en algunas ocasiones se requiere el uso previo de estrógenos locales antes de realizar la exploración, sobre

todo en los casos de mujeres postmenopáusicas. Se requiere siempre la confirmación histológica mediante biopsia dirigida.

Se distinguen cuatro formas clínicas de presentación:

VAIN asociada a otra neoplasia intraepitelial del tracto genital inferior
formando parte de una enfermedad multicéntrica

VAIN en inmunodepresión

VAIN post-histerectomía

VAIN post-irradiación

La incidencia de VAIN asociado a otra lesión preneoplásica de otra localización según lo publicado, ocurriría en un 30-80 % de los casos, aunque sólo se ha observado, según las diferentes series publicadas, en el 1-3 % de los casos de neoplasia de cérvix. Esta asociación puede ser sincrónica (Meler et al., 2005)), descrita en el 29 % de los casos o metacrónica, incluso tras varias décadas (Boonlikit et al., 2010), por lo que se aconseja un seguimiento prolongado en las pacientes con lesión preneoplásica de cérvix.

IV: MATERIAL Y MÉTODOS

IV.1.- PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO

Se realiza un estudio observacional, descriptivo y metodológico según la última Declaración de Helsinki de la Asamblea Médica Mundial (AMM) en la 64ª Asamblea General en Fortaleza (Brasil) en octubre de 2013, que propone unos principios éticos para la investigación médica en los seres humanos incluyendo la investigación del material humano y la información identificable de los mismos. Este estudio fue autorizado por el Comité de Ética de Investigación Clínica del Complejo Asistencial de León.

IV.2.- POBLACIÓN DE ESTUDIO

Para el presente estudio se valoraron las características epidemiológicas, clínicas y patológicas de las pacientes con conización cervical atendidas en el Complejo Asistencial Universitario de León, en el periodo comprendido entre el 1 de enero de 1999 y el 31 de diciembre de 2009, según consta en la base de datos Patwin del Servicio de Anatomía Patológica del citado hospital.

Estas conizaciones fueron realizadas por personal del Servicio de Ginecología del mismo hospital como tratamiento de las lesiones displásicas o carcinoma de cérvix (carcinoma epidermoide y adenocarcinoma).

La población a estudio abarca la población femenina del Área de Salud de León, excluyendo la zona del Área de salud del Bierzo. Se han obtenido 451 casos de pacientes conizadas en ese periodo.

Todas las pacientes incluidas eran subsidiarias del cribado del cáncer de cérvix mediante citología convencional con posterior confirmación diagnóstica mediante el estudio histológico de la biopsia de cérvix en la mayoría de los casos. Posteriormente se realizó estudio molecular de la muestra citológica en el propio servicio de Anatomía

Patológica. El tratamiento y seguimiento clínico de las pacientes fue llevado a cabo por el personal médico de la Unidad de Patología Cervical del Servicio de Ginecología del mismo hospital.

IV.2.1- Criterios de inclusión

Se han incluido en el presente estudio los casos de pacientes con diagnóstico previo de HSIL o carcinoma a las que se les realizó conización cervical como tratamiento posterior. Al aplicar los criterios de inclusión, del total de los 451 casos obtenemos 315 pacientes que cumplen los requisitos.

El estudio de campo fue realizado entre el 1 de enero de 1999 y el 31 de diciembre de 2010, con un total de 11 años. Se recogieron los datos de seguimiento de los casos hasta el 31 de mayo de 2013.

IV.2.2.- Criterios de exclusión

Se han excluido los casos a los que no se les realizó un seguimiento clínico por la Unidad de Patología Cervical durante el año posterior al tratamiento quirúrgico con al menos 2 consultas ginecológicas posteriores de revisión. En estas consultas se recogió material para estudio citológico y para determinación de *test* ADN-HPV si procede.

Al excluir los casos que no han cumplido los requisitos obtuvimos una muestra de 315 casos.

IV.3.- PROTOCOLO DE ESTUDIO

De las 451 pacientes conizadas durante ese periodo en el Complejo Universitario del Hospital de León, tras aplicar los criterios de inclusión y de exclusión obtuvimos un total de 315 casos.

Una vez seleccionados los casos se procedió a la realización de una tabla de recogida de datos mediante revisión de la historia clínica y del programa Patwin del Servicio de Anatomía Patológica del propio hospital.

El inicio del procedimiento comienza cuando una paciente obtiene un resultado de HSIL o carcinoma en el cribado de cáncer de cérvix (según la clasificación de Bethesda modificada 1) mediante citología convencional (triple toma) valorada mediante tinción de Papanicolau y con ThinPrep a partir de 2001.

Estas pacientes fueron derivadas posteriormente a la consulta de Patología Cervical del Servicio de Obstetricia y Ginecología del propio hospital, donde se les realizó una historia personal, anamnesis, *test* ADN-HPV y estudio colposcópico posterior. También se realizó en determinados casos *test* para detección del ADN viral, para lo cual el ginecólogo recogió una muestra con una torunda seca aplicada a la unión escamo-columnar del cérvix. Este estudio molecular se realizó en el propio servicio de Anatomía Patológica mediante PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), hasta el 2005 con placas de electroforesis y después mediante arrays de baja densidad utilizando el sistema de detección con CLART® HPV2 (Genómica). La extracción del ADN se realizó de forma automática y se utilizó como molde para la detección del ADN viral mediante amplificación del genoma. Este sistema se basa en la precipitación de un producto insoluble en las zonas en las que se produce la hibridación de los productos amplificados con las sondas específicas. Los productos amplificados se marcaron previamente con biotina.

No sólo se determinó la positividad o negatividad del mismo, sino también el genotipo viral que permita su inclusión en grupos de AR y BR para producir cáncer de cérvix además de la identificación del genoma viral:

Grupo de alto riesgo (AR): 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70,73, 82 y 85.

Grupo de bajo riesgo: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 62, 71, 72, 81, 83, 84 y 89.

Dependiendo de los hallazgos colposcópicos observados se realizó una toma de biopsia de la lesión cervical si procedía, así como una nueva citología para la confirmación de los resultados citológicos previos.

Si persiste el diagnóstico de HSIL o carcinoma en el estudio histológico de la biopsia cervical se deriva a las pacientes para tratamiento quirúrgico mediante conización cervical con asa de diatermia bajo anestesia loco-regional y ocasional legrado endocervical si procede, realizado por el personal médico del Servicio de Obstetricia y Ginecología del mismo hospital.

Las muestras tisulares obtenidas se procesaron de forma convencional, mediante fijación en formol al 4 %. Las piezas de conización y reconización, en la mayor parte de los casos, fueron marcadas con un hilo de sutura o grapa a las 12h y/o 6h para permitir su orientación y posteriormente fueron remitidas al servicio de Anatomía Patológica del mismo hospital, donde fueron talladas mediante cortes seriados tras marcaje con tinta china de los márgenes de resección y orientación del labio posterior con un corte horizontal. Se obtuvieron diferentes cortes de 3-4 mm. de cada labio, con un total de 12-15 cortes por cada cono cervical remitido. Posteriormente cada bloque tisular fue procesado y cortado según el protocolo del laboratorio de histología y teñido con hematoxilina-eosina (HE). Estas preparaciones fueron estudiadas, en la mayor parte de los casos, por el patólogo a cargo del área de Ginecopatología.

IV.4.- VARIABLES DEL ESTUDIO

Las variables sometidas a estudio fueron recogidas de las historias clínicas de las pacientes y de los informes anatomopatológicos de las muestras remitidas al servicio de Anatomía Patológica recogidos en el programa Patwin del propio servicio.

Según la naturaleza de la variable y su posible relación con el diagnóstico en la pieza de conización (lesión histológica), se pueden clasificar en los siguientes grupos:

VARIABLES DEMOGRÁFICAS: edad

VARIABLES RELACIONADAS CON LOS COFACTORES IMPLICADOS EN EL DESARROLLO DE LESIÓN PRENEOPLÁSICA Y CÁNCER CERVICAL: antecedentes obstétricos (número de gestaciones, abortos y partos), hábito tabáquico, estado inmunitario, uso de anticoncepción hormonal, cribado cérvico-vaginal previo (Nº de citologías previas al primer resultado positivo para lesión escamosa intraepitelial (SIL)

VARIABLES DIAGNÓSTICAS: citología, *test* ADN-HPV y genotipado, resultados colposcópicos, histológicos (biopsia de cérvix, pieza de conización, reconización e histerectomía)

Las variables sometidas a estudio han sido las siguientes:

EDAD: reflejada en la historia clínica en el momento del diagnóstico histológico de la lesión cervical, expresada en años

ANTECEDENTES OBSTÉTRICOS: número de gestaciones, abortos y partos a término.

HÁBITO TABÁQUICO: según los datos obtenidos en la historia clínica.

USO DE ANTICONCEPCIÓN HORMONAL (ACO): en este apartado se han incluido los anticonceptivos orales, parche y anillo vaginal. En la historia clínica no se especificaba el tiempo de uso.

ESTADO INMUNITARIO: en este apartado se han incluido diferentes procesos que pueden afectar al estado inmunitario, como pueden ser:

Infección por HIV

Pacientes transplantados en tratamiento inmunosupresor

Enfermedades autoinmunes en tratamiento inmunosupresor o corticoideo

Pacientes con neoplasias de otra localización y tratamiento quimioterápico que afecte al estado inmunitario

CRIBADO CÉRVICO-VAGINAL PREVIO: nº de citologías previas realizadas antes de la primera citología con resultado anómalo

1^{era} CITOLOGÍA ANÓMALA: fecha y resultado

TEST ADN-HPV:

Resultado: positivo o negativo

Genotipado de alto o bajo riesgo (HPV-AR o HPV-BR)

Patrón de infección:

Infección simple o monogenómica: cuando sólo se identifica infección por un único genotipo viral

Infección múltiple o mutigenómica: cuando se observa infección por más de un genotipo viral.

Genotipo

HALLAZGOS COLPOSCÓPICOS: ante todo se evaluó si la colposcopia era satisfactoria o no (en función de la visibilidad o no de la zona de transformación de la unión escamo-columnar). Si la colposcopia era satisfactoria se estudió la zona de transformación siguiendo la clasificación de Barcelona del 2002, dividiendo los cambios observados en mayores o menores

BIOPSIA DIRIGIDA DE CÉRVIX MEDIANTE COLPOSCOPIA: diagnóstico histológico y determinación de ADN-HPV, si procede

DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO DEFINITIVO EN LA PIEZA DE CONIZACIÓN: fecha de realización, diagnóstico histológico, tamaño de la lesión, localización, estado de los bordes quirúrgicos, si afectación de bordes especificación de la localización y determinación de HPV.

En el diagnóstico histológico se ha seguido en la mayor parte de los casos la clasificación en 3 grados, aunque para este estudio hemos seguido la recomendación LAST:

CIN 1 (DISPLASIA LEVE): lesión displásica limitada al tercio basal del epitelio

CIN 2 (DISPLASIA MODERADA): lesión limitada a los dos tercios inferiores del espesor epitelial

CIN 3 (DISPLASIA SEVERA-CARCINOMA *IN SITU*): lesión que ocupa todo el espesor epitelial

Clasificación LAST:

L-SIL (NEOPLASIA INTRAEPITELIAL DE BAJO GRADO): lesión displásica limitada a los dos tercios del grosor del epitelio

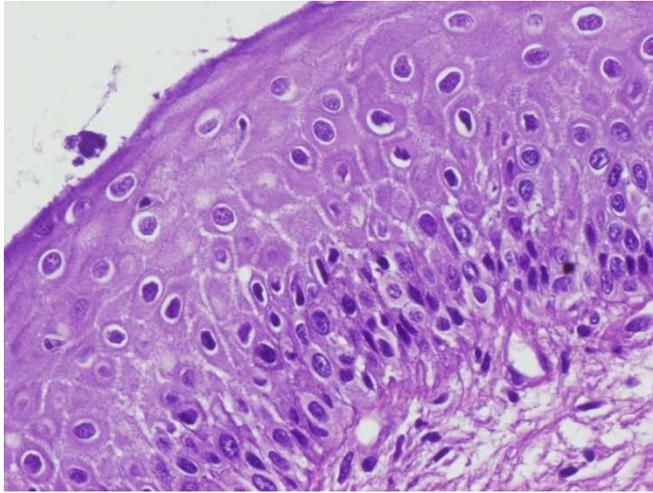


Figura 61: LSIL en biopsia de cérvix

H-SIL (NEOPLASIA INTRAEPITELIAL DE ALTO GRADO): lesión displásica que ocupa todo el espesor epitelial.

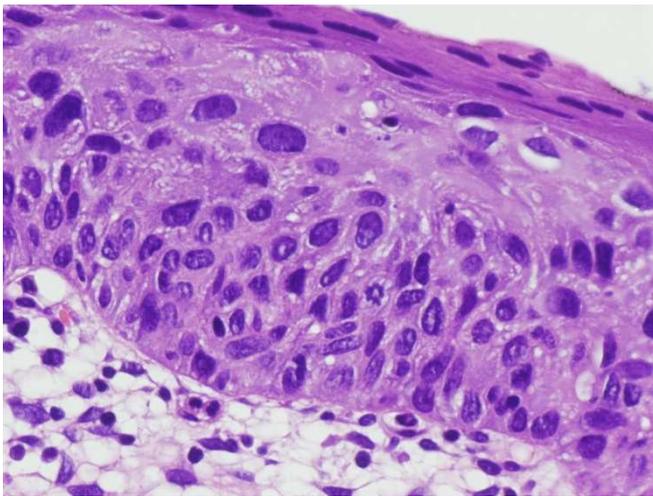


Figura 62: HSIL en biopsia de cérvix

Si se observa infiltración estromal: **Carcinoma epidermoide**

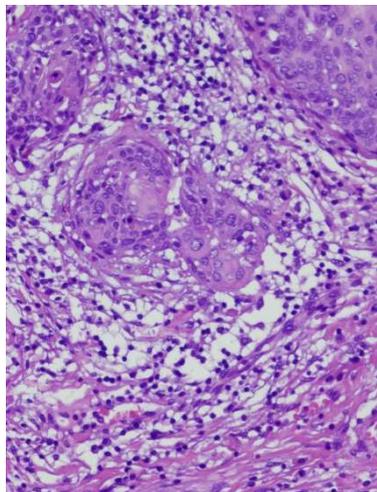


Figura 63: Carcinoma epidermoide en pieza de conización con infiltración estromal

Respecto al estudio de los bordes quirúrgicos de escisión, se diferencian entre artefactados (imposibilidad de especificar si están o no afectados), afectados y no afectados. Dentro de los casos afectados también se ha reflejado la localización del borde afecto si estaba referenciada en el informe histológico (labio anterior, labio posterior, exocérvix, endocérvix y ambos)

SEGUIMIENTO POSTCONIZACIÓN: citología a los 6, 12, 24 meses y *test* ADN-VPH a los 6, 12 y 24 meses.

ENFERMEDAD RESIDUAL Y RECIDIVA DIAGNOSTICADAS

HISTOLÓGICAMENTE, según la definición de la SEGO 2014:

Enfermedad residual o lesión persistente: es aquella “lesión incompletamente resecada o tratada que se detecta en los controles durante el primer año de seguimiento”

Recidiva o lesión recurrente: es aquella “lesión que se diagnostica en el seguimiento posterior al año”.

En estos casos, se ha realizado un TRATAMIENTO COMPLEMENTARIO y en el presente estudio se han valorado diferentes variables como son: diagnóstico histológico y factores relacionados con riesgo de enfermedad residual y recidiva (edad, hábito tabáquico, inmunodepresión, tamaño de la lesión, estado de los bordes quirúrgicos en la pieza de conización, citología y *test* ADN-HPV a los 6 y a los 12 meses)

Pieza de reconización

Pieza de histerectomía

Ambos tratamientos

CASOS ESPECIALES: estudio de todas las variables antes mencionadas en:

Pacientes embarazadas

Paciente con HSIL previo y desarrollo posterior de otra neoplasia intraepitelial en tracto anogenital (vagina)

IV.5.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Para la valoración estadística de los resultados obtenidos hemos utilizado pruebas estadísticas descriptivas y analíticas o inferenciales para lo cual hemos empleado el programa estadístico SPSS, edición 23.0 para Windows.

IV.5.1.- Estadística descriptiva

Para obtener una valoración global de nuestra serie de casos hemos realizado en primer lugar un análisis descriptivo del total de las variables, procediendo de la siguiente manera:

Variables cualitativas: cálculo de tablas de frecuencia con frecuencias absolutas y porcentajes

Variables cuantitativas: en este caso se han determinado los estadísticos de tendencia central y dispersión habituales.

IV.5.2.- Estadística analítica o inferencial

Para contrastar las posibles asociaciones entre dos o más variables y la intensidad de esa asociación hemos utilizado los siguientes criterios, asumiendo que nuestra serie sigue una distribución normal dado el nº de casos (N=315):

Análisis comparativo de una variable numérica entre dos grupos independientes que siguen una distribución normal, se ha utilizado el *test* de t-Student. En todos los casos se ha contemplado la homocedasticidad (igualdad de varianzas)

Análisis comparativo de más de dos grupos de una variable cuantitativa, se ha utilizado el Análisis de la Varianza (ANOVA).

Análisis comparativo entre variables cualitativas, se han utilizado tablas de

contingencia para su descripción y el *test* de Chi-cuadrado como *test* de independencia/homogeneidad y cuando no se han cumplido las condiciones necesarias para utilizar este *test* se utilizó el *test* exacto de Fisher.

En todos los casos se ha considerado que existía diferencia significativa cuando el nivel de significación obtenido era inferior al 5 % ($p < 0,05$).

V.-RESULTADOS

V.1.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS EPIDEMIOLÓGICOS: Edad

Análisis descriptivo

La edad media de las pacientes incluidas en el estudio fue de 36,8 años con un rango entre 20 y 77 años.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Edad (años)	315	20	77	36,8	9,1

Tabla 4: Descripción de la variable edad

Posteriormente se ha realizado una estratificación de la edad por grupos para un mejor manejo estadístico en los siguientes grupos:

- 20-30 años
- 31-40 años
- 41-50 años
- ≥ 50 años

Al realizar el análisis descriptivo según estos rangos, hemos obteniendo la siguiente tabla de frecuencias:

Rango edad (años)			
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
20-30	84	26,7	26,7
31-40	127	40,3	67,0
41-50	85	27,0	94,0
> 50	19	6,0	100
Total	315	100	

Tabla 5: Distribución por grupos de edad

En la muestra estudiada se ha observado que el grupo de edad más frecuente es el de pacientes con un rango de edad entre 31 y 40 años, así como 2 picos de frecuencia de similar magnitud entre los rangos de edad de 20 a 30 años y de 41 a 50 años, con un 26,7 % y 27,0 %, respectivamente. Asimismo destaca una disminución de casos en mujeres mayores de 50 años, con sólo un 6,0 % de frecuencia. El 94,0 % de los casos se situó entre los 20 y los 50 años de edad.

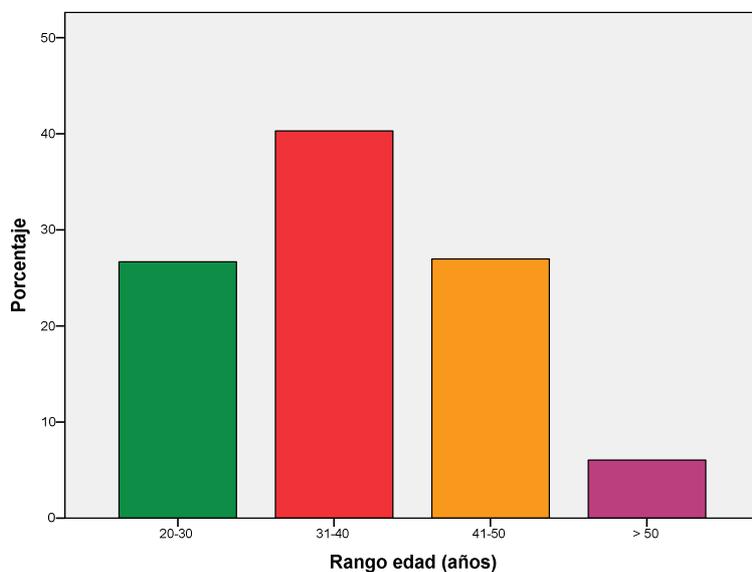


Figura 64: Distribución por grupos de edad

Diagnóstico histológico en la pieza de conización y edad

Al analizar los valores medios de la edad de las pacientes de la muestra para cada una de las categorías diagnósticas en la pieza de conización, se obtiene la siguiente tabla:

Edad (años)					
Diagnóstico cono	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar	N
Normal	21	49	36,9	10,2	7
LSIL	22	52	35,2	7,4	44
HSIL	20	77	36,7	9,3	250
Carcinoma epidermoide	30	65	44,0	9,4	12
Adenocarcinoma	36	55	45,5	13,4	2
Total	20	77	36,8	9,2	315

Tabla 6: Descripción de la variable edad por categoría diagnóstica en la pieza de conización

Según los resultados obtenidos se observa una tendencia, estadísticamente significativa ($F= 2,71$; $p= 0,03$), de aumento de la edad media de las pacientes a medida que aumenta el grado de lesión displásica, aunque sólo ha sido de 1,5 años entre LSIL y HSIL, y con una diferencia acusada entre HSIL y carcinoma epidermoide, de 7,3 años, que ha sido más acusada si cabe entre HSIL y adenocarcinoma, con 8,8 años. Respecto a la diferencia de medias de edad entre LSIL y carcinoma epidermoide/adenocarcinoma se ha observado mayor incremento, con 8,8 y 10,3 años respectivamente. En los casos de adenocarcinoma la media de edad fue de 45,5 años.

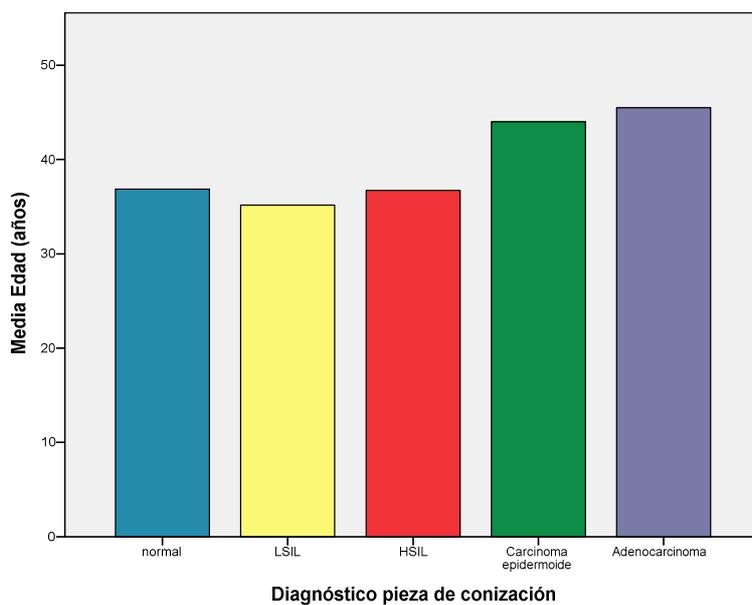


Figura 65: Media de edad en función del diagnóstico histológico en la pieza de conización

V.2.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS COFACTORES

Según los diferentes estudios científicos realizados relacionados con los cambios displásicos y el carcinoma de cérvix uterino, se han descrito diferentes factores de riesgo que actuarían como cofactores o factores de riesgo relacionados con el grado histológico y carcinoma, los cuales podrían estar implicados en la:

Adquisición del virus

Carcinogénesis cervical

Al realizar la recogida de datos se ha observado la ausencia de datos relacionados con la adquisición del virus en la mayor parte de las historias clínicas, como son la edad de inicio de las relaciones sexuales y el número de parejas, motivo por el que no se han reflejado en este estudio.

V.2.1.- COFACTORES DE ADQUISICIÓN DE LA INFECCIÓN POR HPV: ANTECEDENTES OBSTÉTRICOS

Análisis descriptivo

V.2.1.A.- Gravidéz

En nuestra muestra se ha observado un total de 678 gestaciones, con una media de gestaciones por paciente de 2,1 y un rango entre 0 y 8 gestaciones. En la siguiente tabla se muestra la frecuencia y porcentaje respecto al número de gestaciones.

Nº de gestaciones		
	Frecuencia	Porcentaje
0	84	26,7
1	56	17,8
2	76	24,1
3	41	13,0
4	22	7,0
5	9	2,9
7	2	0,6
8	25	7,9
N	315	100

Tabla 7: Distribución de frecuencias por nº de gestaciones

La representación gráfica es la siguiente:

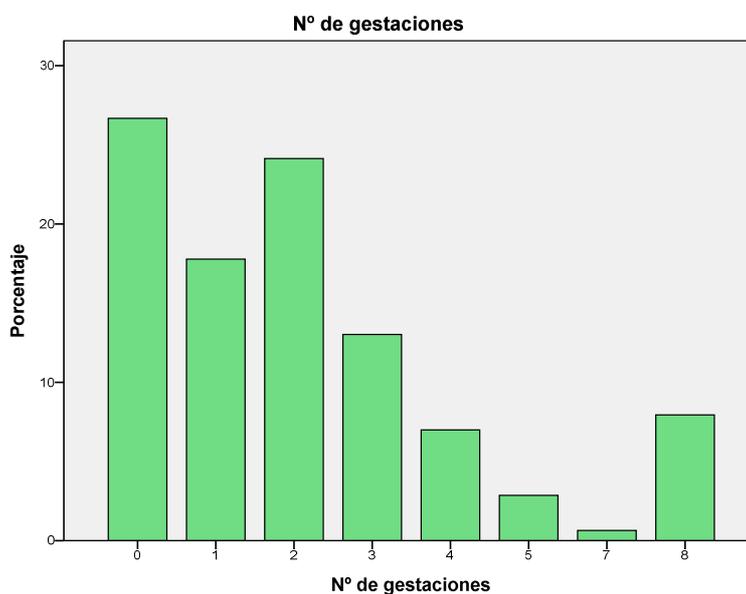


Figura 66: Distribución del nº de gestaciones

Diagnóstico histológico en la pieza de conización y gravidez

Se ha realizado el análisis de la relación entre el número medio de gestaciones y el diagnóstico histológico en la pieza de conización, y hemos observado aumento del número medio de gestaciones a medida que lo hace el grado histológico, como se demuestra en la siguiente tabla. Se ha observado una relación no significativa entre estas dos variables, con un valor del estadístico $F= 1,88$ y una $p = 0,11$.

Diagnóstico cono	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar	N
Normal	0	4	1,7	1,5	7
LSIL	0	8	1,7	2,1	44
HSIL	0	8	2,2	2,2	250
Carcinoma epidermoide	1	8	3,6	2,3	12
Adenocarcinoma	1	1	1,0	0,0	2
Total	0	8	2,2	2,2	315

Tabla 8: Descripción de la variable gravidez por categoría diagnóstica en la pieza de conización

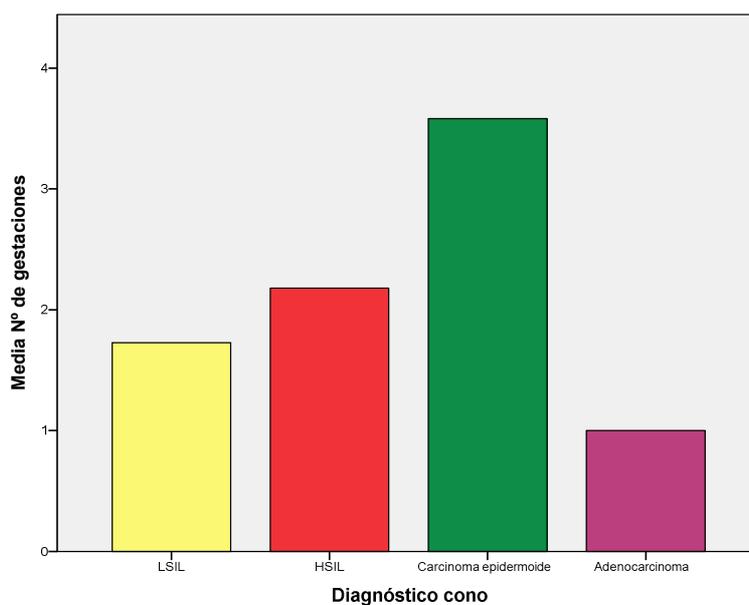


Figura 67: Número medio de gestaciones por categoría diagnóstica

V.2.1.B.- Aborto

Con respecto al número de abortos, en la muestra estudiada hemos obtenido un total de 303, con una media por paciente de 0,9. El rango ha oscilado entre 0 y 8 abortos.

En la siguiente tabla se muestra la frecuencia y el porcentaje obtenido por cada número de abortos.

Nº de abortos		
	Frecuencia	Porcentaje
0	211	67
1	59	18,7
2	16	5,1
3	4	1,3
8	25	7,9
N	315	100

Tabla 9: Distribución de frecuencias del nº de abortos

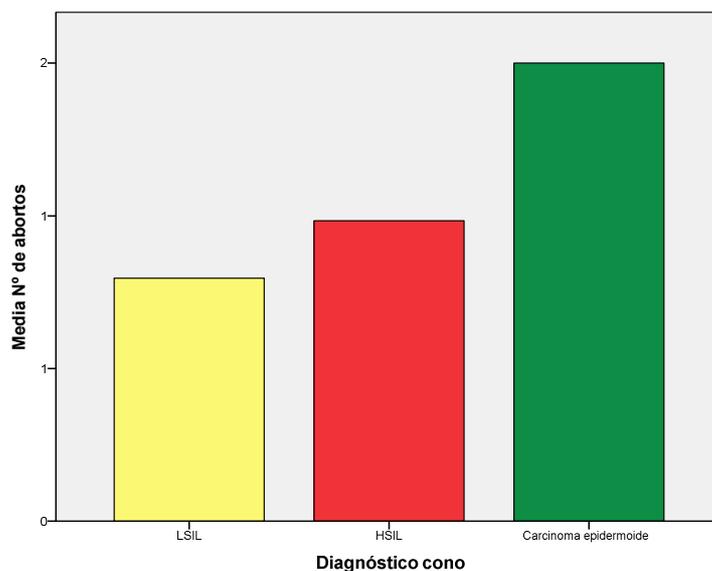


Figura 68: Distribución del nº de abortos

Diagnóstico histológico en la pieza de conización y abortos

Al estudiar la relación entre el número medio de abortos y el diagnóstico histológico en la pieza de conización no se observa una relación estadísticamente significativa ($F= 0,4$; $p= 0,8$), aunque sí destaca el aumento del número de abortos a medida que lo hace el grado de lesión, con una media de 0,8 en pacientes con LSIL y 1,5 en los casos de carcinoma epidermoide.

Diagnóstico cono	Media	Mínimo	Máximo	Desviación estándar	N
Normal	0,6	0	2	0,8	7
LSIL	0,8	0	8	2,0	44
HSIL	1,0	0	8	2,2	250
Carcinoma epidermoide	1,5	0	8	3,1	12

Tabla 10: Descripción de la variable abortos por categoría diagnóstica en la pieza de conización

La representación gráfica es la siguiente:

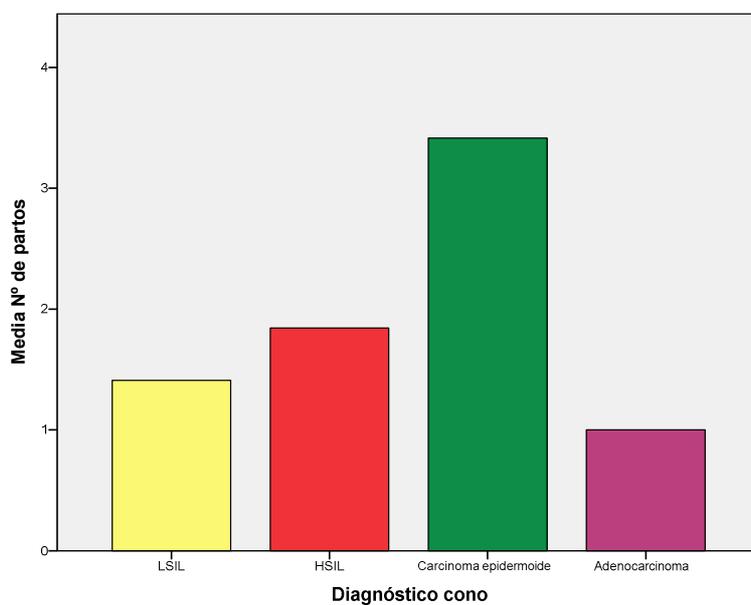


Figura 69: Nº medio de abortos por categoría diagnóstica

V.2.1.C.- Partos (paridad)

Respecto al número de partos hemos obtenido un total de 574 partos. El número medio de partos por paciente ha sido de 1,8 con un rango que oscilaba entre 0 y 8.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Nº de partos	315	0	8	1,8	2,2

Tabla 11: Descripción de la variable parto

En la siguiente tabla y gráfico se detallan las frecuencias según el número de partos:

Nº de partos		
	Frecuencia	Porcentaje
0	100	31,7
1	65	20,6
2	82	26,0
3	32	10,2
4	8	2,5
5	2	0,6
7	1	0,3
8	25	7,9
Total	315	100

Tabla 12: Distribución de frecuencias del número de partos

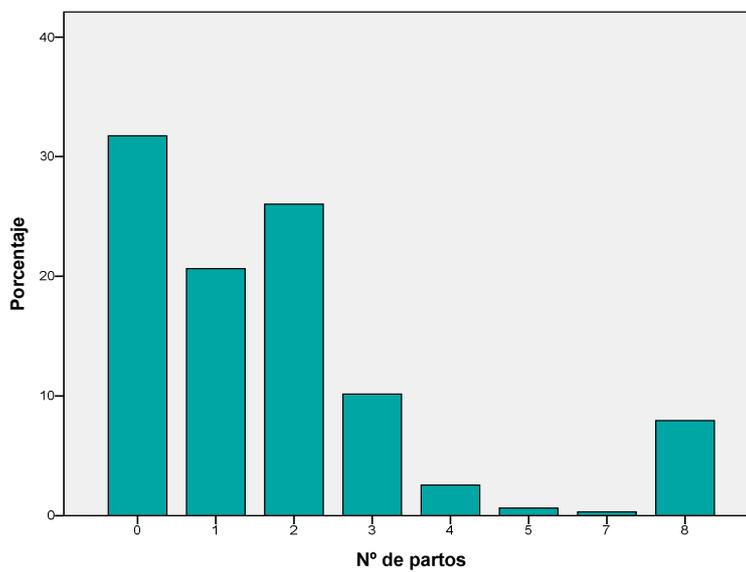


Figura 70: Distribución del nº de parto

Diagnóstico histológico en la pieza de conización y paridad

Al estudiar la relación entre el número de partos y el diagnóstico histológico en la pieza de conización hemos observado una relación estadísticamente significativa ($F=2,33$; $p=0,04$). Se observa un ligero incremento en el número de medio partos entre LSIL y HSIL, con 1,4 y 1,8 respectivamente. El incremento ha aumentado a más del doble entre LSIL y carcinoma epidermoide, con 1,4 y 3,4 respectivamente.

Diagnóstico cono	Media	Mínimo	Máximo	Desviación estándar	N
Normal	1,1	0	3	1,2	7
LSIL	1,4	0	8	2,0	44
HSIL	1,8	0	8	2,2	250
Carcinoma epidermoide	3,4	1	8	2,4	12
Adenocarcinoma	1,0	1	1	0,0	2
Total	1,8	0	8	2,2	315

Tabla 13: Descripción de la variable partos por categoría diagnóstica en la pieza de conización

La representación gráfica muestra las diferencias entre los grados de lesión con respecto al número medio de partos.

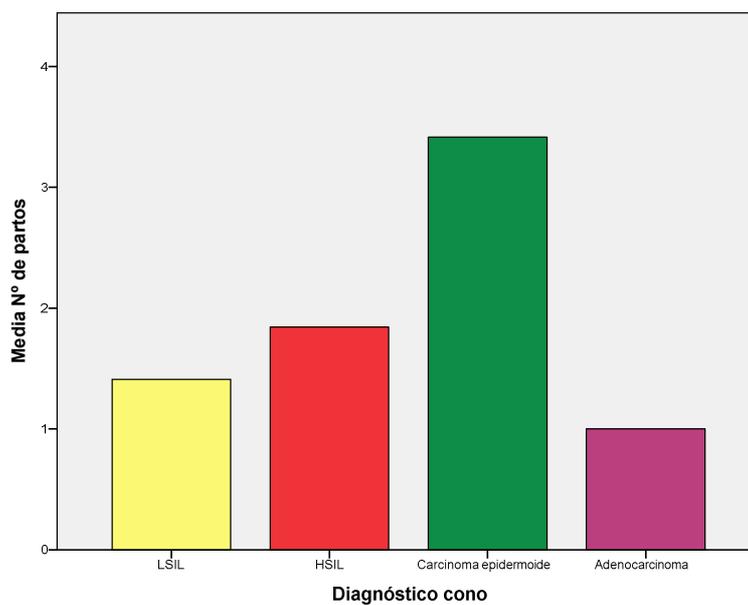


Figura 71: N° medio de partos por categoría diagnóstica

En el siguiente gráfico se representa el número medio de gestaciones, abortos y partos por cada categoría diagnóstica.

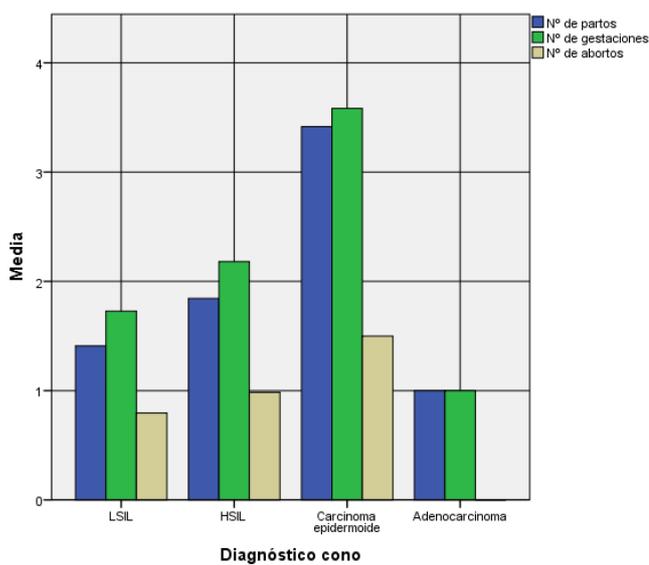


Figura 72: N° medio de gestaciones, abortos y partos por categoría diagnóstica

V.2.2.- COFACTORES IMPLICADOS EN LA CARCINOGENÉESIS

V.2.2.A.- Hábito tabáquico

Análisis descriptivo

El hábito tabáquico estaba presente en el 41 % de las pacientes de nuestro estudio, aunque no disponíamos de datos sobre este hábito en la historia clínica del 33 % de los casos.

Hábito tabáquico		
	Frecuencia	Porcentaje
no fumador	82	26,0
fumador	129	41,0
sin datos	104	33,0
Total	315	100

Tabla 14: Distribución de frecuencias del hábito tabáquico

Representación gráfica del hábito tabáquico:

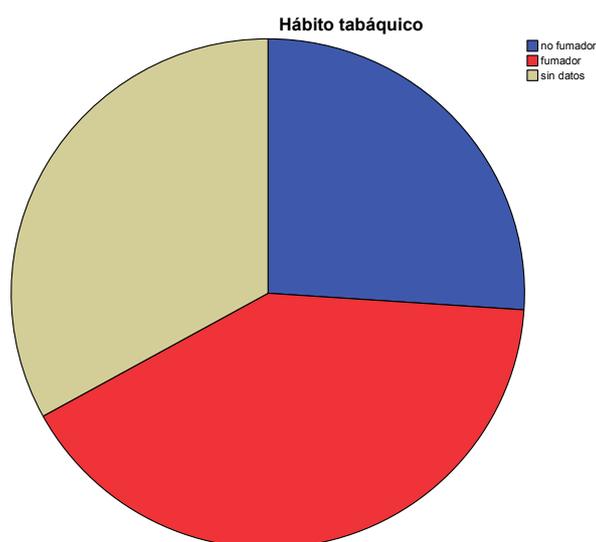


Figura 73: Distribución del hábito tabáquico

Diagnóstico histológico en la pieza de conización y hábito tabáquico

Al relacionar el hábito tabáquico con el grado de lesión displásica y carcinoma no se ha observado relación significativa entre ambas variables ($\chi^2 = 0,76$; $p = 0,69$). En la categoría diagnóstica LSIL más del 50,0 % eran fumadoras, con un porcentaje del 58,3 %. En los casos de HSIL y carcinoma epidermoide se ha observado que el porcentaje de mujeres fumadoras era de aproximadamente el doble y el triple, respectivamente, que de mujeres no fumadoras, como se refleja en la siguiente tabla.

Diagnóstico cono		Hábito tabáquico		Total
		No	Si	
LSIL	N	15	21	36
	%	41,7%	58,3%	100%
HSIL	N	63	99	162
	%	38,9%	61,1%	100%
Carcinoma epidermoide	N	2	6	8
	%	25,0%	75,0%	100%
Total	N	80	126	206
	%	38,8%	61,2%	100%

Tabla 15: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre la categoría diagnóstica y el consumo de tabaco

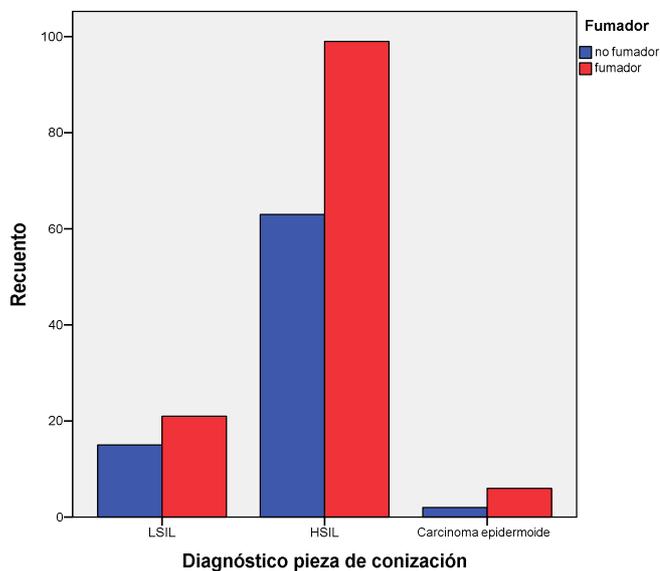


Figura 74: Hábito tabáquico (recuento) por categoría diagnóstica

V.2.2.B.-Anticoncepción hormonal (ACO)

Análisis descriptivo

Se ha revisado en la historia clínica de cada paciente el uso o no de anticonceptivos hormonales (ACO) previos a la lesión preneoplásica, mostrando que el 58,1 % de los casos tomaban o habían tomado previamente ACO frente al 41,9 % que no los tomaban.

ACO		
	Frecuencia	Porcentaje
no ACO	132	41,9
ACO	183	58,1
Total	315	100

Tabla 16: Distribución de frecuencias del uso de anticonceptivos hormonales (ACO)

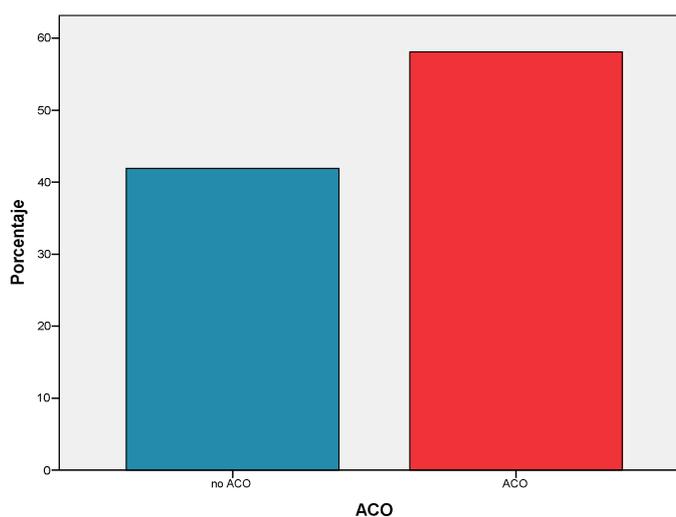


Figura 75: Distribución del uso de ACO

Diagnóstico histológico en la pieza de conización y uso de ACO

Al estudiar la relación entre la lesión histológica en la pieza de conización y el uso de anticonceptivos no se ha observado una relación estadísticamente significativa ($\chi^2 = 0,73$; $p=0,99$).

Diagnóstico cono		ACO		Total
		No	Sí	
LSIL	Nº	18	26	44
	%	40,9%	59,1%	100%
HSIL	Nº	105	145	250
	%	42,0%	58,0%	100%
Carcinoma epidermoide	Nº	5	7	12
	%	41,7%	58,3%	100%
Adenocarcinoma	Nº	1	1	2
	%	50,0%	50,0%	100%
Total	Nº	129	179	308
	%	41,9%	58,1%	100%

Tabla 17: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre la categoría diagnóstica y el uso de ACO

En todos los casos diagnosticados de lesión displásica (LSIL y HSIL) y carcinoma epidermoide se observa mayor porcentaje de uso de ACO, con un rango que ha oscilado entre el 58,0 y el 59,0 % respectivamente. En los casos de adenocarcinoma el porcentaje ha sido del 50,0 %.

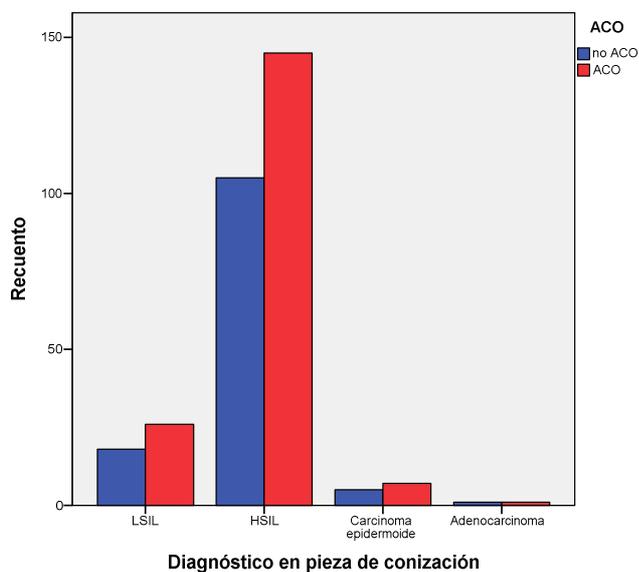


Figura 76: Uso de ACO por categoría diagnóstica.

V.2.2.C.- Inmunidad

Análisis descriptivo

En el 95,2 % de los casos no se han descrito alteraciones en el estado inmunitario, y sólo en el 4,8 % existía algún problema inmunológico asociado.

Alteración del sistema inmune		
	Frecuencia	Porcentaje
no	300	95,2
si	15	4,8
Total	315	100

Tabla 18: Distribución de frecuencias del estado inmunitario

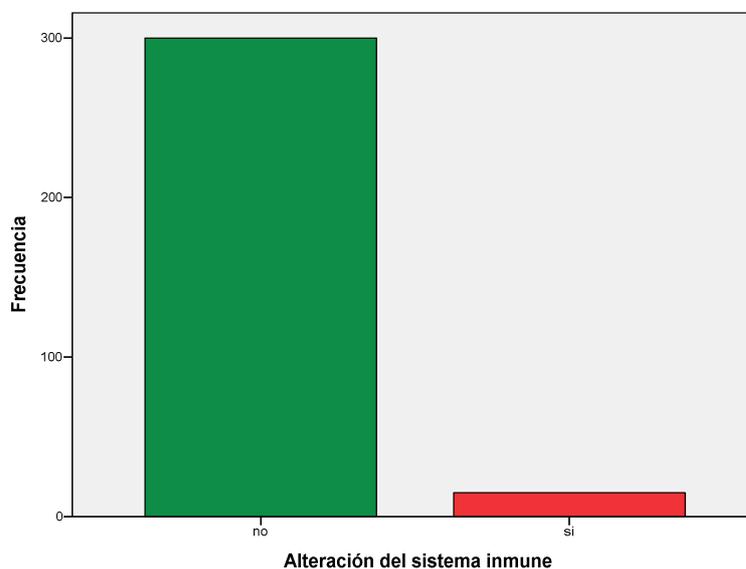


Figura 77: Distribución del estado inmunitario

En los casos que presentaban alteración del estado inmunitario observamos que:

- en el 40,0 % (6 casos) existía infección por HIV
- en el 46,7 % (7 casos) existía otra neoplasia previa o concomitante: 2 linfomas de alto grado, 4 carcinomas de mama, 1 adenocarcinoma de estómago
- en el 13,3 % (2 casos) existía una enfermedad autoinmune asociada: 2 casos de artritis reumatoide en tratamiento

Inmunodepresión		
	Frecuencia	Porcentaje
HIV	6	40,0
otra neoplasia	7	46,7
enf. autoinmune	2	13,3
Total	15	100

Tabla 19: Distribución de frecuencias de las alteraciones inmunológicas

Diagnóstico histológico en la pieza de conización y estado inmunológico

Al analizar la relación entre estas dos variables no hemos observado una relación estadísticamente significativa, con una $\chi^2 = 1,46$ y una $p = 0,81$. Se ha observado un claro predominio de las pacientes inmunocompetentes en todos los grados de displasia y carcinoma, con un rango que oscilaba entre el 93,2 % de LSIL y un 100 % del carcinoma.

Diagnóstico cono		Alt inmunidad		Total
		no	si	
normal	N	7	0	7
	%	100%	0,0%	100%
LSIL	N	41	3	44
	%	93,2%	6,8%	100%
HSIL	N	238	12	250
	%	95,2%	4,8%	100%
Carcinoma epidermoide	N	12	0	12
	%	100%	0,0%	100%
Adenocarcinoma	N	2	0	2
	%	100%	0,0%	100%
Total	N	300	15	315
	%	95,2%	4,8%	100%

Tabla 20: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre la categoría diagnóstica y el estado inmunológico

También se ha revisado si existía alguna infección vírica o bacteriana de importancia asociada, y hemos encontrado:

6 casos con infección por HIV, uno de ellos tenía asociado infección por VHC (1,9 %)

7 casos con infección por VHB, que representaban un 2,2 %

2 casos con infección por VHC (0,6 %)

Y 1 caso con sífilis (0,3 %)

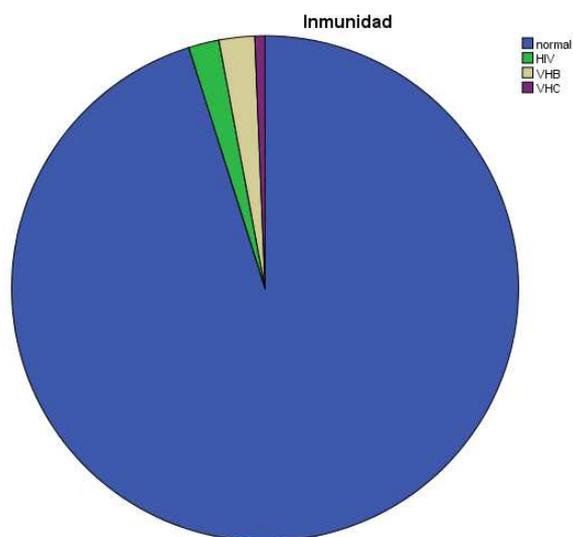


Figura 78: Distribución del estado inmunológico e infecciones por otros agentes biológicos.

Al estudiar la relación entre las infecciones víricas asociadas y el grado de displasia/carcinoma, hemos observado que los seis casos con infección por HIV (100 %) tenían diagnóstico de HSIL así como la mayor parte de los casos, 6 de 7 con infección por VHB (85,7 %). Los casos con infección por VHC y los casos con infección por VHB y VHC fueron diagnosticados de LSIL. No se han observado casos con carcinoma e infección vírica por HIV o VHB/VHC.

Diagnóstico cono		Inmunidad				Total
		normal	HIV	VHB	VHC	
LSIL	N	41	0	1	2	44
	%	93,2%	0,0%	2,3%	4,5%	100%
HSIL	N	238	6	6	0	250
	%	95,2%	2,4%	2,4%	0,0%	100%
Carcinoma epidermoide	N	12	0	0	0	12
	%	100%	0,0%	0,0%	0,0%	100%
Adenocarcinoma	N	2	0	0	0	2
	%	100%	0,0%	0,0%	0,0%	100%
Total	N	293	6	7	2	308
	%	95,1%	1,9%	2,3%	0,6%	100%

Tabla 21: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre la categoría diagnóstica y la infección por otros agentes biológicos

V.2.2.D.- Número de citologías previas al diagnóstico atípico

Análisis descriptivo

Se ha revisado el número de citologías previas realizadas antes del primer diagnóstico de displasia o ASCUS en las mujeres conizadas de nuestro estudio, y hemos observado una media de 0,7 citologías por paciente, con un rango entre 0 y 8 citologías. En la siguiente tabla se detalla la frecuencia y el porcentaje del número de citologías.

Citologías previas		
	Frecuencia	Porcentaje
0	182	57,8
1	78	24,8
2	29	9,2
3	15	4,8
4	5	1,6
5	2	0,6
6	3	1,0
8	1	0,3
Total	315	100

Tabla 22: Distribución de frecuencias del n° de citologías previas al diagnóstico con displasia-ASCUS

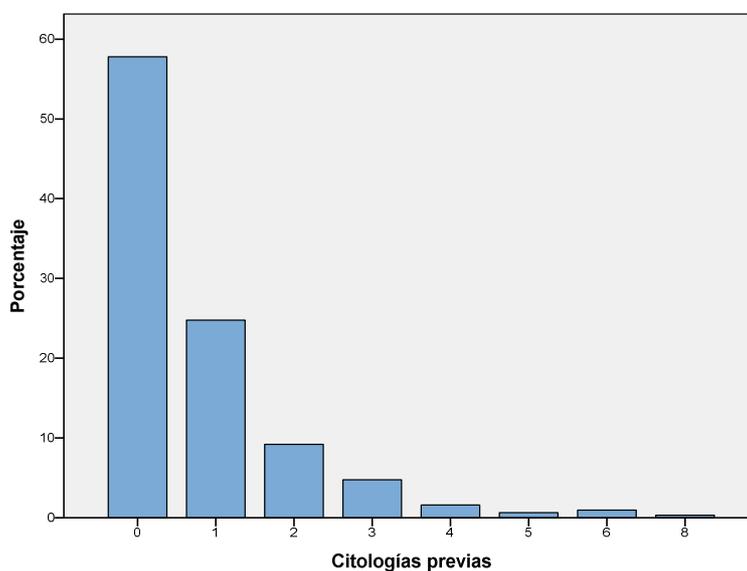


Figura 79: Distribución del n° de citologías previas al diagnóstico

En la siguiente tabla se refleja el número medio de citologías por categoría diagnóstica y otros descriptores asociados, mostrando una relación estadísticamente significativa ($F=3,69$ y $p= 0,01$). En los casos de HSIL y carcinoma epidermoide el número medio de citologías por paciente fue menor de 1.

Diagnóstico cono	Media	Mínimo	Máximo	Desviación estándar	N
LSIL	1,0	0	6	1,3	44
HSIL	0,6	0	8	1,1	250
Carcinoma epidermoide	0,8	0	4	1,3	12
Adenocarcinoma	3,0	0	6	4,2	2
Total	0,7	0	8	1,1	308

Tabla 23: Número medio de citologías previas en función del diagnóstico histológico

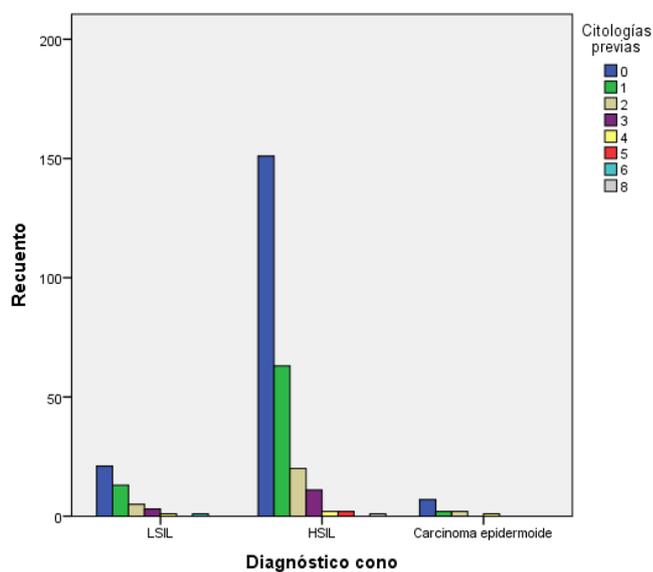


Figura 80: Distribución del nº de citologías previas por categoría diagnóstica

V.3.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS DIAGNÓSTICOS

V.3.1.- INFECCIÓN POR HPV

V.3.1.A.- Test de ADN-HPV

Análisis descriptivo

Se realizó este *test* en 271 casos (86,0 %) y fue positivo en el 59,7 % de los mismos (188 casos).

Test ADN-HPV		
	Frecuencia	Porcentaje
negativo	83	26,3
positivo	188	59,7
no realizado	44	14,0
Total	315	100

Tabla 24: Distribución de los resultados del *test* HPV

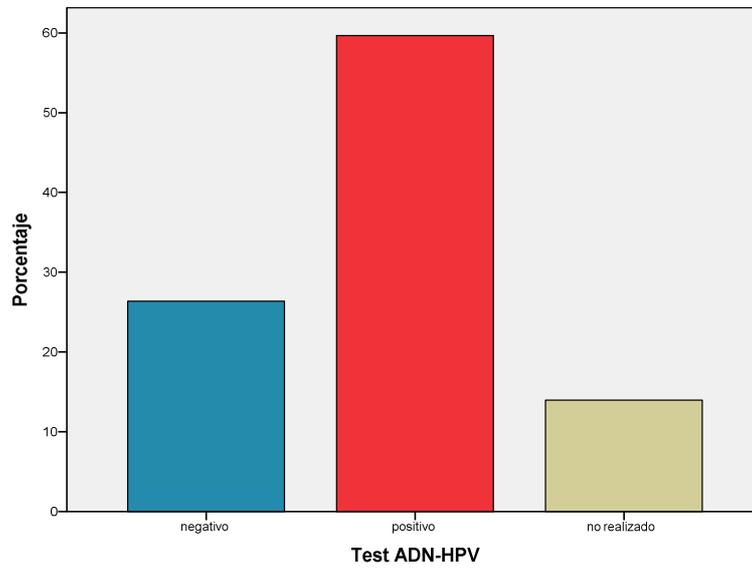


Figura 81: Distribución del resultado *test* ADN- HPV

Diagnóstico histológico en la pieza de conización y resultado *test* ADN-HPV

Posteriormente estudiamos la relación entre el resultado del *test* HPV y el diagnóstico histológico en la pieza de conización, obteniendo los siguientes resultados:

Diagnóstico cono		Test ADN-HPV		Total
		negativo	positivo	
LSIL	N	11	22	33
	%	33,3%	66,7%	100%
HSIL	N	70	149	219
	%	32,0%	68,0%	100%
Carcinoma epidermoide	N	1	9	10
	%	10,0%	90,0%	100%
Adenocarcinoma	N	0	2	2
	%	0,0%	100%	100%
Total	N	82	182	264
	%	31,1%	68,9%	100%

Tabla 25: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre la categoría diagnóstica y el resultado del *test* HPV

No hemos observado una relación estadísticamente significativa entre la categoría diagnóstica y el resultado del *test* HPV, con una $\chi^2=3,1$ y una $p=0,37$, aunque se observa positividad en el doble de casos diagnosticados de lesión displásica, tanto de bajo como de alto grado, y casi en la totalidad de los casos de carcinoma, con un 90 % en el carcinoma epidermoide y un 100 % en el adenocarcinoma.

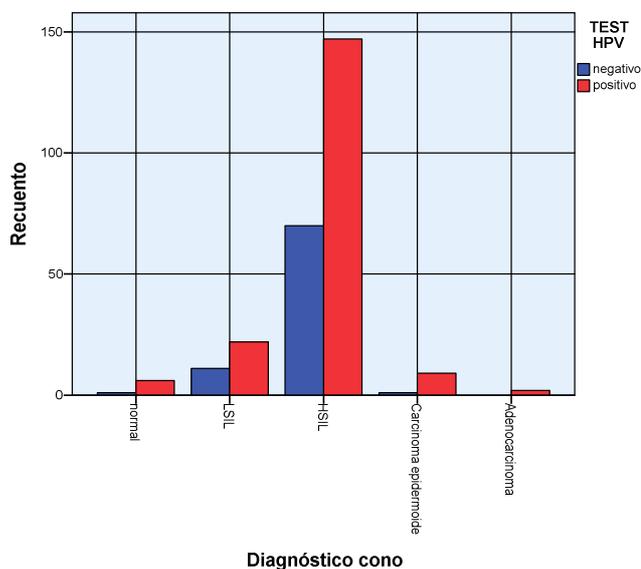


Figura 82: Distribución del resultado *test* HPV por categoría diagnóstica

V.3.1.B.- Infección monogenómica/multigenómica

Análisis descriptivo

Al analizar el tipo de infección, hemos observado infección monogenómica en el 65,4 % (123 casos) y en el resto de los casos, 34,6 % (65 casos) infección multigenómica, determinada por la infección por varios genotipos de HPV.

Infección mono/multigenómica		
	Frecuencia	Porcentaje
monogenómica	123	65,4
multigenómica	65	34,6
Total	188	100

Tabla 26: Distribución del tipo de infección

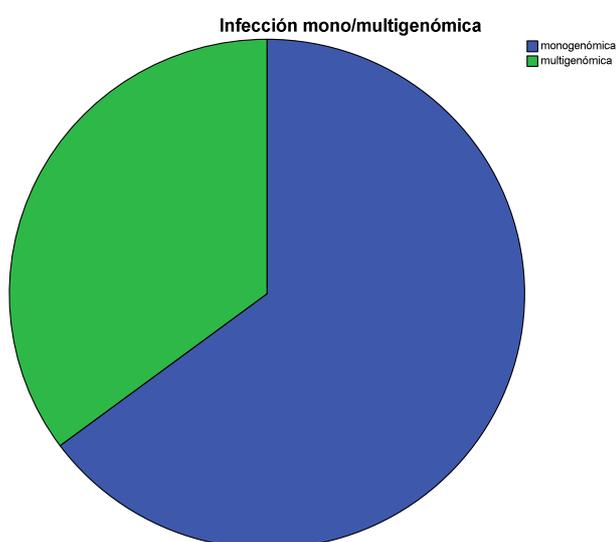


Figura 83: Distribución del tipo de infección

Diagnóstico histológico en la pieza de conización e infección mono/multigenómica

Al comparar las dos variables no hemos observado una relación estadísticamente significativa, ($\chi^2 = 0,32$; $p = 0,95$). En ambas lesiones displásicas y en el carcinoma epidermoide destaca un claro predominio de la infección por un solo virus, con un rango entre el 64,4 y el 68,2 %. En los casos diagnosticados de adenocarcinoma fue del 50,0 %, con un caso monogenómico y otro multigenómico.

Diagnóstico cono		Infección		Total
		monogenómica	multigenómica	
LSIL	N	15	7	22
	%	68,2%	31,8%	100%
HSIL	N	96	53	149
	%	64,4%	35,6%	100%
Carcinoma epidermoide	N	6	3	9
	%	66,7%	33,3%	100%
Adenocarcinoma	N	1	1	2
	%	50,0%	50,0%	100%
Total	N	118	64	182
	%	64,8%	35,2%	100%

Tabla 27: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre la categoría diagnóstica y el tipo de infección por HPV

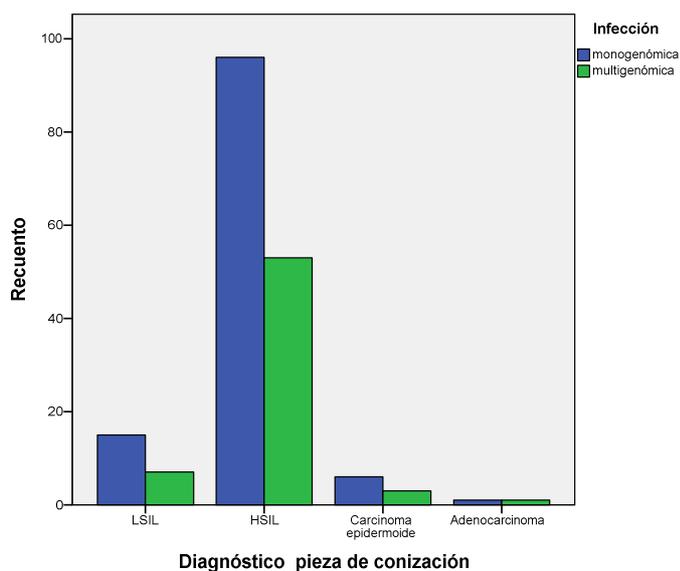


Figura 84: Distribución del tipo de infección por categoría diagnóstica

V.3.1.C.- Número de genotipos virales

Análisis descriptivo

También hemos tenido en cuenta el número de genotipos virales por cada caso con *test* HPV positivo, datos que se reflejan en la siguiente tabla:

Nº de genotipos		
	Frecuencia	Porcentaje
1	118	64,8
2	42	23,1
3	9	4,9
4	6	3,3
5	5	2,7
6	1	0,5
7	1	0,5
Total	182	100

Tabla 28: Distribución de frecuencias por nº de genotipos virales

El 65,4 % de los casos positivos para el *test* ADN-HPV tenían infección por un único virus (123 casos) y en el 22,9 % (43 casos) infección por dos virus.

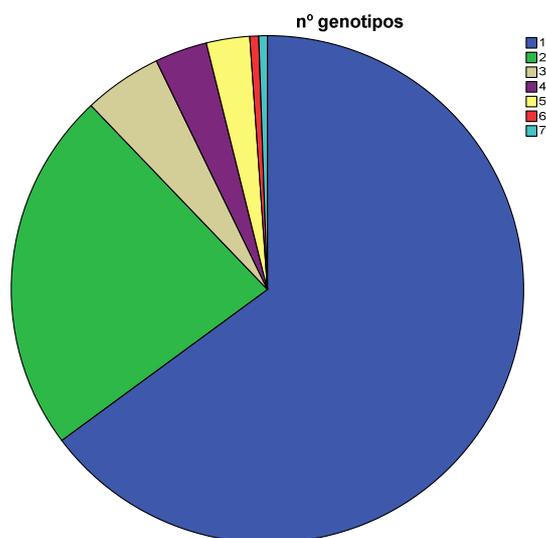


Figura 85: Distribución del n° de genotipos virales

También hemos estudiado la relación entre el número de genotipos y los grados de lesión displásica y carcinoma, observando una media de 0,9 virus por paciente con un valor medio máximo de 1,5 en los casos de carcinoma epidermoide y de adenocarcinoma ($F= 1,37$ y $p= 0,25$)

n° genotipos					
Diagnóstico cono	Media	Mínimo	Máximo	Desviación estándar	N
LSIL	1,1	0	5	1,2	33
HSIL	1,1	0	7	1,1	220
Carcinoma epidermoide	1,8	0	6	1,8	10
Adenocarcinoma	1,5	1	2	,7	2
Total	1,1	0	7	1,2	265

Tabla 29: Descripción del n° de genotipos virales por categoría diagnóstica

V.3.1.D.- Infección por HPV de AR/BR

Análisis descriptivo

Al discernir entre virus de alto o bajo riesgo (AR/BR) en los casos con *test* HPV-ADN positivo, hemos observado una marcada prevalencia de los serotipos de alto riesgo, con un 98,4 %, mientras que sólo en el 1,6 % de los casos existía infección por HPV de bajo riesgo.

HPV AR y BR		
	Frecuencia	Porcentaje
AR	185	98,4
BR	3	1,6
Total	188	100

Tabla 30: Distribución de infección por HPV de alto y bajo riesgo (AR/BR)

En el siguiente gráfico se observa el predominio de los casos con HPV de alto riesgo.

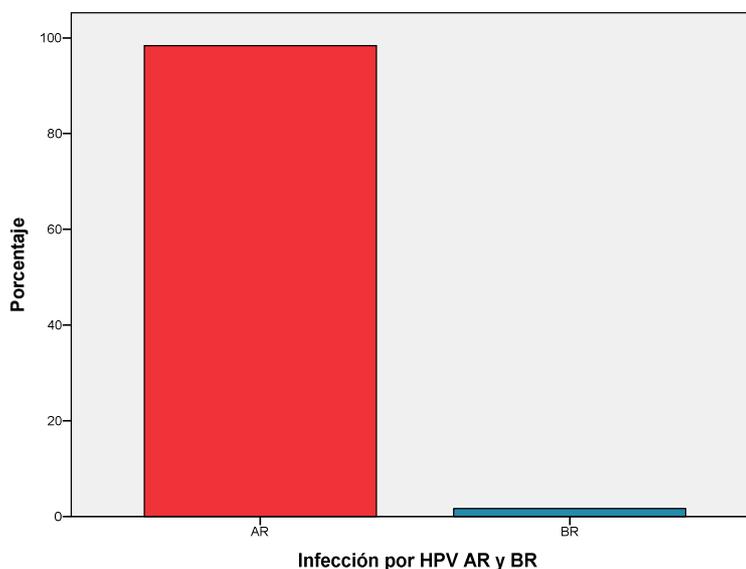


Figura 86: Distribución del porcentaje de infección por HPV de AR y de BR

Diagnóstico histológico en la pieza de conización y HPV AR/BR

Al analizar la relación entre estas dos variables no hemos observado una relación estadísticamente significativa ($\chi^2 = 8,09$ y $p = 0,07$), aunque destacaba un claro predominio de infección por HPV de alto riesgo en todos los casos, incluyendo los casos de diagnóstico de negatividad para lesión displásica, con un rango entre el 88,9 % del carcinoma epidermoide y el 100 % de casos de adenocarcinoma. También destaca el porcentaje de casos diagnosticados de LSIL con genotipos de alto riesgo (95,5 %).

Diagnóstico cono		HPV		Total
		AR	BR	
LSIL	N	21	1	22
	%	95,5%	4,5%	100%
HSIL	N	148	1	149
	%	99,3%	0,7%	100%
Carcinoma epidermoide	N	8	1	9
	%	88,9%	11,1%	100%
Adenocarcinoma	N	2	0	2
	%	100%	0,0%	100%
Total	N	179	3	182
	%	98,4%	1,6%	100%

Tabla 31: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre la categoría diagnóstica y el grado de riesgo de los virus implicados

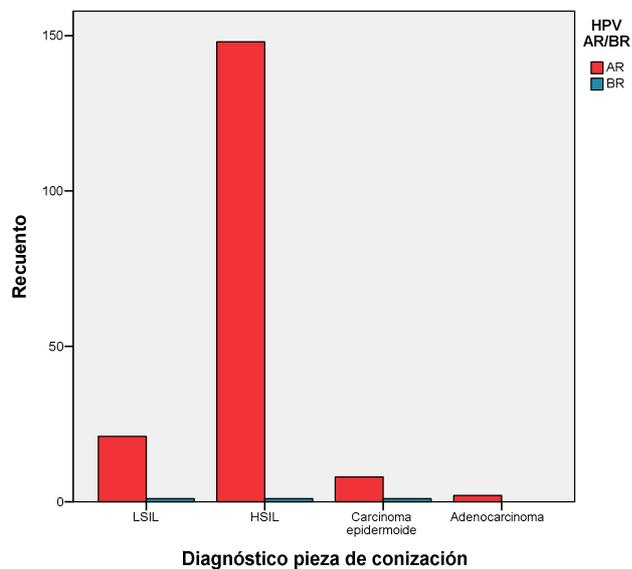


Figura 87: Distribución de HPV de AR y BR por categoría diagnóstica

V.3.1.E.- Genotipado viral

Análisis descriptivo

No sólo se realizó la determinación del *test* ADN-HPV para saber si existía infección sino también el genotipado en los casos positivos (188 casos). Se observó un claro predominio de la infección por HPV 16 con 115 casos (61,1 %), en el 38,8% de forma aislada y en el resto asociado a otros virus (infección múltigenómica), con un claro predominio de la asociación con virus de alto riesgo, excepto en 6 casos (3,2 %) de virus de bajo riesgo. El segundo genotipo viral más frecuentemente hallado ha sido el 31, con 17 casos (9,0 %), seguido del 58 con 9 casos (4,8 %), del 33 con 8 casos (4,3 %) y del 18 con 6 casos (3,2 %). El HPV 52 estaba presente en 5 casos (2,7 %).

HPV		
	Frecuencia	Porcentaje
Bajo Riesgo	2	1,1
16	73	38,8
18	6	3,2
31	10	5,3
33	8	4,3
35	1	0,5
39	3	1,6
52	5	2,7
58	9	4,8
53	1	0,5
16 y 31	7	3,7
16 y 18	1	0,5
16 y AR	28	14,9
18 y AR	4	2,1
otros AR	24	12,8
16 y BR	6	3,2
Total	188	100

Tabla 32: Distribución de frecuencias por genotipo HPV

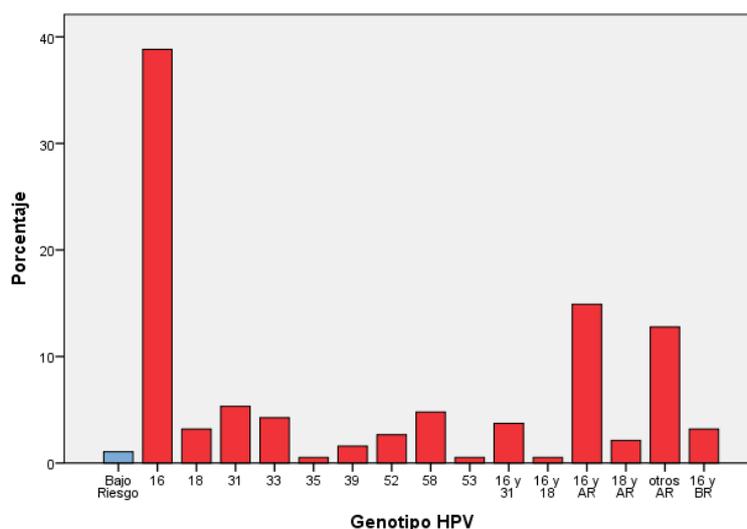


Figura 88: Distribucion de frecuencias por genotipo HPV

Diagnóstico histológico en la pieza de conización y genotipo HPV

Al relacionar estas dos variables observamos una relación estadísticamente significativa, $\chi^2 = 73,68$ y $p = 0,004$. En los casos diagnosticados de HSIL se ha observado un claro predominio de la infección monogenómica por HPV 16, con un 90,4%. También se han observado 3 casos de carcinoma epidermoide y de LSIL con infección por HPV 16, que correspondían a un 4,2 % en ambos. En el resto de casos de HSIL se ha observado un predominio de casos infectados por HPV 33, 58 y 31, con 17 casos en conjunto, que corresponden al 11,4 % del total de casos con HSIL. Respecto a la infección monogenómica por HPV 35, 39 y 52 todos los casos fueron diagnosticados de HSIL.

En los casos con infección multigenómica existía un predominio de casos con infección por HPV 16 y otros HPV de alto riesgo (AR) con 22 casos (84,6 %) diagnosticados de HSIL.

Al revisar los 3 casos con infección por HPV de bajo riesgo hemos observado que el diagnóstico era variado, con un caso de LSIL, otro de HSIL y otro de carcinoma epidermoide.

V: RESULTADOS

HPV		Diagnóstico cono				Total
		LSIL	HSIL	Carc. epidermoide	Adenocarcinoma	
Bajo Riesgo	N	0	1	1	0	2
	% HPV	0,0%	50,0%	50,0%	0,0%	100%
	% Diagnóstico	0,0%	0,7%	11,1%	0,0%	1,1%
16	N	3	66	3	0	72
	% HPV	4,2%	91,7%	4,2%	0,0%	100%
	% Diagnóstico	13,6%	44,3%	33,3%	0,0%	39,6%
18	N	2	3	0	0	5
	% HPV	40,0%	60,0%	0,0%	0,0%	100%
	% Diagnóstico	9,1%	2,0%	0,0%	0,0%	2,7%
31	N	6	4	0	0	10
	% HPV	60,0%	40,0%	0,0%	0,0%	100%
	% Diagnóstico	27,3%	2,7%	0,0%	0,0%	5,5%
33	N	1	7	0	0	8
	% HPV	12,5%	87,5%	0,0%	0,0%	100%
	% Diagnóstico	4,5%	4,7%	0,0%	0,0%	4,4%
35	N	0	1	0	0	1
	% HPV	0,0%	100%	0,0%	0,0%	100%
	% Diagnóstico	0,0%	0,7%	0,0%	0,0%	0,5%
39	N	0	3	0	0	3
	% HPV	0,0%	100%	0,0%	0,0%	100%
	% Diagnóstico	0,0%	2,0%	0,0%	0,0%	1,6%
52	N	0	4	1	0	5
	% HPV	0,0%	80,0%	20,0%	0,0%	100%
	% Diagnóstico	0,0%	2,7%	11,1%	0,0%	2,7%
58	N	1	6	1	0	8
	% HPV	12,5%	75,0%	12,5%	0,0%	100%
	% Diagnóstico	4,5%	4,0%	11,1%	0,0%	4,4%
53	N	0	1	0	0	1
	% HPV	0,0%	100,0%	0,0%	0,0%	100%
	% Diagnóstico	0,0%	0,7%	0,0%	0,0%	0,5%
16 y 31	N	0	7	0	0	7
	% HPV	0,0%	100%	0,0%	0,0%	100%
	% Diagnóstico	0,0%	4,7%	0,0%	0,0%	3,8%
16 y 18	N	0	1	0	0	1
	% HPV	0,0%	100%	0,0%	0,0%	100%
	% Diagnóstico	0,0%	0,7%	0,0%	0,0%	0,5%
16 y AR	N	2	24	1	0	27
	% HPV	7,4%	88,9%	3,7%	0,0%	100%
	% Diagnóstico	9,1%	16,1%	11,1%	0,0%	14,8%
18 y AR	N	2	1	0	0	3
	% HPV	66,7%	33,3%	0,0%	0,0%	100%
	% Diagnóstico	9,1%	0,7%	0,0%	0,0%	1,6%
otros AR	N	5	14	2	2	23
	% HPV	21,7%	60,9%	8,7%	8,7%	100%
	% Diagnóstico	22,7%	9,4%	22,2%	100%	12,6%
16 y BR	N	0	6	0	0	6
	% HPV	0,0%	100%	0,0%	0,0%	100%
	% Diagnóstico	0,0%	4,0%	0,0%	0,0%	3,3%
Total	N	22	149	9	2	182
	% HPV	12,1%	81,9%	4,9%	1,1%	100%
	% Diagnóstico	100%	100%	100%	100%	100%

Tabla 33: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre la categoría diagnóstica y el genotipo HPV

V.3.2.- HALLAZGOS COLPOSCÓPICOS

Análisis descriptivo

A continuación mostramos los hallazgos colposcópicos descritos en la historia clínica de las pacientes, cuyos resultados se observan en la siguiente tabla:

Colposcopia		
	Frecuencia	Porcentaje
insatisfactoria	5	1,6
normal	26	8,3
cambios menores	126	40,0
cambios mayores	102	32,4
sugestivo de carcinoma	9	2,9
leucoplasia	47	14,9
Total	315	100

Tabla 34: Distribución de frecuencias de los hallazgos colposcópicos

Hemos observado un claro predominio de casos con hallazgos compatibles con cambios menores en 126 casos (40,0 %) y de cambios mayores en 102 casos (32,4 %). Sólo en 5 casos la colposcopia fue insatisfactoria.

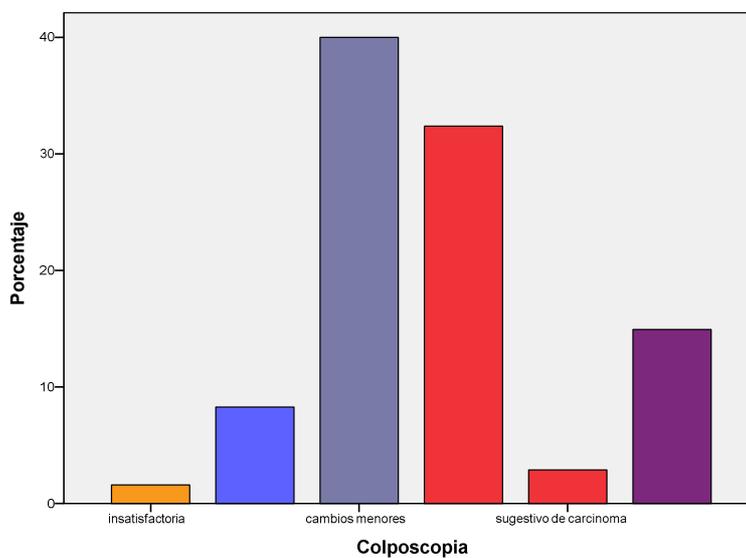


Figura 89: Distribución de los hallazgos colposcópicos

Diagnóstico histológico en la pieza de conización y hallazgos colposcópicos

Se ha estudiado la relación entre el diagnóstico histológico en la pieza de conización y los hallazgos colposcópicos, obteniendo los resultados que se muestran en la siguiente tabla:

Diagnóstico cono		Colposcopia						Total
		insatisfactoria	normal	cambios menores	cambios mayores	sugestivo de carcinoma	leucoplasia	
LSIL	N	1	3	25	10	1	4	44
	%	2,3%	6,8%	56,8%	22,7%	2,3%	9,1%	100%
HSIL	N	3	19	98	86	6	38	250
	%	1,2%	7,6%	39,2%	34,4%	2,4%	15,2%	100%
Carcinoma epidermoide	N	0	1	1	6	2	2	12
	%	0,0%	8,3%	8,3%	50,0%	16,7%	16,7%	100%
Adenocarcinoma	N	0	2	0	0	0	0	2
	%	0,0%	100%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100%
Total	N	4	25	124	102	9	44	308
	%	1,3%	8,1%	40,3%	33,1%	2,9%	14,3%	100%

Tabla 35: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre el diagnóstico en pieza de conización y los hallazgos colposcópicos

Al realizar el análisis estadístico se ha obtenido una relación estadísticamente significativa, con una $\chi^2 = 41,08$ y $p = 0,001$. En aproximadamente el 84,4 % de los casos de HSIL y carcinoma epidermoide se describía la presencia de cambios mayores, y sólo en el 16,7 % de los casos de carcinoma existía sospecha de carcinoma infiltrante. Respecto al resultado de cambios menores, se ha observado en el 56,8 % y 39,2 % de los casos de LSIL y HSIL respectivamente.

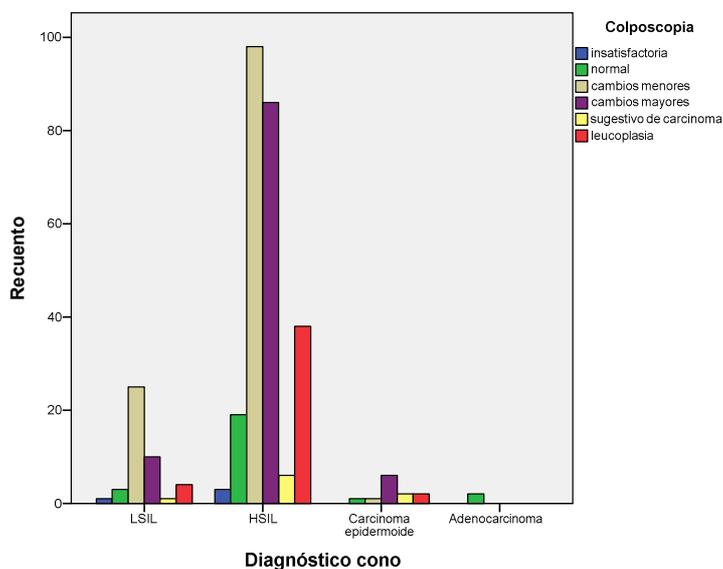


Figura 90: Distribución de los hallazgos colposcópicos por grado de lesión

V.3.3.- DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO

Análisis descriptivo

Al analizar la frecuencia de diagnóstico atípico en las citologías de las pacientes conizadas se ha observado displasia de diferente grado (LSIL y HSIL) en el 85,4 % de los casos, así como un 14,6 % de casos conizados con diagnóstico citológico normal.

Citología		
	Frecuencia	Porcentaje
Normal	46	14,6
LSL	102	32,4
HSIL	167	53,0
Total	315	100

Tabla 36: Distribución de los resultados citológicos

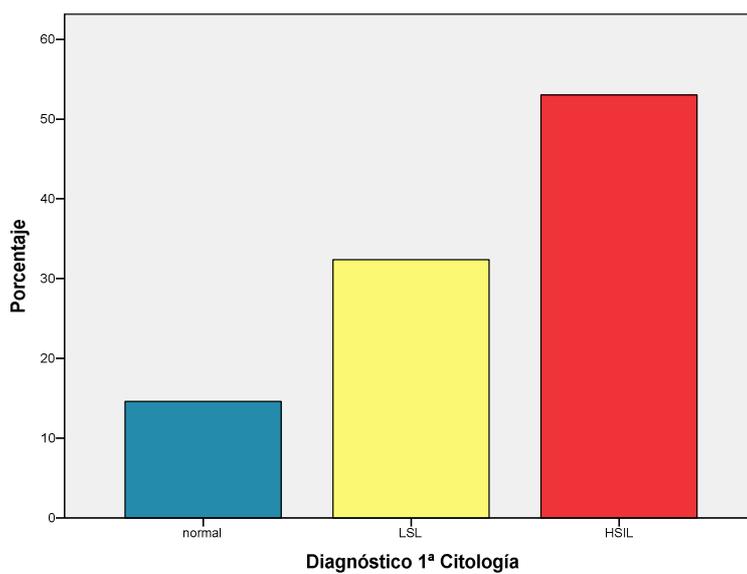


Figura 91: Distribución de los resultados citológicos

Diagnóstico histológico en la pieza de conización y diagnóstico citológico

Al realizar el análisis estadístico de la relación entre el diagnóstico histológico en la pieza de conización y el diagnóstico en citología se ha observado una relación estadísticamente significativa, $\chi^2= 32,37$ y $p= 0,001$.

Diagnóstico cono		Diagnóstico 1ª Citología			Total
		normal	LSIL	HSIL	
normal	N	1	4	2	7
	%	14,3%	57,1%	28,6%	100%
LSIL	N	10	25	9	44
	%	22,7%	56,8%	20,5%	100%
HSIL	N	34	71	145	250
	%	13,6%	28,4%	58,0%	100%
Carcinoma epidermoide	N	1	0	11	12
	%	8,3%	0,0%	91,7%	100%
Adenocarcinoma	N	0	2	0	2
	%	0,0%	100%	0,0%	100%
Total	N	46	102	167	315
	%	14,6%	32,4%	53,0%	100%

Tabla 37: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre la categoría diagnóstica y diagnóstico citológico

En el 56,8 % de los casos de LSIL en la pieza de conización se informó previamente como LSIL en la citología, mostrando una mayor frecuencia de concordancia en el diagnóstico de HSIL, con un 58,0 %. Respecto a los casos de carcinoma epidermoide se informó de citología normal en el 8,3 % (1 caso) y de HSIL en el 91,7 % (11 casos). En

los casos de adenocarcinoma se ha observado un bajo grado de concordancia, ya que el 100 % fueron informados como LSIL en la citología.

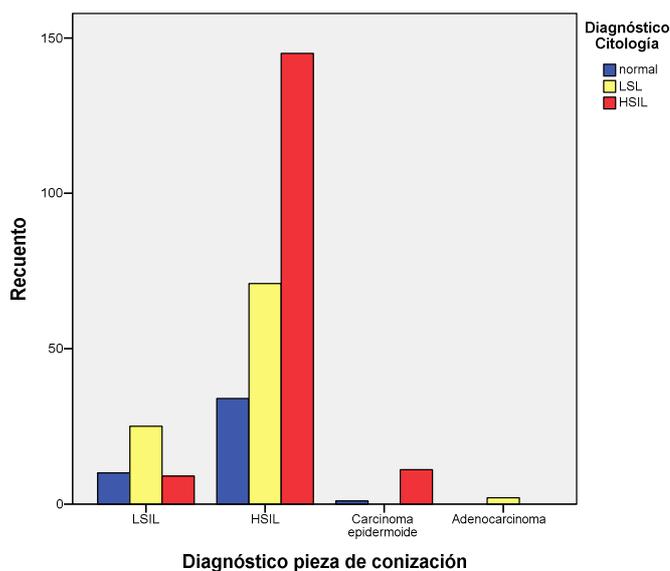


Figura 92: Diagnóstico histológico y citológico

V.3.4.- BIOPSIA CERVICAL DIRIGIDA MEDIANTE COLPOSCOPIA

Análisis descriptivo

Se realizó biopsia de cérvix dirigida mediante colposcopia en todos los casos, obteniendo los siguientes resultados:

Negativa para lesión intraepitelial o malignidad (Normal): 18,7 %

LSIL: 10,5 %

HSIL: 70,2 %

Carcinoma epidermoide: no se diagnosticó ningún caso

Adenocarcinoma: 0,6 %

Diagnóstico biopsia		
	Frecuencia	Porcentaje
normal	59	18,7
LSIL	33	10,5
HSIL	221	70,2
adenocarcinoma	2	0,6
Total	315	100

Tabla 38: Distribución de las categorías diagnósticas en la biopsia cervical

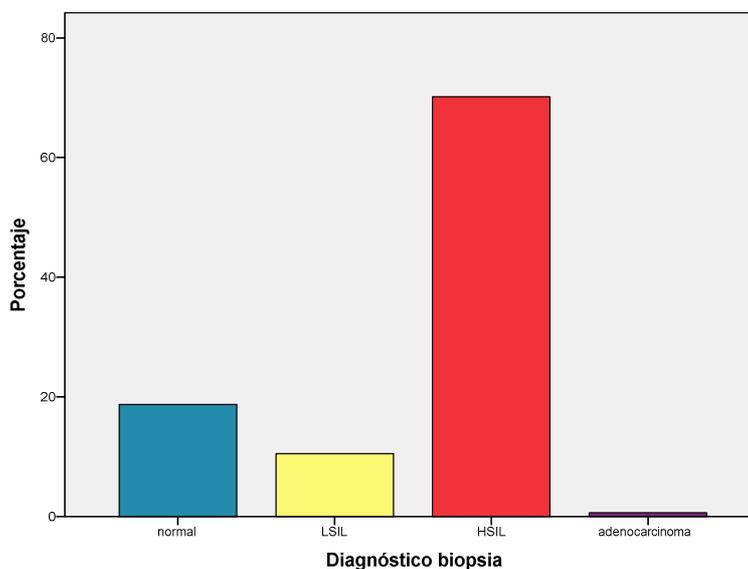


Figura 93: Diagnóstico histológico en biopsia cervical

Diagnóstico histológico en la pieza de conización y en la biopsia de cérvix

Entre ambas variables se ha observado una relación estadísticamente significativa ($F= 65$ y $p=0,001$). El 76 % de los casos diagnosticados de HSIL en la pieza de conización habían sido diagnosticados previamente de HSIL en la biopsia cervical y sólo un 17,6 % fueron diagnosticados de normalidad, sin alteraciones displásicas, en la biopsia de cérvix. El 38,6 % de los casos diagnosticados de LSIL en la pieza de conización fueron diagnosticados de HSIL en la biopsia. Ninguno de los casos diagnosticados de carcinoma epidermoide en la pieza de conización fue diagnosticado en la biopsia como tal aunque en el 91,7 % de los casos sí se diagnosticó HSIL. Además uno de los casos de carcinoma epidermoide (8,3 %) fue diagnosticado de normalidad en la biopsia. Respecto a los dos casos de adenocarcinoma sí existió una concordancia del 100 % entre el diagnóstico histológico en la biopsia y en la pieza de conización.

Diagnóstico cono		Diagnóstico biopsia				Total
		normal	LSIL	HSIL	adenocarcinoma	
normal	N	4	0	3	0	7
	%	57,1%	0,0%	42,9%	0,0%	100%
LSIL	N	10	17	17	0	44
	%	22,7%	38,6%	38,6%	0,0%	100%
HSIL	N	44	16	190	0	250
	%	17,6%	6,4%	76,0%	0,0%	100%
Carcinoma epidermoide	N	1	0	11	0	12
	%	8,3%	0,0%	91,7%	0,0%	100%
Adenocarcinoma	N	0	0	0	2	2
	%	0,0%	0,0%	0,0%	100%	100%
Total	N	59	33	221	2	315
	%	18,7%	10,5%	70,2%	0,6%	100%

Tabla 39: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre la categoría diagnóstica y en la biopsia

V.3.5.- PIEZA DE CONIZACIÓN CERVICAL

V.3.5.A.- Diagnóstico histológico

Análisis descriptivo

Se ha analizado la frecuencia de los hallazgos histológicos en la pieza de conización, cuyo resultado se presenta en la siguiente tabla:

Diagnóstico en cono	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
Normal	7	2,2	2,2
LSIL	44	14,0	16,2
HSIL	250	79,4	95,6
Carcinoma epidermoide	12	3,8	99,4
Adenocarcinoma	2	0,6	100
Total	315	100	

Tabla 40: Distribución de las categorías diagnósticas en la pieza de conización

- a) 2,2 % de los conos no se observa lesión displásica
- b) 14,0 % el diagnóstico es de LSIL
- c) 79,0 % se diagnostica de HSIL
- d) 3,8 % es un carcinoma epidermoide
- e) 0,6 %, en total 2 casos, de adenocarcinoma

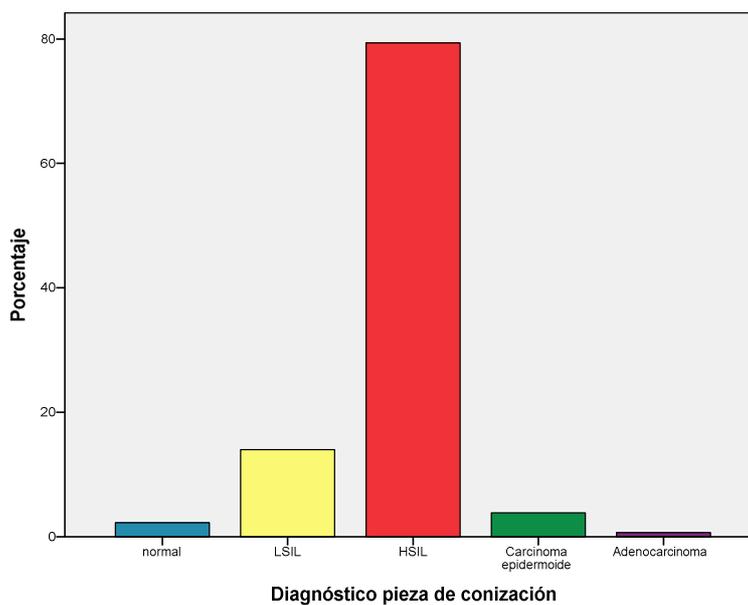


Figura 94: Distribución de las categorías diagnósticas

V.3.5.B.- Localización de la lesión/carcinoma

Análisis descriptivo

En el 45,7 % (144 casos) de los informes anatomopatológicos no se especificaba la localización de la lesión. En los casos en los que sí se identificaba, la localización más frecuente era en el labio posterior (28,3 %), seguido en frecuencia por la localización en ambos labios, con el 11,1 % de los casos, además del endocérnix con un 4,4 %.

Localización lesión		
	Frecuencia	Porcentaje
no localizado	144	45,7
exocervical	6	1,9
endocervical	14	4,4
ambos labios	35	11,1
labio anterior	27	8,6
labio posterior	89	28,3
Total	315	100

Tabla 41: Distribución de localización de la lesión

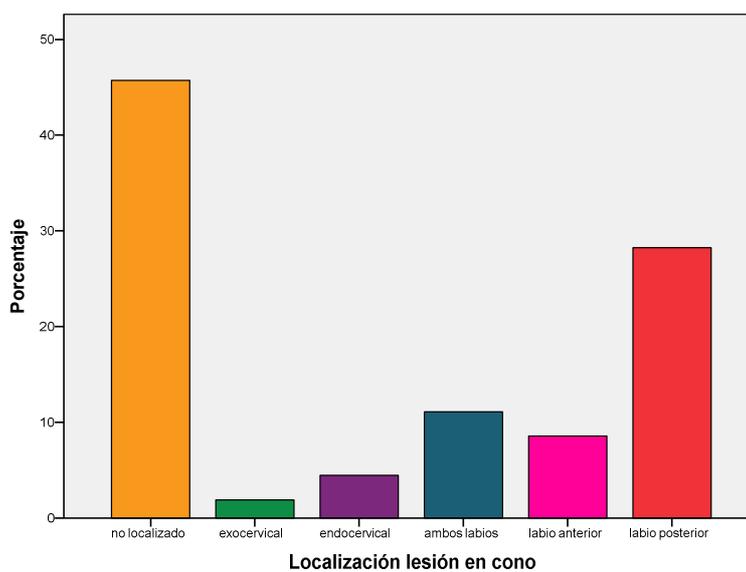


Figura 95: Distribución de la localización de la lesión

Diagnóstico histológico en la pieza de conización y localización de la lesión

Si relacionamos el diagnóstico en la pieza de conización y la localización de la lesión en los 171 casos, observamos que:

- a) en los casos diagnosticados de LSIL la localización más frecuente era el labio posterior (46,2 %)
- b) en HSIL también era más frecuente la localización en el labio posterior (53,2 %)
- c) a diferencia de las displasias, en los dos casos de carcinoma epidermoide en los que se especificaba la localización, uno estaba referenciado en el labio anterior y otro en ambos labios
- d) en los casos de adenocarcinoma no se especificaba la localización

Diagnóstico cono		Localización lesión					Total
		exocérvis	endocérvis	ambos labios	labio anterior	labio posterior	
LSIL	N	0	0	3	4	6	13
	%	0,0%	0,0%	23,1%	30,8%	46,2%	100%
HSIL	N	6	14	31	22	83	156
	%	3,8%	9,0%	19,9%	14,1%	53,2%	100%
Carcinoma epidermoide	N	0	0	1	1	0	2
	%	0,0%	0,0%	50,0%	50,0%	0,0%	100%
Total	N	6	14	35	27	89	171
	%	3,5%	8,2%	20,5%	15,8%	52,0%	100%

Tabla 42: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre la categoría diagnóstica y localización de la lesión

No se observó relación estadísticamente significativa ($\chi^2 = 8,3$; $p=0,35$)

La representación gráfica es la siguiente:

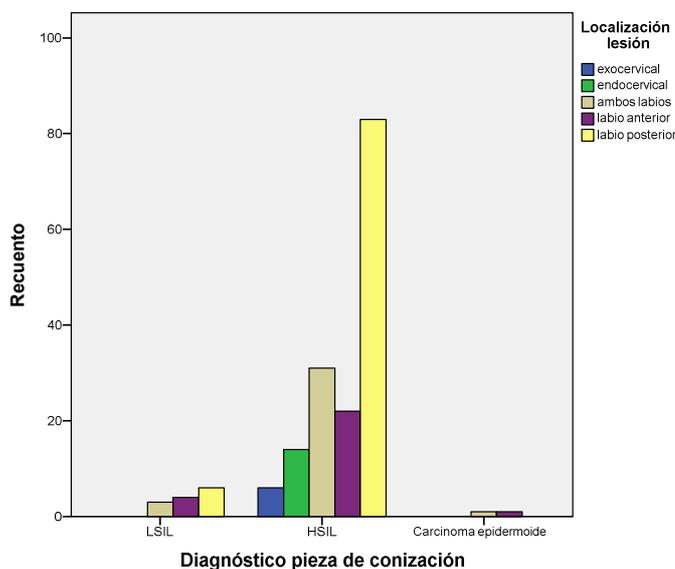


Figura 96: Distribución de la localización por categoría diagnóstica

V.3.5.C.- Tamaño de la lesión displásica

Análisis descriptivo

Se ha analizado el tamaño de la lesión displásica descrito en el informe anatomopatológico, tras descartar los casos en los que no se informaba del mismo así como los casos sin alteraciones histológicas residuales, mostrando una media de 6,5 mm, con un máximo de 15 mm y un mínimo de 1 mm, y una desviación típica de 2,9.

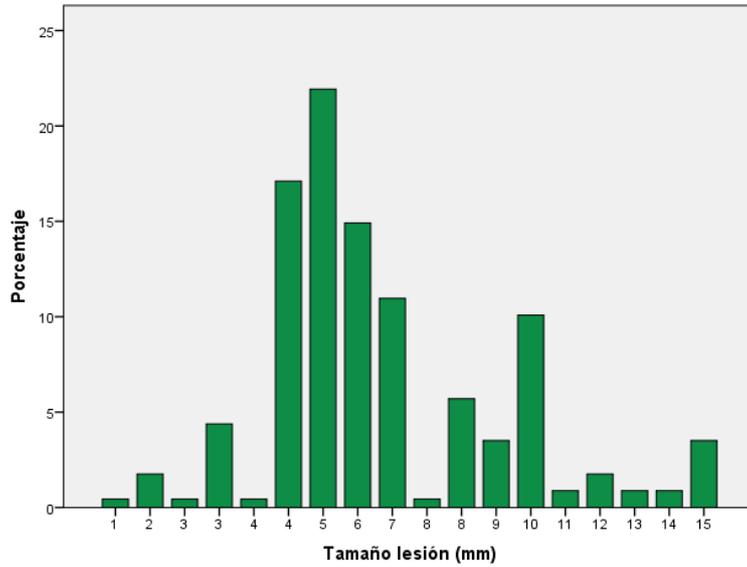


Figura 97: Distribución del tamaño de la displasia en la pieza de conización (mm.)

En el siguiente gráfico de barras se representa el tamaño por cada grado de displasia/ carcinoma:

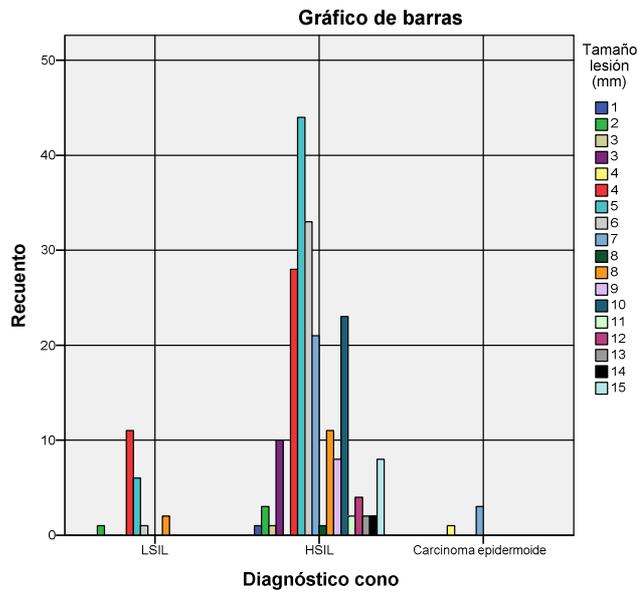


Figura 98: Distribución del tamaño por categoría diagnóstica

En la siguiente tabla exponemos los descriptores del tamaño por cada grado de lesión/carcinoma, con una relación estadísticamente significativa ($F= 4,91$ y $p=0,008$). El tamaño medio de HSIL y carcinoma epidermoide fue de más de 6 mm.

Diagnóstico cono	Media	Mínimo	Máximo	Desviación estándar	N
LSIL	4,7	2	8	1,4	21
HSIL	6,7	1	15	3,0	202
Carcinoma epidermoide	6,1	4	7	1,8	4
Total	6,5	1	15	2,9	227

Tabla 43: Descriptores del tamaño por categoría diagnóstica

V.3.5.D.- Estado de los bordes quirúrgicos

Análisis descriptivo

El estado de los bordes quirúrgicos en la pieza de conización fue el siguiente:

- a) 4,4 % presentaba bordes con artefacto de electrocoagulación

- b) 75,6 % tenía bordes negativos para displasia
- c) 20,0 % de los casos tenían los bordes afectos (positivos), que correspondían a 63 casos. De éstos el 79,4 % correspondían a HSIL y el resto eran de carcinoma epidermoide y adenocarcinoma.

Bordes pieza de conización		
	Frecuencia	Porcentaje
artefacto	14	4,4
negativos	238	75,6
positivos	63	20,0
Total	315	100

Tabla 44: Distribución del estado de los bordes quirúrgicos

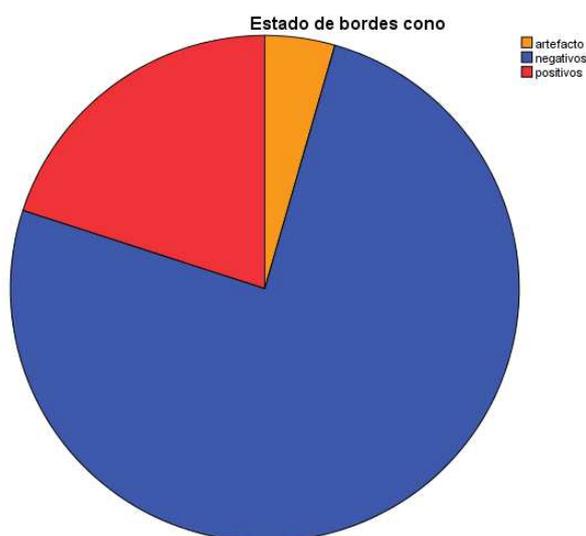


Figura 99: Distribución estado de los bordes quirúrgicos

Diagnóstico histológico en la pieza de conización y los bordes quirúrgicos

Se ha analizado la relación entre el grado de lesión en la pieza de conización y la afectación de los bordes quirúrgicos en la misma, obteniendo una relación estadísticamente significativa ($F= 40,94$ y $p=0,001$). El porcentaje de bordes quirúrgicos afectados era mayor a mayor grado de lesión, como en el caso de carcinoma epidermoide y de adenocarcinoma, con un 83,3 % y 100 % de los casos respectivamente.

Diagnóstico cono		Bordes cono			Total
		artefacto	negativos	positivos	
LSIL	N	0	43	1	44
	%	0,0%	97,7%	2,3%	100%
HSIL	N	7	193	50	250
	%	2,8%	77,2%	20,0%	100%
Carcinoma epidermoide	N	0	2	10	12
	%	0,0%	16,7%	83,3%	100%
Adenocarcinoma	N	0	0	2	2
	%	0,0%	0,0%	100%	100%
Total	N	7	238	63	308
	%	2,3%	77,3%	20,5%	100%

Tabla 45: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre categoría diagnóstica y afectación de bordes quirúrgicos

En el 77,2 % de los casos de HSIL no se observaba afectación de bordes, además de un 2,8 % en los que no se han podido valorar los bordes dado el artefacto de electrocoagulación que presentaban. En el 20 % de los casos de HSIL restante existía

afectación de los bordes quirúrgicos. También destaca la negatividad de bordes en 2 casos de carcinoma epidermoide (16,7 %).

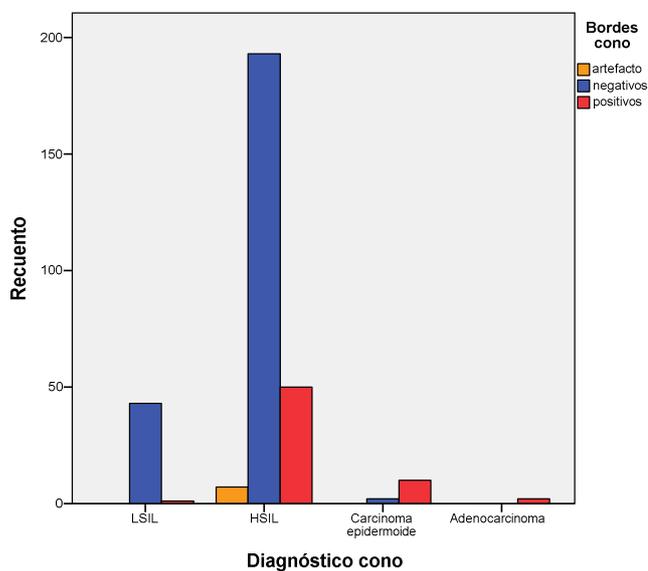


Figura 100: Distribución de estado de bordes de resección por categoría diagnóstica

V.3.5.E.- Localización del borde quirúrgico afecto

Análisis descriptivo

En los casos en los que sí existía afectación del borde quirúrgico, se ha revisado cuál era la localización del mismo y hemos obtenido el siguiente resultado:

Bordes afectados		
	Frecuencia	Porcentaje
positivo sin especificar	15	23,8
exocervical	14	22,2
endocervical	28	44,4
ambos	6	9,5
Total	63	100

Tabla 46: Frecuencia de afectación de los bordes quirúrgicos por localización

Se ha observado que en los casos con borde positivo o afecto:

- a) en el 23,8 % se informaba como afectación de borde quirúrgico, sin especificar la localización
- b) en el 22,2 % de casos con afectación del borde exocervical
- c) en el 44,4 % el borde afecto era el endocervical (localización más frecuente)
- d) en el 9,5 % restante existía afectación de ambos bordes

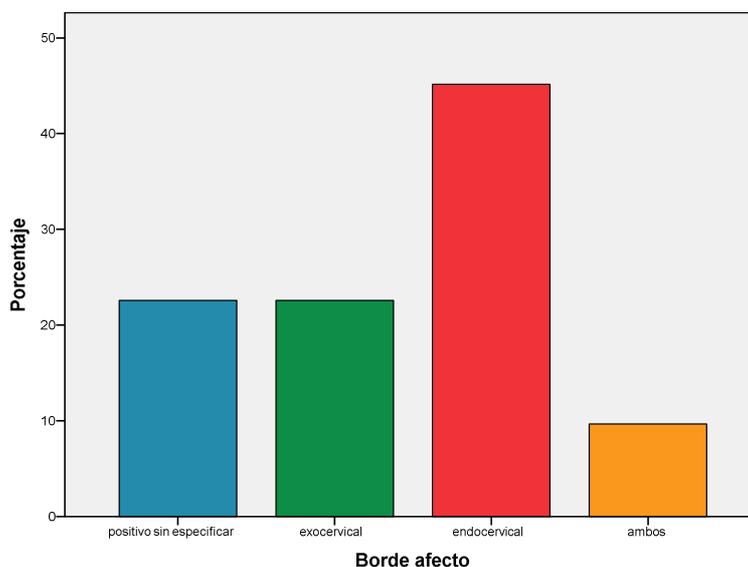


Figura 101: Distribución de los bordes quirúrgicos afectados

Diagnóstico histológico en la pieza de conización y afectación de los bordes quirúrgicos

Al relacionar estas dos variables no se ha obtenido una relación estadísticamente significativa ($\chi^2 = 11,83$ y $p = 0,13$). Destaca el predominio de la afectación del borde endocervical en el 48,0 % y en el 40,0 % de los casos de HSIL y carcinoma epidermoide respectivamente.

Diagnóstico cono		Borde afecto				Total
		positivo sin especificar	exocervical	endocervical	ambos	
LSIL	N	0	1	0	0	1
	%	0,0%	100%	0,0%	0,0%	100%
HSIL	N	11	12	24	3	50
	%	22,0%	24,0%	48,0%	6,0%	100%
Carcinoma epidermoide	N	3	1	4	2	10
	%	30,0%	10,0%	40,0%	20,0%	100,0%
Adenocarcinoma	N	1	0	0	1	2
	%	50,0%	0,0%	0,0%	50,0%	100%
Total	N	15	14	28	6	63
	%	23,8%	22,2%	44,4%	9,5%	100%

Tabla 47: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre categoría diagnóstica y localización de bordes afectados

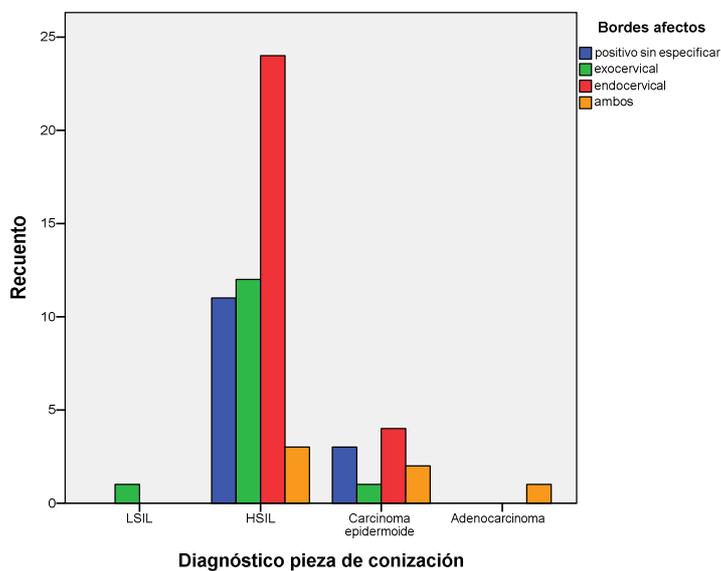


Figura 102: Distribución de la localización del borde afecto por categoría diagnóstica

Localización de la lesión y afectación de bordes

Al relacionar estas dos variables, aunque no se ha observado una relación estadísticamente significativa ($\chi^2= 12,26$ y $p= 0,4$) sí hemos constatado el predominio de la afectación del borde endocervical independientemente de dónde esté localizada la lesión. En el 80,0 % de las lesiones que se localizaban en endocérvix se ha observado la afectación del endocérvix, así como en las localizadas en el labio posterior, con un 65,0 % de los casos.

Localización lesión		Bordes afectados				Total
		positivo sin especificar	exocervical	endocervical	ambos	
exocervical	N	1	0	0	0	1
	%	100%	0,0%	0,0%	0,0%	100%
endocervical	N	1	0	4	0	5
	%	20,0%	0,0%	80,0%	0,0%	100%
ambos labios	N	0	1	1	1	3
	%	0,0%	33,3%	33,3%	33,3%	100%
labio anterior	N	0	1	2	0	3
	%	0,0%	33,3%	66,7%	0,0%	100%
labio posterior	N	3	3	13	1	20
	%	15,0%	15,0%	65,0%	5,0%	100%
Total	N	5	5	20	2	32
	%	15,6%	15,6%	62,5%	6,3%	100%

Tabla 48: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre localización de la lesión y localización del borde afecto

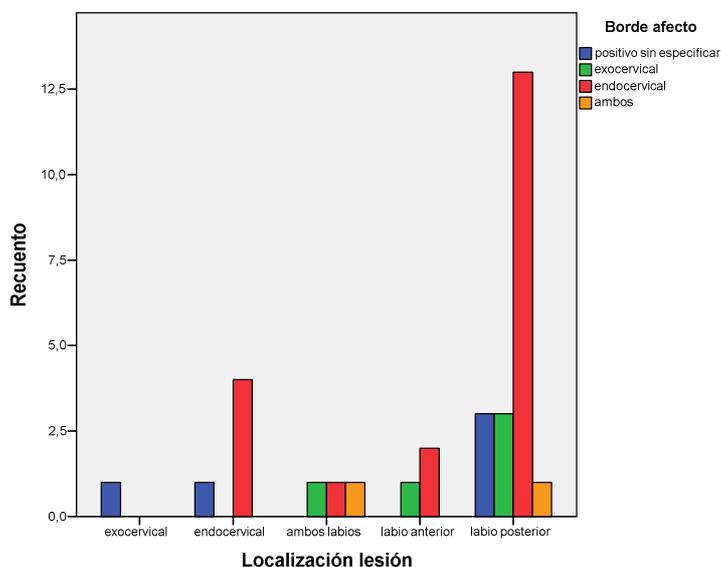


Figura 103: Distribución de borde afecto por localización de la lesión

V.4.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS PRUEBAS REALIZADAS DURANTE EL SEGUIMIENTO CLÍNICO

En nuestra serie se ha realizado el seguimiento de los casos durante una media de 58,2 meses, con un rango entre 12 y 146 meses.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Seguimiento (meses)	315	12	146	58,19	37,0

Tabla 49: Descriptores del seguimiento postconización

Al analizar el seguimiento medio para cada categoría diagnóstica observamos los siguientes resultados:

Diagnóstico cono	Media	Mínimo	Máximo	Desviación estándar	N
normal	50,0	14	94	31,8	7
LSIL	57,4	12	135	39,1	44
HSIL	58,7	12	146	36,6	250
Carcinoma epidermoide	63,5	14	134	42,0	12
Adenocarcinoma	13,5	12	15	2,1	2
Total	58,2	12	146	37	315

Tabla 50: Descriptores de seguimiento por categoría diagnóstica

El número medio de meses de seguimiento postconización en las pacientes conizadas con diagnóstico de lesión preneoplásica o carcinoma epidermoide fue de 57,4 meses para LSIL, de 58,7 meses para HSIL y 63,5 meses para carcinoma epidermoide. Respecto a los casos diagnosticados de adenocarcinoma el seguimiento medio ha sido de 13,5 meses.

Análisis descriptivo

En el seguimiento postconización hemos valorado la realización de toma citológica y *test* HPV realizados a los:

V.4.1.- 6 MESES POSTCONIZACIÓN

V.4.1.A.-Citología

En el 41,9 % de los casos no se realizó estudio citológico. En los 183 casos (58,1 %) en los que sí se había realizado se informaron como:

Normal: 90,7 % (166 casos)

LSIL: 6,0 % (11 casos)

HSIL: 3,3 % (6 casos)

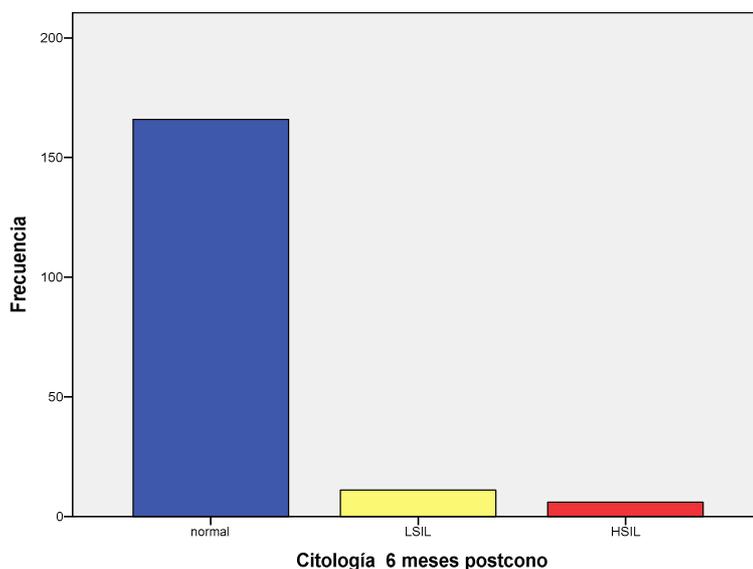


Figura 104: Distribución de los resultados citología 6 meses postconización

V.4.1.B.-*Test* ADN-HPV

No se realizó el *test* ADN-HPV al 79,0 % de las pacientes. En el 21,0 % de las pacientes (66 casos) a las que sí se les había realizado se obtuvieron los siguientes resultados:

Negativo: 71,2 % (47 casos)

Positivo: 28,8 % (19 casos)

Infección por el mismo genotipo viral (Infección persistente) en el 7,6 % (5 casos)

HPV 16: 3 casos

HPV 33: 1 caso

HPV 39: 1 caso

Infección por un nuevo genotipo viral en el 21,2 % (14 casos)

HPV de AR: 12 casos (4 casos HPV 16)

HPV de BR: 2 casos

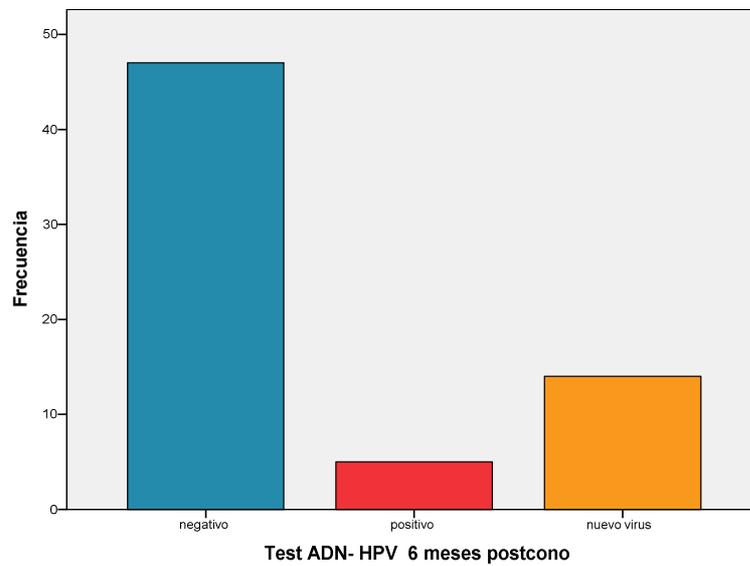


Figura 105: Distribución de frecuencias de resultado *test* ADN-HPV

Al relacionar el resultado de este *test* con el estado de los bordes quirúrgicos, no observamos relación estadísticamente significativa ($\chi^2=1,5$ y $p=0,88$).

En los casos con borde quirúrgico afecto se observó lo siguiente:

- a) en el 72,7 % (8 de los 11 casos) el *test* fue negativo
- b) en el 18,2 % (2 de 11 casos) el resultado fue positivo y la infección era por un nuevo genotipo viral
- c) en el 9,1 % (1 caso de 11) fue positivo y éste además era por el mismo serotipo viral

Bordes cono		Test ADN-HPV 6 meses postcono			Total
		negativo	positivo	nuevo virus	
artefacto	N	5	1	2	8
	%	62,5%	12,5%	25,0%	100%
negativos	N	34	3	10	47
	%	72,3%	6,4%	21,3%	100%
positivos	N	8	1	2	11
	%	72,7%	9,1%	18,2%	100%
Total	N	47	5	14	66
	%	71,2%	7,6%	21,2%	100%

Tabla 51: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre bordes pieza de conización y resultado *test* ADN-HPV

En los casos con borde negativo, se observó positividad en el 6,4 % (3 de 47 casos) producido por el mismo genotipo viral y en el 21,3 % (10 de 47 casos) por un nuevo virus.

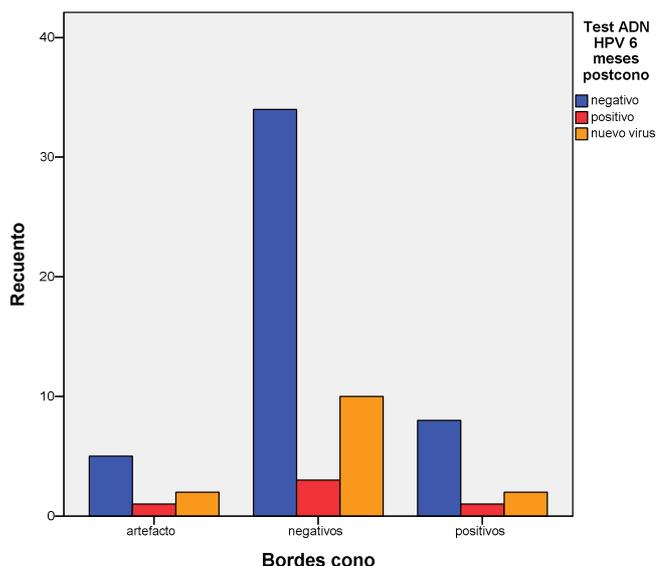


Figura 106: Distribución del resultado del *test* ADN-HPV por estado de los bordes quirúrgicos

V.4.2.- 12 MESES POSTCONIZACIÓN

V.4.2.A.- Citología

En el 41,9 % de los casos no se había realizado estudio citológico y dentro de los casos en los que sí se realizó se observó el siguiente resultado:

Normal: 52,7 % de los casos

LSIL: 3,5 %

HSIL: 1,9 %

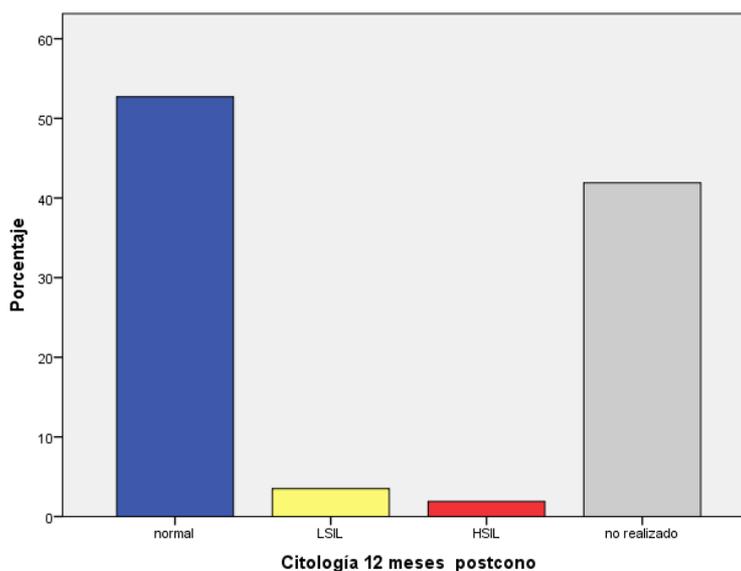


Figura 107: Distribución resultado citológico 12 meses postconización

V.4.2.B.- Test ADN-HPV

En el 79,7 % de los casos no se realizó *test* HPV (251 casos) y en cuanto a los que sí se les había realizado este *test*, se informaron como:

Negativo: 13 % (41 casos)

Positivo: 7,3 % (23 casos)

Infección por el mismo genotipo viral (Infección persistente) en el 21,7 % (5 casos)

Infección por un nuevo genotipo viral en el 78,3 % (18 casos)

En la siguiente tabla se muestran los genotipos HPV observados a los 12 meses del inicio del tratamiento quirúrgico:

HPV persistencia		
	Frecuencia	Porcentaje
negativo	41	65,0
16	5	7,9
31	2	3,2
58	1	1,6
82	2	3,2
53	2	3,2
51	2	3,2
66	1	1,6
70	1	1,6
62	2	3,2
31 y 82	1	1,6
18 y 61	1	1,6
58,61 y 72	1	1,6
45,58,62 y 66	1	1,6
Total	63	100

Tabla 52: Distribución genotipado HPV 12 meses postratamiento

Si sólo valoramos el genotipo viral sin comprobar si se trataba de una infección persistente, se observaba que el HPV 16 era el más frecuente, con un 7,9 %. También se observaron 4 casos con infección multigenómica, los cuales presentaban algún genotipo de alto riesgo.

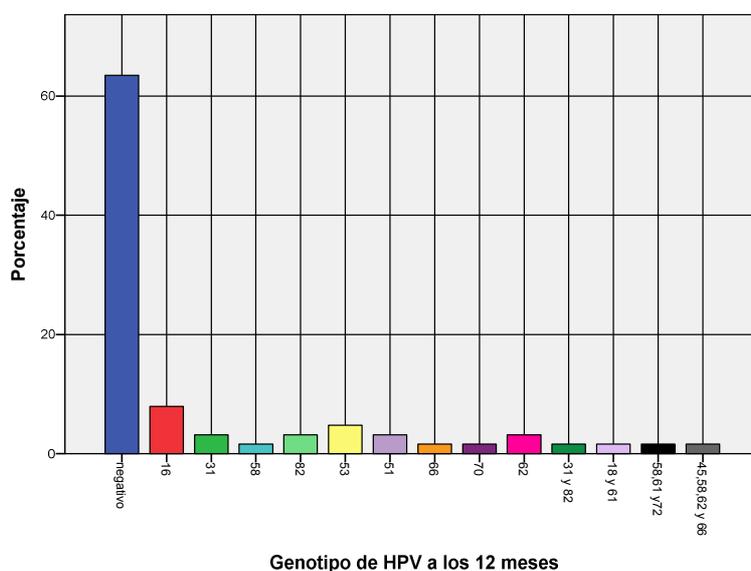


Figura 108: Genotipos de HPV a los 12 meses postratamiento

Dentro de los casos positivos (23 casos) observamos que persistía la infección por el mismo genotipo viral en el 21,5 % de los casos, los cuales se correspondían con 5 casos en total. En el 78,3 % de los casos positivos (18 casos) teníamos una nueva infección por otro genotipo distinto al del inicio de las alteraciones histológicas.

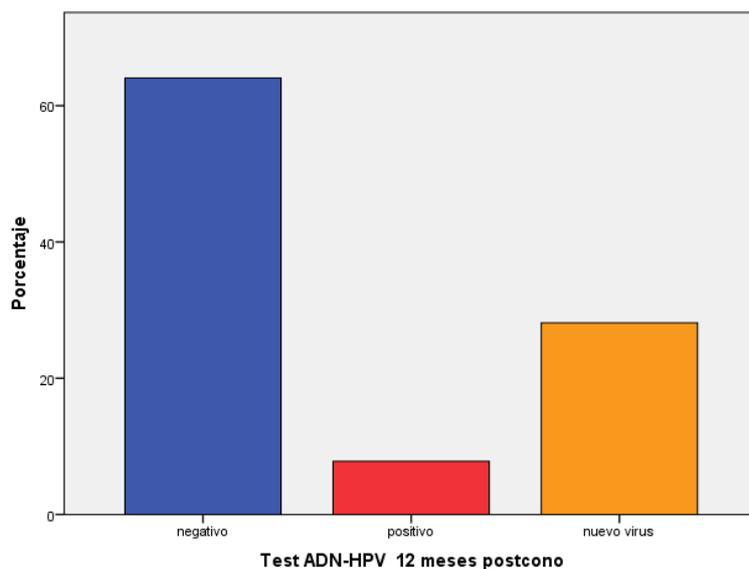


Figura 109: Distribución de la persistencia viral e infección por otro genotipo HPV

En los 5 casos con persistencia de la infección, el genotipo viral fue el siguiente :

HPV 16: 3 casos

HPV 31: 1 caso

HPV 16 y 31: 1 caso

Test ADN-HPV y bordes de la pieza de conización

Si relacionamos el resultado del *test* ADN-HPV a los 12 meses postconización y la afectación de los bordes de resección de la pieza de conización no observamos una relación estadísticamente significativa ($\chi^2=3,6$ y $p=0,41$). En el 18,2 % de los casos con borde quirúrgico afecto se observó positividad para el *test* (1 caso con persistencia viral y otro caso con infección por un nuevo virus). En el 39,2 % de los casos con

bordes no afectos se observó positividad para este *test*, en el 7,8 % (4 casos) con persistencia viral) y en el 31,4 % (16 casos) con infección por un nuevo virus.

Bordes cono		Test ADN-HPV 12 meses postcono			Total
		negativo	positivo	nuevo virus	
artefacto	N	1	0	1	2
	%	50,0%	0,0%	50,0%	100%
negativos	N	31	4	16	51
	%	60,8%	7,8%	31,4%	100%
positivos	N	9	1	1	11
	%	81,8%	9,1%	9,1%	100%
Total	N	41	5	18	64
	%	64,1%	7,8%	28,1%	100%

Tabla 53: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre estado de bordes quirúrgicos y resultado *test* ADN-HPV 12 meses

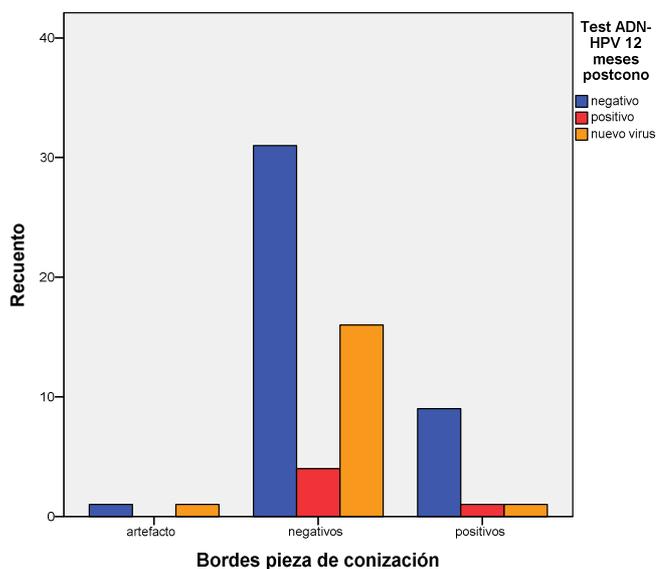


Figura 110: Distribución del resultado *test* ADN-HPV 12 meses postcono por estado de bordes quirúrgicos

V.4.3.- 24 meses postconización

V.4.3.A.- Citología

En el 54,3 % (171 casos) no se realizó estudio citológico. En los casos en los que sí se realizó el resultado fue el siguiente:

Normal: 141 casos (44,8 %)

LSIL: 3 casos (0,9 %)

V.4.3.B.- *Test* ADN-HPV

En el 69,5 % (218 casos) no se realizó *test* ADN-HPV y los resultados en los que sí se había realizado mostraban el siguiente resultado:

Negativo: 25,3 % (80 casos)

Positivo: 5,2 % (17 casos)

V.5.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS CASOS CON ENFERMEDAD RESIDUAL Y RECIDIVA

Durante el seguimiento de las pacientes de la muestra se realizaron toma citológica y/o *test* ADN-HPV cuyos resultados se han mostrado en el apartado de seguimiento post-conización. Según la literatura se considera que una paciente presenta enfermedad residual “cuando la lesión preneoplásica previa está incompletamente reseca o tratada y se detecta en los controles realizados durante el primer año” (SEGO 2014).

V.5.1.- CITOLOGÍA/TEST ADN-HPV 12 MESES POSTCONIZACIÓN

En nuestro estudio hemos observado 46 casos (14,6 %) (N=315) que mostraron una citología y/o *test* ADN-HPV positivo durante este tiempo:

Citología post-cono positiva durante los 12 primeros meses: 11 casos (3,5 %) (N=315)

Test ADN-HPV positivo: 23 casos (7,3 %) (N=315)

Citología y test ADN-HPV positivos: 12 casos (3,8 %)

Citología/test ADN-HPV 12 meses postcono		
	Frecuencia	Porcentaje
negativo	167	53
citología +	11	3,5
HPV +	23	7,3
citología + HPV	12	3,8
no realizado	102	32,4
Total	315	100

Tabla 54: Distribución resultado citología y *test* ADN-HPV 12 meses postcono

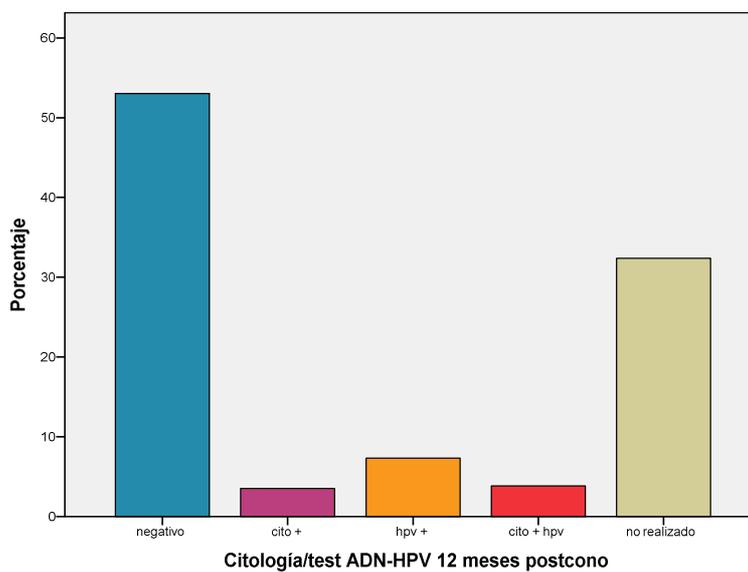


Figura 111: Distribución del resultado citología/test ADN-HPV 12 meses postcono

Resultado de pruebas postcono hasta 12 meses y estado de los bordes quirúrgicos en la pieza de conización

Al relacionar el estado de los bordes de la conización y el resultado en las pruebas de seguimiento postcono (hasta 12 meses) no hemos observado relación estadísticamente significativa ($\chi^2=11,23$ y $p=0,13$).

Bordes cono		Citología/test ADN-HPV 12 meses postcono					Total
		negativo	cito +	hpv +	cito + hpv	no realizado	
artefacto	N	7	1	1	2	3	14
	%	50,0%	7,1%	7,1%	14,3%	21,4%	100%
negativos	N	132	7	19	9	71	238
	%	55,5%	2,9%	8,0%	3,8%	29,8%	100%
positivos	N	28	3	3	1	28	63
	%	44,4%	4,8%	4,8%	1,6%	44,4%	100%
Total	N	167	11	23	12	102	315
	%	53,0%	3,5%	7,3%	3,8%	32,4%	100%

Tabla 55: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre estado de los bordes quirúrgicos y resultado de pruebas realizadas durante seguimiento postconización (12 meses)

Los resultados han sido los siguientes:

a) 63 casos presentaban afectación de bordes

en 28 casos (44,4 %) no se han observado alteraciones en las pruebas realizadas

en 3 casos (4,8 %) se han observado resultados citológicos anormales o *test* ADN-HPV positivos, respectivamente

sólo en un caso (1,6 %) se observó positividad para ambos

b) 238 casos (75,5 %) sin afectación de bordes

132 casos (55,5 %) las pruebas postcono realizadas fueron negativas

7 casos (2,9 %) la citología mostró un resultado anómalo

19 casos (8,0 %) tuvieron un *test* HPV positivo

9 casos (3,8 %) mostraron positividad en ambas pruebas

c) 14 casos (4,4 %) con artefacto de electrocoagulación

7 casos (50,0 %) presentaron resultados negativos

1 caso con citología anormal

1 caso con *test* ADN-HPV anormal

2 casos (14,3 %) con positividad de ambos resultados

V.5.2.- ENFERMEDAD RESIDUAL Y RECIDIVA (CONFIRMACIÓN HISTOLÓGICA)

Tras excluir los casos de carcinoma, ya que éstos se trataron posteriormente con cirugía radical, en los 301 restantes se constató que la conización inicial fue curativa en 269 casos (89,4 %). En el 10,6 % restante (32 casos) se observó lesión preneoplásica o carcinoma residual/recidiva durante los 12 primeros meses tras el tratamiento quirúrgico inicial y éste se constató histológicamente.

Enfermedad residual/recidiva		
	Frecuencia	Porcentaje
no	269	89,4
si	32	10,6
Total	301	100

Tabla 56: Distribución de enfermedad residual/recidiva

Entre estos 32 casos se observó un grupo de pacientes, 7 casos (2,3 %) que mostraron HSIL después de 12 meses sin lesión y con pruebas citológicas y *test* ADN-HPV previos negativos.

Enfermedad residual/recidiva		
	Frecuencia	Porcentaje
No	269	89,4
Enf. residual	25	8,3
Recidiva	7	2,3
Total	301	100

Tabla 57: Distribución de enfermedad residual y recidiva

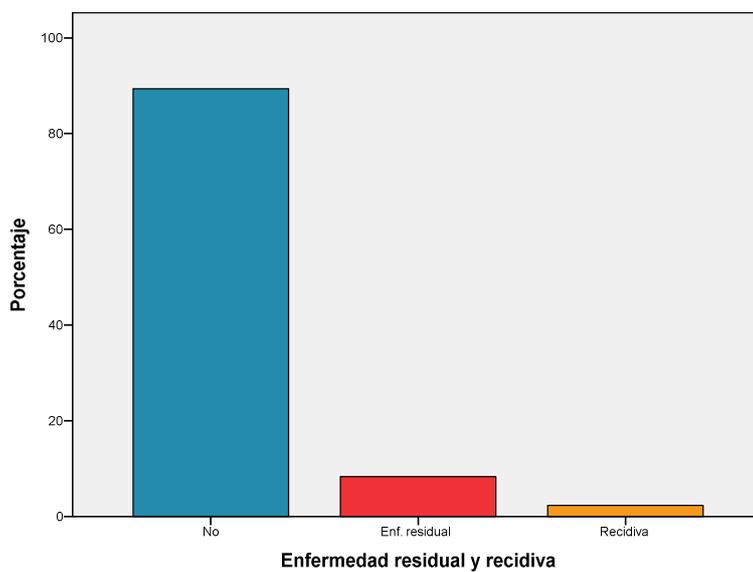


Figura 112: Distribución de enfermedad residual/recidiva

Análisis descriptivo

V.5.2.A.- Edad

La edad media de las pacientes con lesión residual y recidiva fue de 36,3 años, con un rango entre 22 y 59 años. Al estratificar por edad, hemos observado que la mayor parte de los casos (31 de 32) eran menores de 50 años, lo que correspondía al 96,9 % de las pacientes y sólo 1 caso era mayor de 50 años.

Rango edad (años)		
	Frecuencia	Porcentaje
20-30	10	31,3
31-40	14	43,8
41-50	7	21,9
> 50	1	3,1
Total	32	100

Tabla 58: Distribución rangos edad en enfermedad residual y recidiva

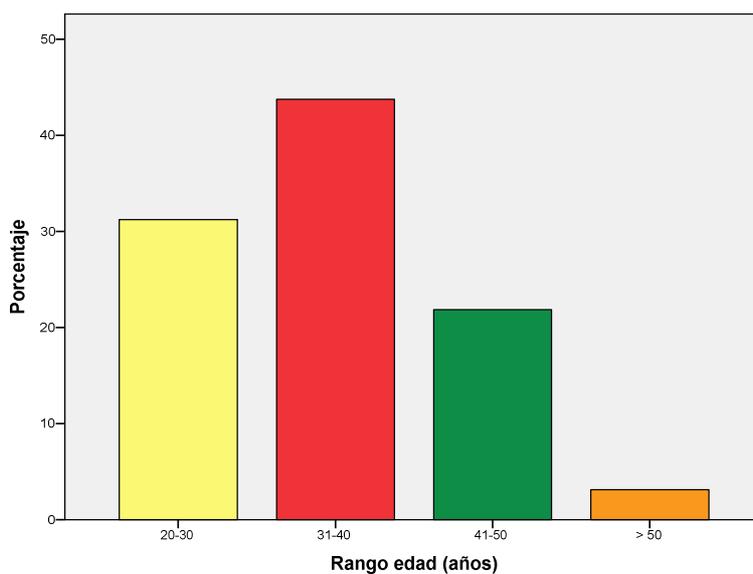


Figura 113: Distribución rango de edad en casos de lesión residual/ recidiva

Relación entre lesión residual/recidiva y edad

No se ha observado relación estadísticamente significativa entre estas dos variables ($F=0,94$ y $p=0,39$). La media de edad no difiere significativamente entre los

casos con y sin enfermedad residual. La diferencia entre los casos con recidiva es más marcada, con 4,4 años de diferencia con los casos sin enfermedad y de 5,3 con los casos de enfermedad residual.

Enfermedad	Media	Mínimo	Máximo	Desviación estándar	N
No	36,5	20	77	9,1	269
Enf. residual	37,4	26	59	8,2	25
Recidiva	32,1	22	41	8,6	7
Total	36,5	20	77	9,0	301

Tabla 59: Descripción de la variable edad en enfermedad residual/recidiva

Si relacionamos esto con los rangos de edad, observamos un número máximo de casos (14) con enfermedad residual/recidiva en el rango de edad de 31 a 49 años, grupo también más frecuente entre los casos sin enfermedad residual ni recidiva, con 109 casos.

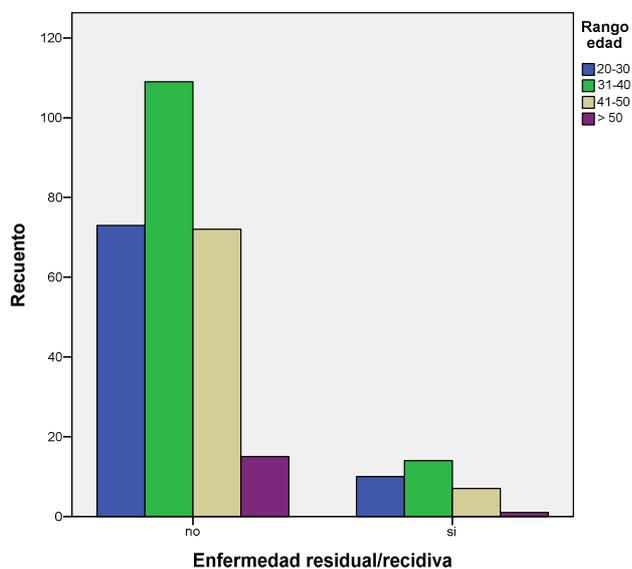


Figura 114: Distribución de enfermedad residual/recidiva por rangos de edad

V.5.2.B.- Paridad

El número medio de partos fue de 2,2 por paciente, con un rango entre 0 y 8. En la siguiente tabla se refleja la frecuencia:

N° de partos		
	Frecuencia	Porcentaje
0	9	28,1
1	6	18,8
2	9	28,1
3	3	9,4
4	1	3,1
8	4	12,5
Total	32	100

Tabla 60: Distribución n° de partos en enfermedad residual/recidiva

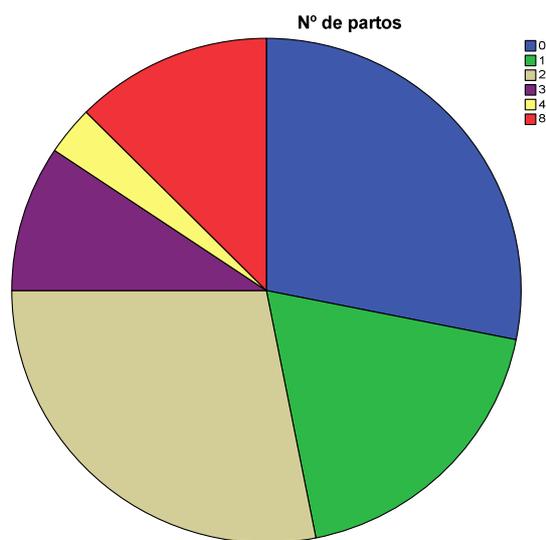


Figura 115: Distribución n° de partos en enfermedad residual/recidiva

Relación entre enfermedad residual/recidiva y paridad

Al analizar la relación entre estas dos variables no hemos observado una relación estadísticamente significativa ($F=0,85$ y $p= 0,35$). Las diferencias entre las medias de los casos con y sin enfermedad residual/recidiva no son significativas.

Enfermedad	Media	Mínimo	Máximo	Desviación estándar	N
no	1,8	0	8	2,1	283
si	2,2	0	8	2,5	32
Total	1,8	0	8	2,2	315

Tabla 61: Descriptores de paridad en enfermedad residual/recidiva

V.5.2.C.- Anticoncepción hormonal (ACO)

En el 71,9 % (23 casos) usaban anticonceptivos hormonales frente al 28,1 % (9 casos) que no los tomaban.

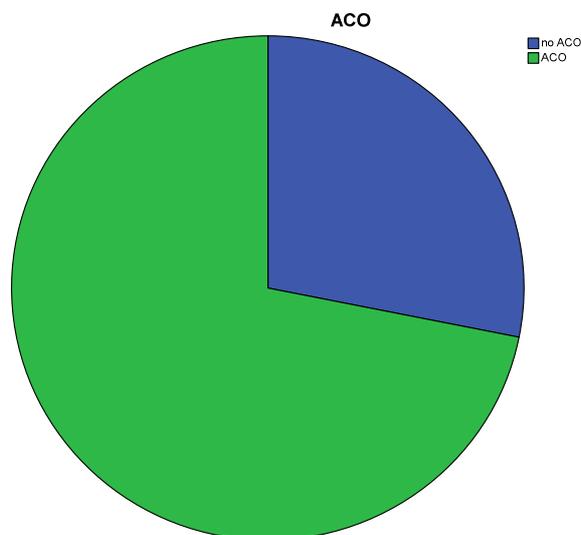


Figura 116: Distribución uso de ACO en enfermedad residual y/o recidiva

Relación entre enfermedad residual/recidiva y uso de anticonceptivos hormonales

Al relacionar estas dos variables no hemos observado una relación estadísticamente significativa ($\chi^2= 2,67$ y $p = 0,09$) aunque sí se observa mayor número de casos con lesión residual y recidiva que usaban anticonceptivos hormonales que en los que no los usaban (23 casos frente a 9 casos).

Residual/recidiva		ACO		Total
		no	si	
no	Nº	117	152	269
	%	43,5%	56,5%	100%
si	Nº	9	23	32
	%	28,1%	71,9%	100%
Total	Nº	126	175	301
	%	41,9%	58,1%	100%

Tabla 62: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre ACO y enfermedad residual/recidiva

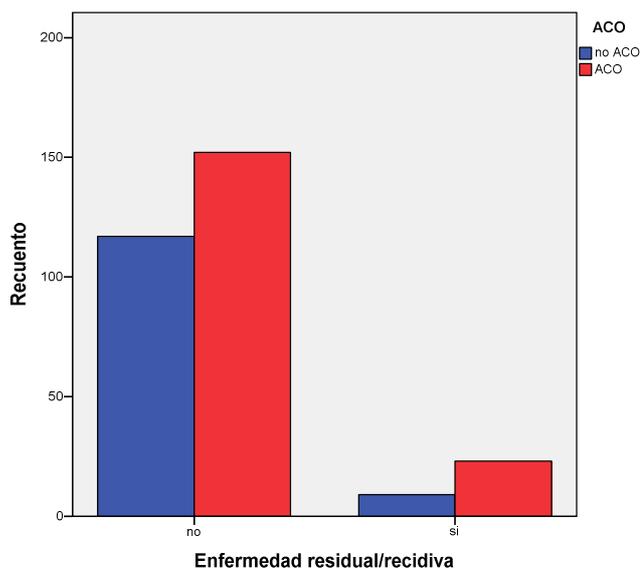


Figura 117: Distribución ACO y enfermedad residual/recidiva

V.5.2.D.- Hábito tabáquico

El 31,3 % de los casos eran fumadoras y sólo el 12,5 % no fumaban. En el 56,3 % de los casos no se reflejaba este dato en la historia clínica.

Hábito tabáquico		
	Frecuencia	Porcentaje
no fumador	4	12,5
fumador	10	31,3
sin datos	18	56,3
Total	32	100

Tabla 63: Distribución según el hábito tabáquico en enfermedad residual/recidiva

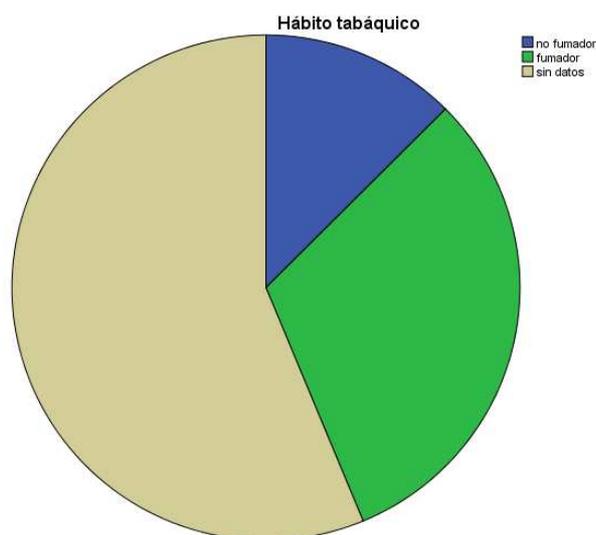


Figura 118: Distribución hábito tabáquico en enfermedad residual y/o recidiva

Relación entre enfermedad residual/recidiva y hábito tabáquico

Al relacionar estas dos variables no hemos observado una relación estadísticamente significativa ($\chi^2 = 0,74$ y $p=0,39$). Destaca únicamente la presencia de lesión residual en 4 casos (28,6 %) de pacientes que no eran fumadoras frente a 10 casos (71,4 %) que sí lo eran. Respecto a los casos sin lesión residual/recidiva, también predominaba el hábito tabáquico (113 frente a 76 casos).

Residual/recidiva		Fumador		Total
		no	si	
no	N	76	113	189
	%	40,2%	59,8%	100%
si	N	4	10	14
	%	28,6%	71,4%	100%
Total	N	80	123	203
	%	39,4%	60,6%	100%

Tabla 64: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre hábito tabáquico y enfermedad residual/recidiva

V.5.2.E.- Inmunidad

La mayor parte de las pacientes (96,9 %) eran inmunocompetentes y sólo se observó alteración en 1 caso (3,1 %) que presentaba infección por HIV.

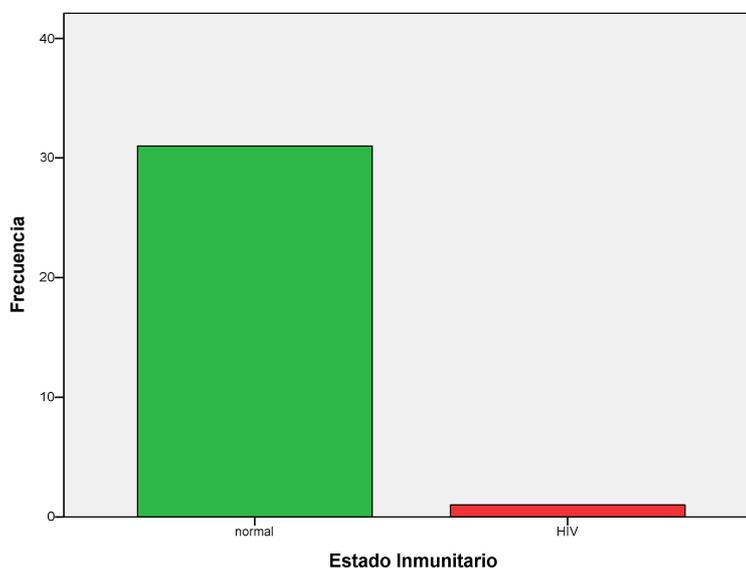


Figura 119: Distribución de estado inmunitario en enfermedad residual/recidiva

Relación entre lesión residual/recidiva y estado inmunitario

No se observó relación estadísticamente significativa ($\chi^2=0,26$ y $p=0,6$), ya que sólo 1 de los 32 casos de enfermedad residual/recidiva mostraba alteraciones de la inmunidad (infección por HIV)

Residual/recidiva		Alteración inmunidad		Total
		no	si	
no	N	255	14	269
	%	94,8%	5,2%	100%
si	N	31	1	32
	%	96,9%	3,1%	100%
Total	N	286	15	301
	%	95,0%	5,0%	100%

Tabla 65: Tabla de contingencia entre para el estudio de la asociación entre alteración del estado inmunitario y enfermedad residual/recidiva

V.5.2.F.- Genotipo HPV inicial

Se realizó *test* ADN-HPV en el 90,7 % de los casos (29 de 32 casos) con positividad en el 71,9 % (23 casos) y negatividad en el 18,8 % (6 casos).

Test ADN-HPV inicial		
	Frecuencia	Porcentaje
negativo	6	18,8
positivo	23	71,9
no realizado	3	9,4
Total	32	100

Tabla 66: Distribución de frecuencias *test* ADN-HPV inicial en enfermedad residual/recidiva

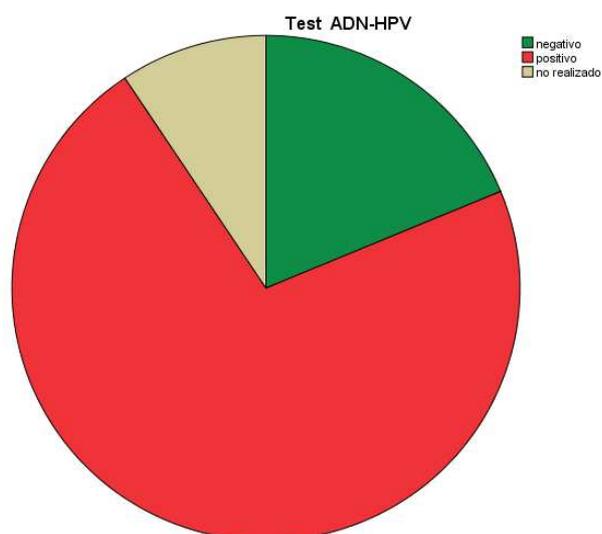


Figura 120: Distribución de resultados *test* ADN-HPV inicial en enfermedad residual/recidiva

Relación entre lesión residual/recidiva y resultado del *test* ADN-HPV

Aunque se ha observado mayor positividad en el *test* ADN-HPV en los casos con enfermedad residual/recidiva que en los casos sin enfermedad, 71,9 % (23 de 32 casos con enfermedad residual/recidiva) frente al 57,2 % (154 de 269 casos sin enfermedad residual), no se ha observado una relación estadísticamente significativa ($\chi^2=2,52$ y $p=0,28$).

Residual/recidiva		Test ADN-HPV inicial			Total
		negativo	positivo	no realizado	
no	N	76	154	39	269
	%	28,3%	57,2%	14,5%	100%
si	N	6	23	3	32
	%	18,8%	71,9%	9,4%	100%
Total	N	82	177	42	301
	%	27,2%	58,8%	14,0%	100%

Tabla 67: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre enfermedad residual/recidiva y *test* ADN-HPV inicial

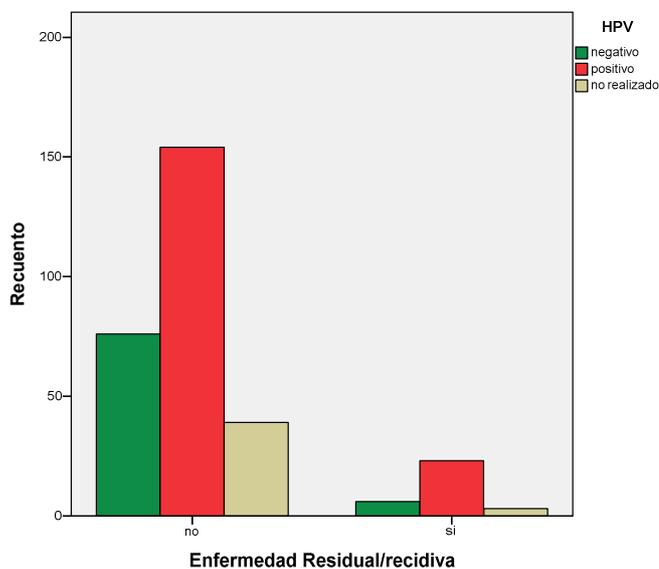


Figura 121: Distribución de resultados del *test* ADN-HPV inicial en enfermedad residual/recidiva

En el 68,8 % de los casos existía infección por genotipos HPV de AR frente al 3,1 % (1 caso) de infección por BR.

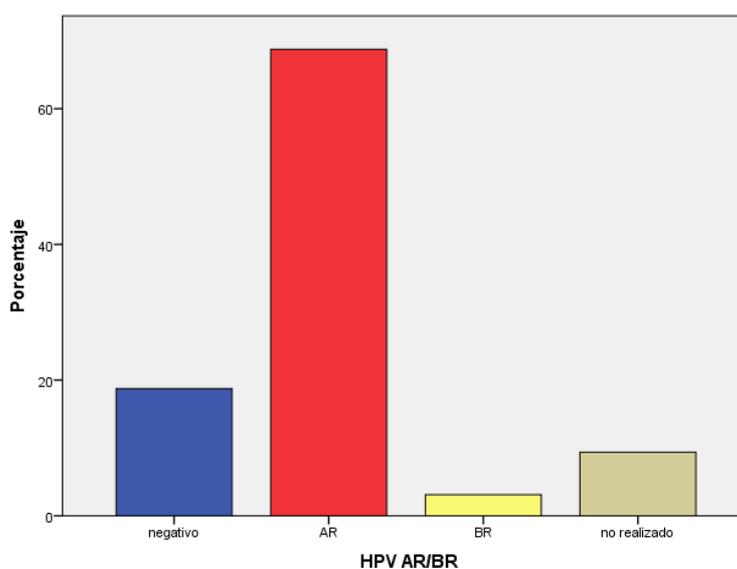


Figura 122: Distribución de genotipos HPV de AR y BR en enfermedad residual /recidiva

Si relacionamos la presencia de enfermedad residual y/o recidiva y el tipo de infección no observamos una relación estadísticamente significativa ($\chi^2 = 1,90$ y $p = 0,16$), aunque existe un claro predominio de casos con enfermedad residual/ recidiva que tenían infección por un sólo genotipo viral (73,3 %).

Residual/recidiva		Infección		Total
		monogenómica	multigenómica	
no	N	105	60	165
	%	63,6%	36,4%	100%
si	N	18	5	23
	%	78,3%	21,7%	100%
Total	N	123	65	188
	%	65,4%	34,6%	100%

Tabla 68: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre enfermedad residual/recidiva y tipo de infección

Su representación gráfica es la siguiente:

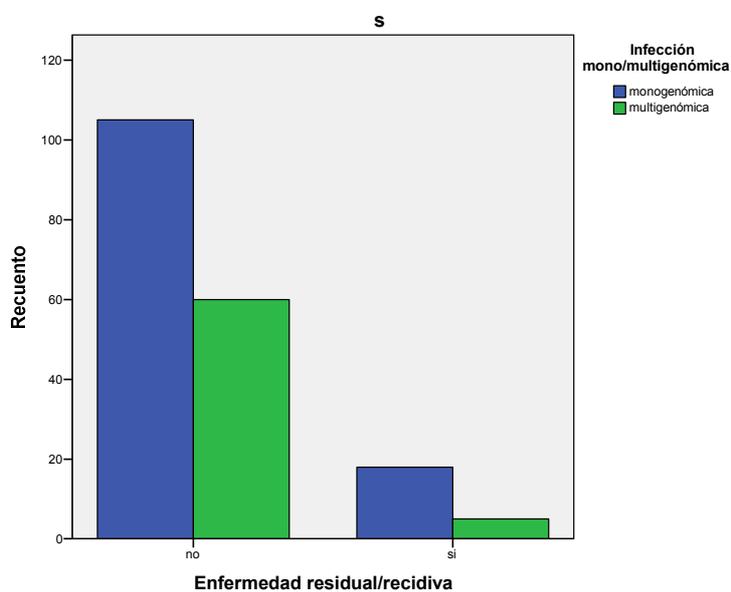


Figura 123: Distribución de tipos de infección por categoría diagnóstica en enfermedad residual/recidiva

Teniendo en cuenta el genotipado, observamos que el genotipo más prevalente fue el HPV 16 que estaba presente en 15 casos (48 %), en 11 casos (34,4 %) de forma aislada y en el resto asociado a otros virus de AR (4 casos), excepto un caso asociado a HPV de BR. El segundo genotipo más frecuente fue el HPV 33, que estaba presente en 3 casos (9,4 %). En 7 casos (21,9 %) el resultado fue negativo. El *test* no se realizó en 3 casos (9,4 %).

Genotipo HPV inicial		
	Frecuencia	Porcentaje
Bajo Riesgo	1	3,1
16	11	34,4
18	1	3,1
33	3	9,4
39	1	3,1
16 y 31	1	3,1
16 y AR	2	6,3
18 y AR	1	3,1
otros AR	1	3,1
16 y BR	1	3,1
negativo	6	18,8
no realizado	3	9,4
Total	32	100

Tabla 69: Distribución de genotipos HPV inicial en enfermedad residual/recidiva

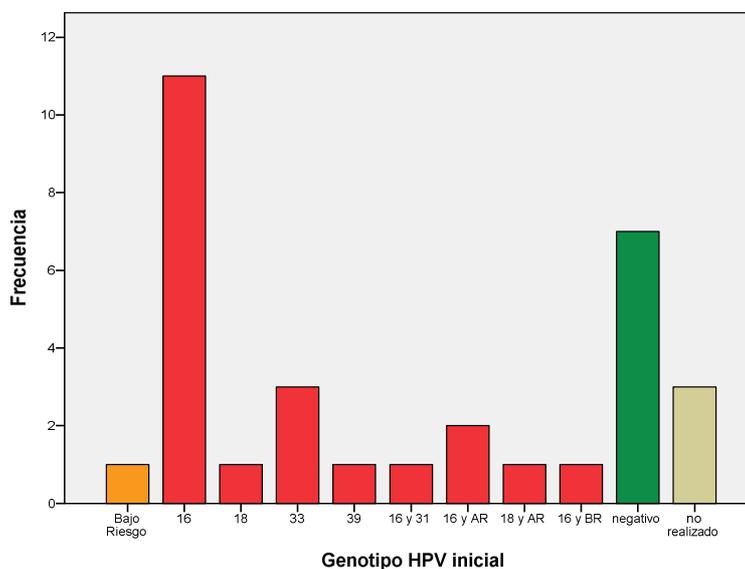


Figura 124: Distribución genotipos HPV inicial en enfermedad residual/recidiva

V.5.2.G.- Diagnóstico en la pieza de conización inicial

Tamaño de la lesión

Sólo se especificaba el tamaño en el informe anatomopatológico de 28 casos (59,6%), con un tamaño medio observado de 8,0 mm. El tamaño mínimo fue de 4,0 y el máximo de 15,0 mm.

Estado de los bordes en la pieza de conización

En 19 casos (59,4 %) existía afectación de los bordes quirúrgicos, siendo negativos en 9 casos (28,1 %). En el resto de casos (4) existía un marcado artefacto de electrocoagulación que impedía su valoración.

Bordes pieza de conización		
	Frecuencia	Porcentaje
artefacto	4	12,5
negativos	9	28,1
positivos	19	59,4
Total	32	100

Tabla 70: Distribución del estado de los bordes en la pieza de conización en enfermedad residual/recidiva

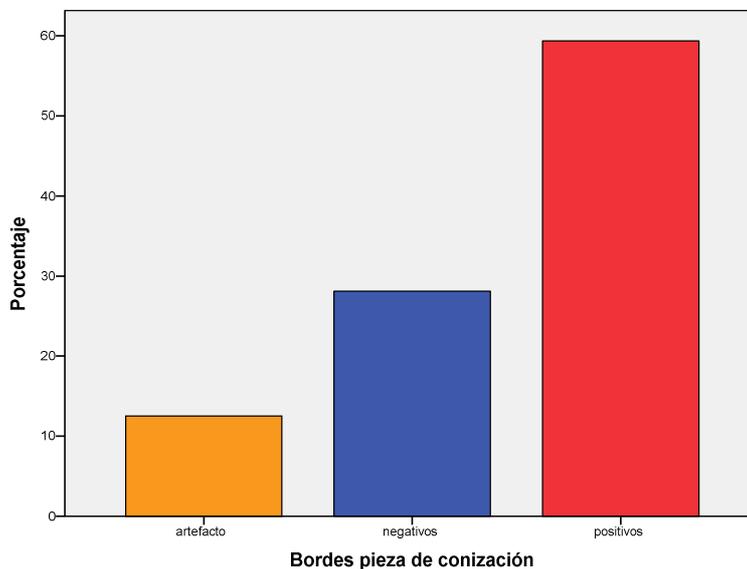


Figura 125: Distribución de estado de los bordes de la pieza de conización en enfermedad residual/recidiva

Respecto al borde afecto, en 6 casos (18,8 %) se observó afectación del borde endocervical y en 5 casos (15,6 %) del borde exocervical. También en 8 casos (25 %) el borde fue positivo aunque no se especificaba la localización.

Bordes afectados		
	Frecuencia	Porcentaje
negativo	13	40,6
positivo sin especificar	8	25,0
exocervical	5	15,6
endocervical	6	18,8
Total	32	100

Tabla 71: Distribución de localización del borde afecto en la pieza de conización de enfermedad residual/recidiva

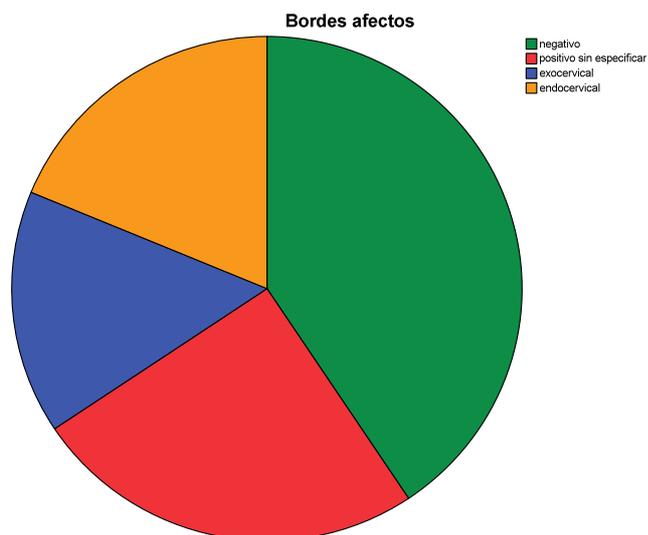


Figura 126: Distribución de localización de borde afecto en enfermedad residual/recidiva

Relación entre lesión residual/recidiva y estado de los bordes quirúrgicos en la pieza de conización

Hemos observado una relación estadísticamente significativa al relacionar el estado de los bordes quirúrgicos de la pieza de conización y la presencia de enfermedad residual o recidiva, ($\chi^2= 54,33$ y $p=0,01$). En 19 de los 32 casos con enfermedad residual (59,4%) los bordes quirúrgicos de la pieza estaban afectados, y sólo en 9 casos (28,1 %) eran negativos. La mayor parte de los casos en cuya evolución no se presentó enfermedad residual o recidiva, 227 de 269 (84,4 %) los bordes fueron negativos y sólo en 32 casos (11,9 %) eran positivos.

Residual/recidiva		Bordes pieza de conización			Total
		artefacto	negativos	positivos	
no	N	10	227	32	269
	%	3,7%	84,4%	11,9%	100%
si	N	4	9	19	32
	%	12,5%	28,1%	59,4%	100%
Total	N	14	236	51	301
	%	4,7%	78,4%	16,9%	100%

Tabla 72: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre enfermedad residual/recidiva y estado de los bordes quirúrgicos

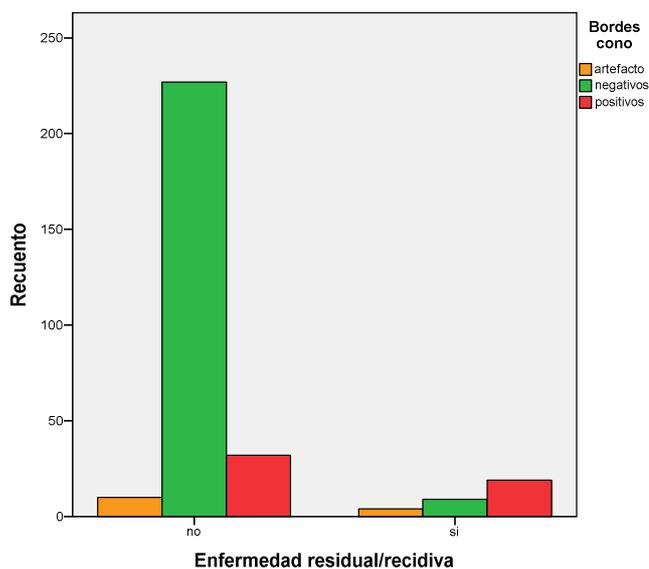


Figura 127: Distribución de estado de los bordes quirúrgicos y enfermedad residual/recidiva

V.5.2.H.- Citología y *test* ADN-HPV postconización

En 13 casos (40,6 %) no se realizó ninguna prueba diagnóstica en los 12 meses de seguimiento postconización. En 10 casos (31,3 %) se observó un resultado positivo:

Citología anómala: 7 casos (21,9 %)

Test ADN-HPV positivo: 2 casos (6,3 %)

Ambas pruebas positivas: 1 caso (3,1 %)

Citología/test ADN-HPV 12 meses		
	Frecuencia	Porcentaje
negativo	9	28,1
cito +	7	21,9
hpv +	2	6,3
cito + hpv	1	3,1
no realizado	13	40,6
Total	32	100

Tabla 73: Distribución de resultados en pruebas realizadas durante 12 meses postcono en enfermedad residual/recidiva

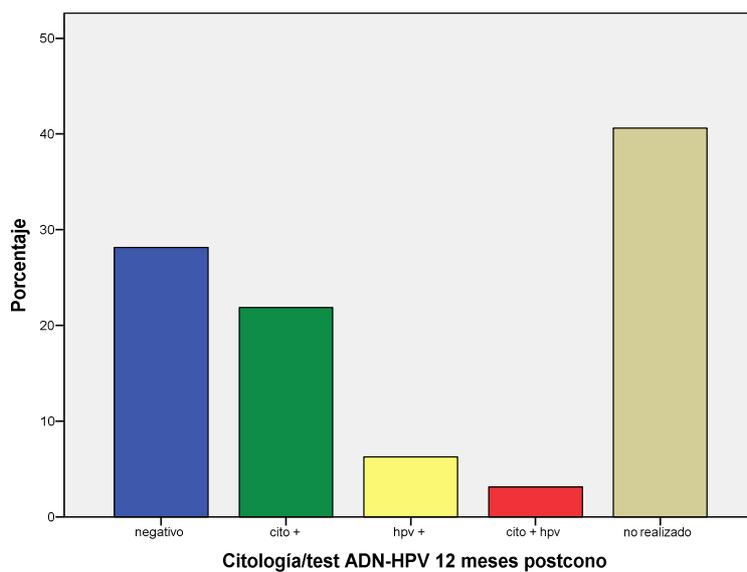


Figura 128: Distribución resultados pruebas 12 meses postcono en enfermedad residual/recidiva

V.5.2.I.- Tratamiento complementario

En la mayor parte de los casos, 18 de 32 (56,3 %), se realizó posteriormente reconización y en 7 casos (21,9 %) histerectomía. En el resto de casos (7) se realizaron ambos procedimientos quirúrgicos.

Tratamiento complementario		
	Frecuencia	Porcentaje
reconización	18	56,3
histerectomía	7	21,9
ambos	7	21,9
Total	32	100

Tabla 74: Distribución tratamiento complementario en enfermedad residual/recidiva

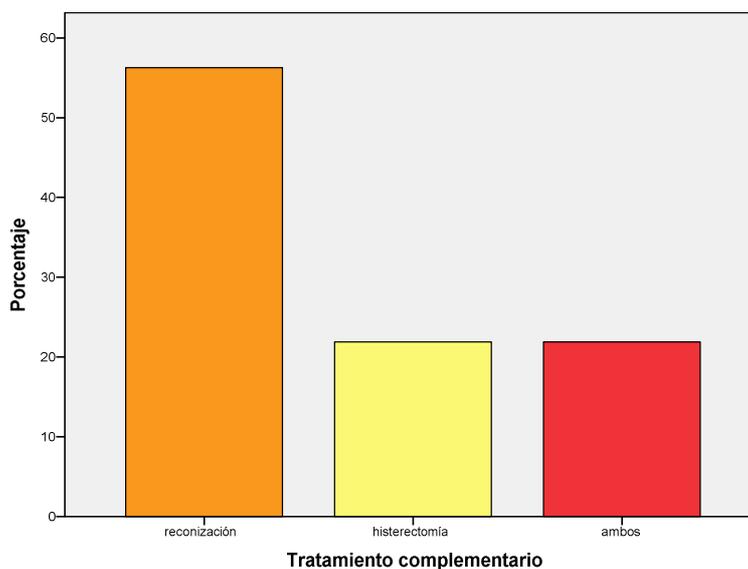


Figura 129: Distribución tratamiento complementario en enfermedad residual/recidiva

Relación entre el estado de los bordes de resección y la realización de tratamiento complementario

Al relacionar el estado de los bordes de resección en la pieza de conización y el tratamiento complementario realizado hemos observado que existía afectación previa de los bordes en el 55,6 % de los casos reconizados, en el 57,1 % (4 casos) de histerectomía y en el 71,4 % (5 casos) de casos tratados con ambos procedimientos. En el 27,8 % (5 casos) de reconizaciones y en el 28,6 % (2 casos) de histerectomías y ambos tratamientos no tenían afectación previa de los bordes quirúrgicos. No se observó relación estadísticamente significativa ($\chi^2= 1,41$ y $p=0,97$).

Tto complementario		Bordes cono			Total
		artefacto	negativos	positivos	
reconización	N	3	5	10	18
	%	16,7%	27,8%	55,6%	100%
histerectomía	N	1	2	4	7
	%	14,3%	28,6%	57,1%	100%
ambos	N	0	2	5	7
	%	0,0%	28,6%	71,4%	100%
Total	N	4	9	19	32
	%	12,5%	28,1%	59,4%	100%

Tabla 75: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre estado de los bordes y tipo de tratamiento complementario en enfermedad residual/recidiva

V.5.2.I.1.- Reconización

En todos los casos el diagnóstico en la pieza de reconización fue HSIL, que concordaba con el diagnóstico en la pieza de conización.

En el control citológico realizado a los 6 meses, el cual sólo se realizó en 8 de los 18 casos, sólo se detectaron alteraciones citológicas en 3 casos informadas como LSIL y en el resto de los casos como normal.

Respecto al *test* ADN-HPV, sólo se realizó en 3 casos y su resultado fue negativo.

Los resultados citológicos a los 12 meses postconización, llevados a cabo en 13 de los 18 casos (72,3 %), fueron los siguientes:

normal: 12 casos (66,7 %)

HSIL: 1 caso (5,6 %)

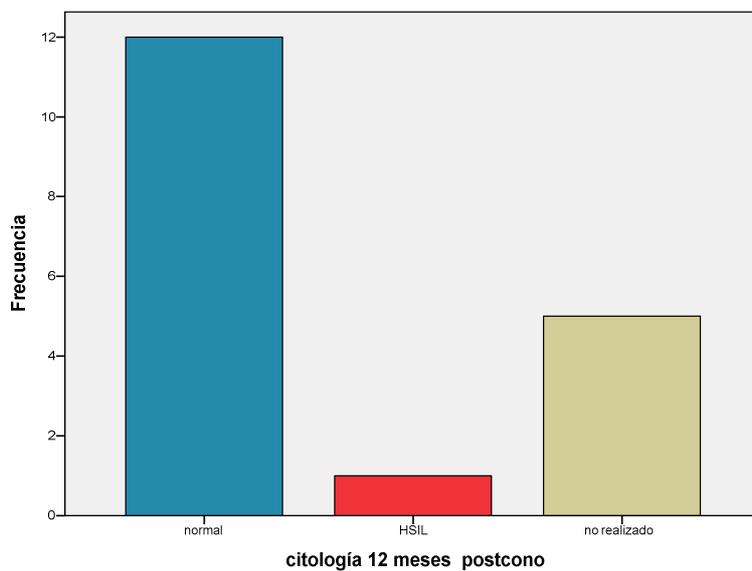


Figura 130: Distribución de resultados citológicos a los 12 meses en enfermedad residual/recidiva

El *test* ADN-HPV realizado a los 12 meses fue positivo en 3 casos (16,7 %), con 2 casos de infección persistente por el mismo genotipo viral (HPV 16) y en 1 caso con infección por otro genotipo viral (ambos de alto riesgo).

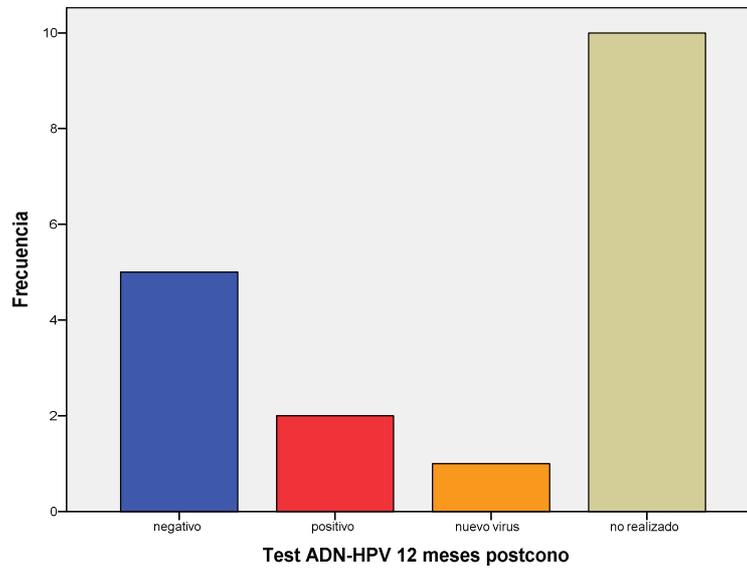


Figura 131: Distribución de resultados *test* ADN-HPV 12 meses postcono en enfermedad residual/recidiva

V.5.2.I.2.- Histerectomía

Se realizó histerectomía en 7 casos, en los que el diagnóstico histológico fue el siguiente:

6 casos (85,7 %) con diagnóstico de HSIL

1 caso (14,3 %) con adenocarcinoma.

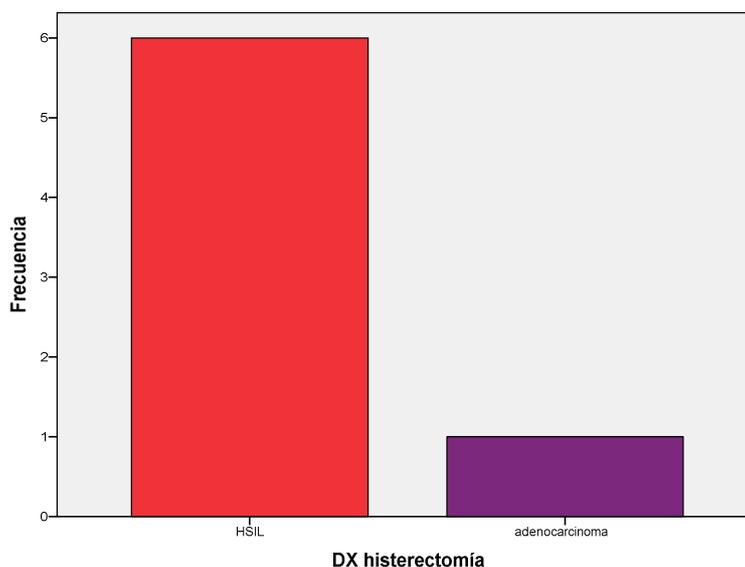


Figura 132: Distribución de categoría diagnóstica en pieza de histerectomía en enfermedad residual/recidiva

Todos los casos con enfermedad residual y recidiva a los que se les realizó histerectomía habían sido diagnosticados de HSIL en la pieza de conización.

Sólo se realizó citología a los 6 y 12 meses postconización en un caso, cuyo resultado fue positivo (HSIL). También a los 6 meses se realizó el *test* ADN-HPV a un caso cuyo resultado fue positivo (virus de BR).

V.5.2.I.3.- Reconización e histerectomía

En 7 de los 32 casos se realizó primero tratamiento con reconización y posteriormente histerectomía. Los diagnósticos de ambas piezas quirúrgicas fueron los siguientes

Reconización

HSIL en 6 casos (85,7 %)

Normal (negativo para displasia) en un caso (14,3 %)

Al compararlo con el diagnóstico en la pieza de conización inicial, encontramos un único caso de diagnóstico negativo para displasia en la pieza de reconización cuyo diagnóstico inicial fue de LSIL, mientras que en el resto de casos se observó concordancia entre los hallazgos histológicos previos y la pieza de reconización (85,7 %).

Diagnóstico cono		Diagnóstico recono		Total
		negativo	HSIL	
LSIL	Nº	1	0	1
	%	100%	0,0%	100%
HSIL	Nº	0	6	6
	%	0,0%	100%	100%
Total	Nº	1	6	7
	%	14,3%	85,7%	100%

Tabla 76: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre categoría diagnóstica entre cono y recono en enfermedad residual/recidiva

Histerectomía

En 5 casos (71,4 %) el diagnóstico fue de HSIL y en los otros 2 casos no se observó lesión residual .

Al compararlo con el diagnóstico histológico en la pieza de reconización se observó lesión de similar grado de displasia respecto a HSIL en 4 casos (66,7 %). En 2 casos (33,3 %) que habían mostrado HSIL en la pieza de reconización no se observó lesión residual en la pieza de histerectomía, y un caso sin lesión residual en la pieza de reconización mostró recidiva de la lesión (HSIL) en la pieza de histerectomía. Destaca el hecho de que este caso había sido diagnosticado inicialmente de LSIL en la pieza de reconización y sin displasia en la pieza de reconización.

Diagnóstico recono		DX histerectomía		Total
		normal	HSIL	
negativo	N	0	1	1
	%	0,0%	100%	100%
HSIL	N	2	4	6
	%	33,3%	66,7%	100%
Total	N	2	5	7
	%	28,6%	71,4%	100%

Tabla 77: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre categoría diagnóstica en la pieza de reconización y en la pieza de histerectomía

V.6.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS DIAGNÓSTICOS EN LA ÚLTIMA CITOLOGÍA Y TEST ADN HPV REALIZADO

Al revisar la última citología realizada en todos los casos de la serie obtuvimos los resultados que se muestran en la siguiente tabla:

última citología	Frecuencia	Porcentaje
normal	141	44,8
LSIL	3	1,0
no realizada	171	54,3
Total	315	100

Tabla 78: Distribución de resultados citológicos en la última citología

En el 54,3% de los casos no se realizó una citología posterior a la efectuada a los 12 meses postconización. En los casos en los que sí teníamos citología posterior observamos el siguiente resultado:

Normal (negativo para displasia): en el 44,8 % de los casos

LSIL: 1 % (3 casos)

Persistencia de HPV a los 12 meses post-tratamiento y resultado de la última citología:

En los casos con persistencia viral, 5 casos, no tuvimos citología posterior a los 12 meses en 4 casos y en el caso restante el resultado citológico fue de LSIL. En resto de casos con diagnóstico LSIL, 2 casos, no se realizó este estudio. Se observó también infección por un nuevo virus HPV en 18 casos, de los que sólo se realizó citología en 7 casos cuyo resultado fue normal. ($\chi^2 = 14,59$ y $p=0,02$).

Dx última citología		Test ADN-HPV 12 meses postcono				Total
		negativo	positivo	nuevo virus	no realizado	
normal	N	4	0	7	57	68
	%	5,9%	0,0%	10,3%	83,8%	100%
LSIL	N	0	1	0	2	3
	%	0,0%	33,3%	0,0%	66,7%	100%
no realizado	N	37	4	11	192	244
	%	15,2%	1,6%	4,5%	78,7%	100%
Total	N	41	5	18	251	315
	%	13,0%	1,6%	5,7%	79,7%	100%

Tabla 79: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre *test* ADN –HPV a los 12 meses postcono y resultado de la última citología

Resultados de la última citología y último *test* HPV

Si relacionamos estos resultados, observamos que de los 3 casos con diagnóstico de LSIL:

- a) un caso el *test* HPV fue negativo
- b) otro caso tenía infección por HPV 16
- c) y en el último caso se observó infección múltiple por HPV 71 y 84

En el resto de casos con positividad paratest HPV, tanto de genotipos de alto como de bajo riesgo, no se observó resultado citológico anómalo.

V.7.- CASOS ESPECIALES

V.7.1.- PACIENTES EMBARAZADAS

En nuestro estudio hemos obtenido 7 casos en los que el diagnóstico de la lesión preneoplásica fue realizado cuando las pacientes estaban embarazadas. Dado que el diagnóstico de lesión preneoplásica de alto grado durante el embarazo conlleva una serie de actuaciones que han de tener en cuenta el grado de la lesión, el número de semanas de gestación, la edad fetal (valoración de la madurez fetal) así como seguimiento mediante citologías, colposcopia y biopsia si procede antes de tomar una decisión terapéutica.

Análisis descriptivo

Diagnóstico histológico en la pieza de conización

En 4 de los 7 casos de mujeres embarazadas el diagnóstico fue de HSIL y en el resto (3 casos), de carcinoma epidermoide. El porcentaje se presenta en la siguiente tabla:

Diagnóstico pieza de conización		
	Frecuencia	Porcentaje
HSIL	4	57,1
Carcinoma epidermoide	3	42,9
Total	7	100

Tabla 80: Distribución categorías diagnósticas en pieza de conización de embarazadas

Edad

La edad de las pacientes oscilaba entre 26 y 36 años, con una media de 31,6 años.

Gestaciones/aborto/paridad

El número medio de gestaciones oscilaba entre 0 y 8, con una media por paciente de 2,9; de abortos el número medio fue de 1,86, con un rango entre 0 y 8 y respecto al número de partos, la media fue de 2,1 por caso, con un rango entre 0 y 8.

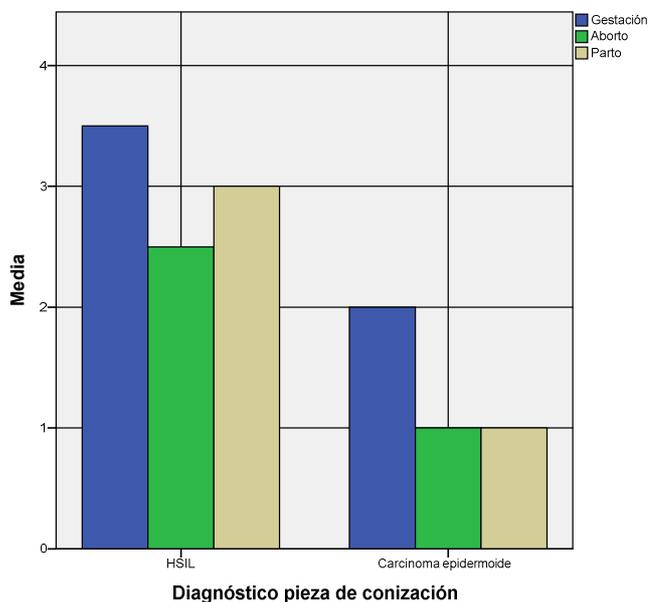


Figura 133: Distribución de la media de gestaciones, abortos y parto en embarazadas

Hábito tabáquico

En cuanto al hábito tabáquico, predominaban los casos sin datos reflejados en la historia clínica de las pacientes, 5 casos en total (71,4 %), además de un caso de paciente fumadora y otro caso no fumadora.

Hábito tabáquico		
	Frecuencia	Porcentaje
no fumador	1	14,3
fumador	1	14,3
sin datos	5	71,4
Total	7	100

Tabla 81: Distribución del hábito tabáquico en embarazadas

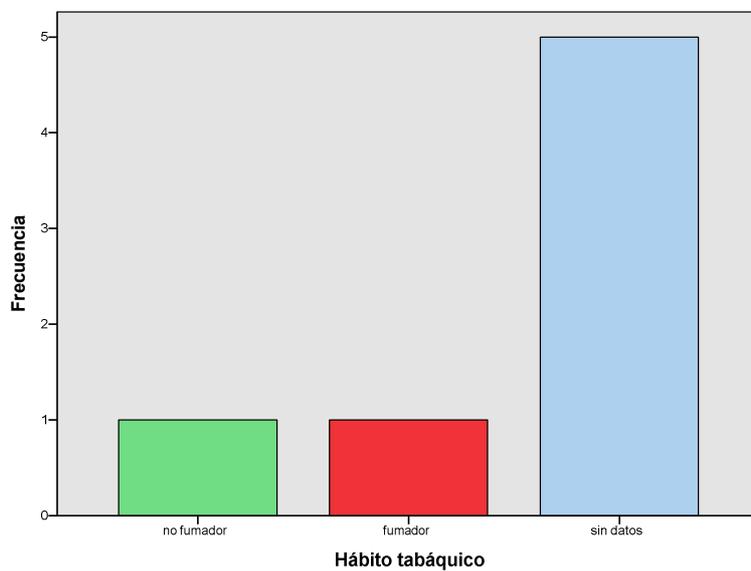


Figura 134: Distribución del hábito tabáquico en embarazadas

Al relacionar el hábito tabáquico y el diagnóstico histológico en el cono hemos observado un caso de HSIL en paciente fumadora y otro caso en paciente no fumadora. Respecto a los 3 casos de carcinoma epidermoide no obtuvimos datos relacionados con este hábito

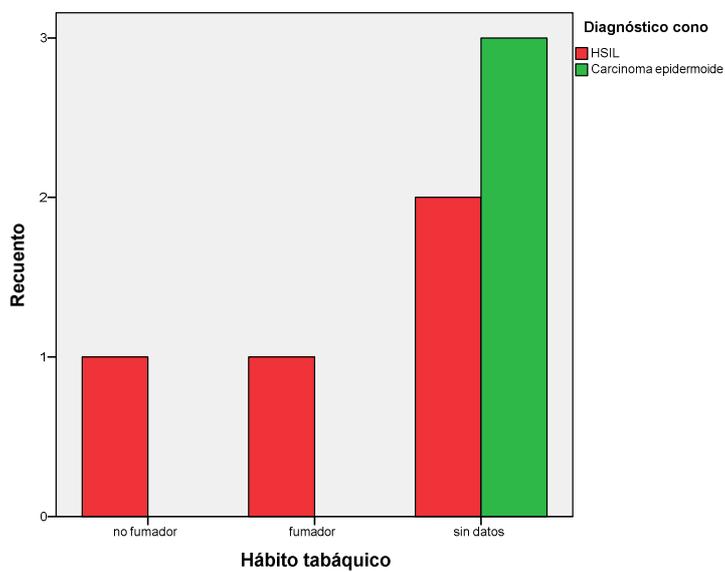


Figura 135: Distribución del hábito tabáquico por categoría diagnóstica en embarazadas

Uso de ACO

Los datos sobre el uso de anticonceptivos hormonales se presentan en la siguiente tabla:

Frecuencia		
	Frecuencia	Porcentaje
no ACO	3	42,9
ACO	4	57,1
Total	7	100

Tabla 82: Distribución del uso de ACO en embarazadas

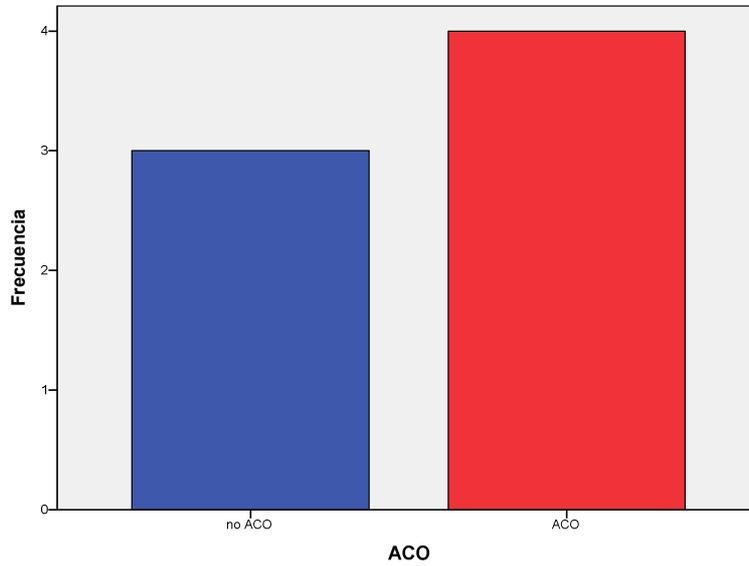


Figura 136: Distribución del uso de ACO en embarazadas

Al relacionar el uso de anticonceptivos orales y el grado de lesión, hemos observado una relación similar entre el uso o no de los mismos y el grado de lesión.

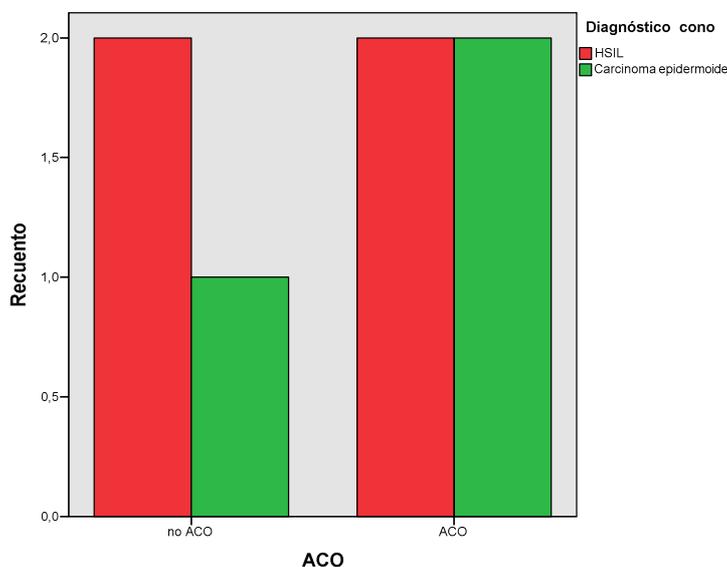


Figura 137: Distribución de uso de ACO por categoría diagnóstica en embarazadas

Inmunidad

Sólo 1 de los 7 casos (14,3 %) presentaba alteraciones del estado inmunitario, se trataba de una paciente con infección por HIV.

Citología

En 1 de los 7 casos se diagnosticó de HSIL, en otro caso de LSIL y en los restantes casos (5), no se observaba lesión displásica.

HPV inicial

En ninguno de los casos se realizó *test* ADN-HPV.

Colposcopia

En el 85,7 % (6 casos) se observaron cambios menores y en un caso no se observaron alteraciones y se informó como normal.

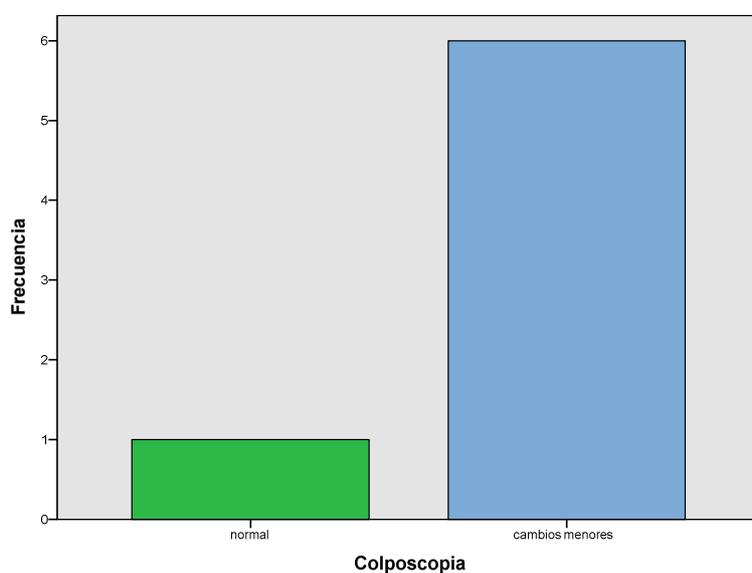


Figura 138: Distribución de frecuencias de los hallazgos colposcópicos en embarazadas

Al relacionar los hallazgos colposcópicos con el grado de lesión, el caso informado como hallazgos compatibles con la normalidad se correspondía con el diagnóstico histológico de HSIL.

	Diagnóstico cono		Total
	HSIL	Carcinoma epidermoide	
Normal	1	0	1
cambios menores	3	3	6
Total	4	3	7

Tabla 83: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre categoría diagnóstica y los hallazgos colposcópicos en embarazadas

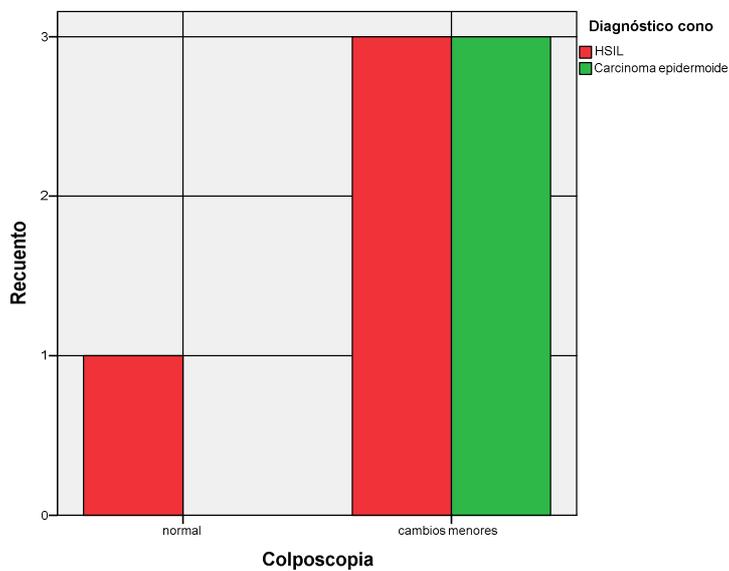


Figura 139: Distribución de los hallazgos colposcópicos por categoría diagnóstica en embarazadas

Biopsia

La toma de biopsia cervical se realizó en todos los casos, de los cuales 5 (71,4 %) se diagnosticaron de HSIL y en los 2 casos restantes de carcinoma epidermoide (28,6 %).

Diagnóstico biopsia		
	Frecuencia	Porcentaje
HSIL	5	71,4
carcinoma epidermoide	2	28,6
Total	7	100

Tabla 84: Distribución de diagnóstico en biopsia cervical en embarazadas

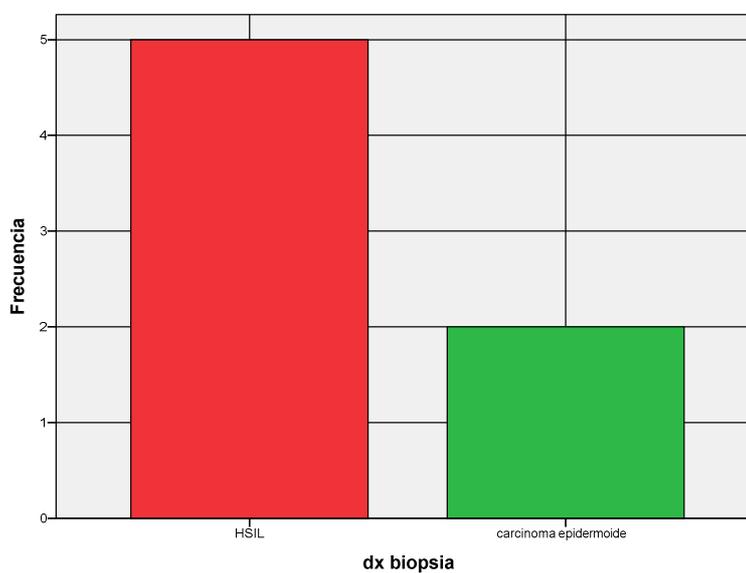


Figura 140: Distribución de la categoría diagnóstica en biopsia en embarazadas

Pieza de conización

Diagnóstico

En la pieza de conización el diagnóstico histológico fue el siguiente:

HSIL en 4 casos (57,1 %)

Carcinoma epidermoide en 3 casos (42,9 %)

Diagnóstico pieza de conización		
	Frecuencia	Porcentaje
HSIL	4	57,1
carcinoma epidermoide	3	42,9
Total	7	100

Tabla 85: Distribución de categoría diagnóstica en pieza de conización en embarazadas

Al relacionar el diagnóstico en la biopsia y en la pieza de conización observamos que en el 75,0 % de los casos (3) diagnosticados de HSIL en la pieza habían sido diagnosticados de HSIL en la biopsia y en el otro 25,0 % (1 caso) había sido sobrediagnosticado de carcinoma epidermoide. De los 3 casos de carcinoma epidermoide sólo fue diagnosticado de tal un caso (33,3 %) y el resto (2 casos) fueron diagnosticados de HSIL.

		Diagnóstico biopsia		Total
		HSIL	carcinoma epidermoide	
HSIL	N	3	1	4
	%	75,0%	25,0%	100%
carcinoma epidermoide	N	2	1	3
	%	66,7%	33,3%	100%
Total	N	5	2	7
	%	71,4%	28,6%	100%

Tabla 86: Tabla de contingencia para el estudio de la asociación entre categoría diagnóstica en pieza de conización y biopsia en embarazadas

Tamaño

El tamaño medio de la lesión, en los 6 casos en los que se referenciaba en el informe anatomopatológico, fue de 5,6 mm, con un rango entre 3,0 y 10,0 mm. En uno de los casos no se incluía el tamaño en el informe histológico.

Localización

En 3 casos (42,9 %) se identificaba en el labio posterior y en otro caso (14,3 %) en exocérvix. En el resto de los casos no se especificaba localización alguna.

Bordes

Sólo en 3 casos (42,9 %) se observó afectación del borde quirúrgico, uno en el borde exocervical, otro en el borde endocervical y el restante tenía afectación de ambos bordes.

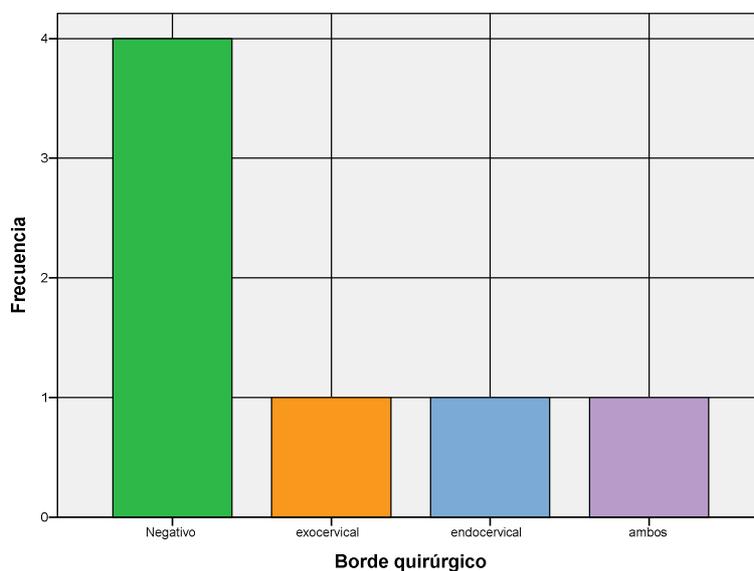


Figura 141: Distribución del estado de los bordes de conización en embarazadas

Seguimiento

El seguimiento medio postconización fue de 45 meses, con un rango entre 17 y 84 meses.

Citología 6 y 12 meses post-conización

El resultado se refleja en la siguiente tabla, en la que se refleja que sólo hubo un caso (14,3 %) diagnosticado de LSIL en la citología realizada a los 12 meses.

Diagnóstico:	Citología 6 meses	Citología 12 meses
No realizado	2 (28,6%)	4 (57,1% ⁹)
Normal	5 (71,4% ⁹)	2 (28,6%)
LSIL	0	1 (14,3%)
Total de casos	7	7

Tabla 87: Distribución de resultados citológicos a los 6 y 12 meses postcono en embarazadas

Test ADN-HPV 6 y 12 meses postcono

De los dos casos positivos, ambos en el control a los 12 meses, uno lo fue por HPV 16 y el otro por HPV 31.

Test ADN-HPV	6 meses	12 meses
No realizado	4 (57,2%)	4 (57,2%)
Negativo	3 (42,8%)	1 (14,3%)
Positivo	0	2 (28,5%)
Total de casos	7	7

Tabla 88: Distribución de resultado *test* ADN-HPV a los 6 y 12 meses postcono en embarazadas

Tratamiento complementario

Sólo en dos casos (28,6 %) se realizó tratamiento complementario adicional, con diagnóstico de LSIL y HSII respectivamente.

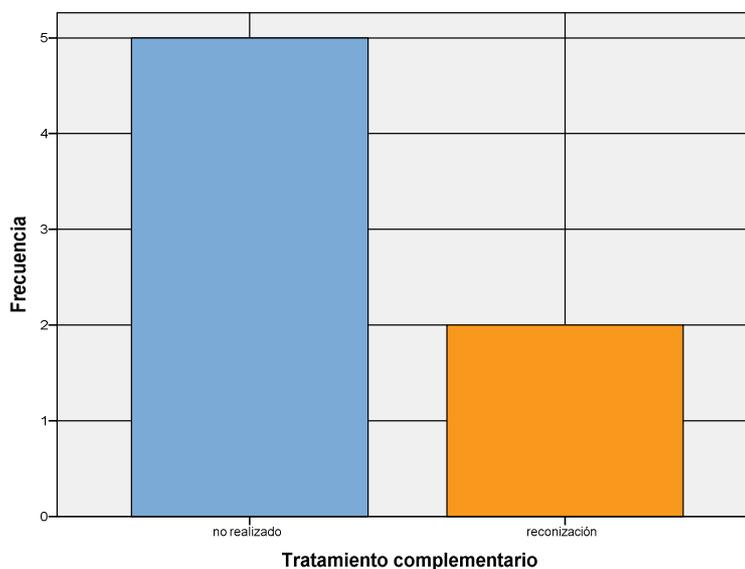


Figura 142: Distribución de tratamiento complementario en embarazadas

V.7.2.- PACIENTE CON VAIN

En la muestra estudiada sólo en un caso se ha observado lesión preneoplásica posterior en otra localización del tracto ano-genital, concretamente en vagina.

Se trata de una paciente de 34 años, inmunocompetente, cuyos antecedentes obstétricos eran: dos gestaciones previas, un aborto y un parto, uso de ACO, sin datos sobre hábito tabáquico, que es remitida a consulta de enfermedad cervical por resultado anómalo en citología previa realizada en consulta privada de ginecología. El resultado citológico fue de HSII y el *test* ADN-HPV demostró infección por HPV 16. Se le realizó colposcopia que fue informada de “cambios mayores” y se le realizó una biopsia de cérvix (localizada en 2, 4, 7 y 9 h) cuyo resultado histológico fue de HSIL (CIS). A

los 5 meses se le realizó conización con asa de diatermia, mostrando en la pieza quirúrgica 2 lesiones diagnosticadas de HSIL (CIS) en labio anterior y labio posterior, con un tamaño de 14,0 y 5,0 mm respectivamente. Existía afectación del borde quirúrgico exocervical. La paciente ha sido seguida durante 30 meses, sin mostrar alteraciones en los controles posteriores a los 6 y 12 meses postcono. En el último control, realizado a los 36 meses postcono, la citología mostró cambios de LSIL y *test* ADN-HPV positivo, con infección por HPV 54 y 62. Se le realizó estudio colposcópico observando una lesión en la cúpula vaginal, de la que se tomó muestra. El resultado de la biopsia fue de VAIN 2.

VI.- DISCUSIÓN

En la bibliografía científica existen muchas publicaciones sobre la infección por HPV en el cérvix uterino y sus implicaciones en la carcinogénesis, así mismo, en los últimos años, se ha observado también un incremento en el número de artículos relacionados con la implicación de este virus en cáncer del área ORL.

En el presente estudio no hemos tenido en cuenta aspectos importantes relacionados con el riesgo de infección por HPV, como la edad de inicio de las relaciones sexuales, el número de parejas sexuales o relaciones sexuales de riesgo, dado que en la mayor parte de las historias clínicas que fueron revisadas no se especificaba. Tampoco se han podido valorar los factores socioeconómicos ni las deficiencias nutricionales que se relacionan con el cáncer de cérvix uterino.

Tras el análisis de los datos obtenidos en la revisión de los casos de nuestra serie realizaremos una comparación con otros estudios previos relacionados con la infección por HPV y oncogénesis.

Centraremos la discusión de los resultados obtenidos sobre:

VI.1.-DATOS EPIDEMIOLÓGICOS: EDAD

En 2012 Kocken et al. publicaron un meta-análisis de 9 estudios previos realizados desde 2003 hasta 2011 sobre 1.705 pacientes conizadas mediante diferentes métodos quirúrgicos y observaron un rango de edad que oscilaba entre los 19 y los 83 años.

En nuestra serie hemos observado una media de edad de 36,8 años, con un rango de edad entre los 20 y los 77 años, cifras que no difieren significativamente de las de otros estudios, como mencionan Kocken et al. Así mismo se ha observado que el 67.3% de los casos de nuestra serie se tenían una edad comprendida entre los 31 y los 50 años

de edad, lo que es comparable a otros estudios. También observamos que el 6% de las pacientes tenían más de 50 años, incluyendo un caso de 77 años.

VI.2.- COFACTORES IMPLICADOS EN LA ADQUISICIÓN DE LA INFECCIÓN: ANTECEDENTES OBSTÉTRICOS

Como hemos comentado previamente, las alteraciones hormonales que se producen durante el periodo de gestación provocan una serie de modificaciones en el cérvix uterino, así como de la respuesta inmune local, facilitando tanto la infección por el virus como la persistencia de la infección, todo lo cual conlleva un riesgo para el desarrollo de lesión displásica o carcinoma.

En nuestra serie, el número medio de gestaciones por paciente fue de 2,1 con un rango entre 0 y 8 y el número medio de abortos fue de 0,9 y su rango oscilaba entre 0 y 8. Además, el número medio de partos fue de 1,8 con un rango también entre 0 y 8.

En un trabajo realizado por Muñoz et al. (2002) en el que recogieron información de diez estudios casos-control realizados sobre población con *test* ADN-HPV positivo de cuatro continentes diferentes, de los cuales ocho fueron realizados sobre pacientes con carcinoma infiltrante de cérvix y los otros dos en pacientes con carcinoma *in situ*. En conjunto se obtuvieron datos de 1.465 casos con carcinoma epidermoide, 211 con carcinoma *in situ*, 124 con adenocarcinoma o carcinoma adenoescamoso y 255 casos control con carcinoma *in situ*, encontrándose una

asociación directa entre el número de embarazos a término y el riesgo de desarrollar cáncer de cérvix. Observaron un riesgo de 3,8 (odds ratio) en mujeres que habían tenido siete o más embarazos a término comparado con los casos de mujeres nulíparas y de 2.3 si se comparaba con mujeres que habían tenido sólo uno o dos embarazos. Incluso reflejaron la posible relación entre la disminución de casos de cáncer de cérvix observados en mujeres de diferentes países en los que también se observaba una disminución de la tasa de embarazos. No observaron relación significativa entre el desarrollo de adenocarcinoma o carcinoma adenoescamoso y el número de embarazos a término. En este estudio se observó una media de partos que oscilaba entre 1,1 y 1,4.

Algunos de los estudios revisados dan un gran valor no sólo al número de partos sino también al ratio de fertilidad total (recién nacidos vivos por mujer). En España, según los datos de HPV Centre el ratio total de fertilidad es de 1,4. Algunos de estos estudios, como el de Muñoz et al. en 2002 y el de Castellsagué et al. en 2003, sugieren que mujeres con una alta paridad (tres o más embarazos) tienen mayor riesgo de desarrollar cáncer de cérvix que las nulíparas; este riesgo se estima alrededor de 2,6 veces mayor si el número de partos es de tres o cuatro, y de 3,8 veces si han tenido más de seis partos y se incrementa de forma lineal con el incremento del número de partos. Según estos autores y Sethi et al. en 1998, los cambios nutricionales, hormonales (incremento de los niveles del estrógeno y de la progesterona) y de las alteraciones inmunitarias que se producen durante el embarazo así como los traumatismos producidos durante el trabajo/proceso de parto explicarían este riesgo. Autier et al. en 1996 sugirieron que una alta paridad incrementaría el riesgo de desarrollar un carcinoma debido a una exposición prolongada de la zona de transformación del cérvix en el exocérvix, hecho que se produce de forma fisiológica durante el embarazo en sus etapas finales, y esto facilitaría la exposición directa al efecto viral además de a los otros cofactores implicados en el proceso carcinogénico.

En nuestro trabajo, sin embargo, tras estudiar la relación entre el número de

gestaciones y de abortos por caso con la lesión displásica o cáncer, no hemos observado una relación estadísticamente significativa ($p=0,68$ y $0,709$ respectivamente). En nuestra serie, a pesar de que no existía relación que implicara que a mayor número de gestaciones y abortos mayor grado de lesión, como se refleja en la bibliografía, ésta sí se observa aunque de manera no significativa, dado que el número medio de gestaciones en LSIL fue de 1,7, en los casos de HSIL de 2,2 y en el carcinoma epidermoide de 3,6. Respecto al número medio de gestaciones en los casos de adenocarcinoma fue de 1. Tampoco se ha observado relación estadísticamente significativa respecto al número de abortos, hecho que implicaría que a mayor número de abortos mayor grado de displasia o cáncer.

En nuestra serie, el número medio de partos ha sido ligeramente superior al reflejado en otros estudios. Al analizar la relación entre la paridad y el grado de lesión observamos una relación estadísticamente significativa, $p=0,03$, lo cual explica que a mayor número de partos mayor grado de lesión y carcinoma en la pieza de conización, hecho coherente con los resultados de las mencionadas publicaciones. El número medio de partos en los casos de carcinoma epidermoide fue casi el doble que en los casos de LSIL (3,4 y 1,4 respectivamente) aunque en los casos de adenocarcinoma sólo fue de un parto.

VI.3.- COFACTORES IMPLICADOS EN LA CARCINOGENESIS

VI.3.1.- HÁBITO TABÁQUICO

La *International Agency for Research on Cancer (IARC)* clasifica al hábito tabáquico como causa de cáncer de cérvix uterino. Applebey et al. en 2006 estimaron un riesgo incrementado de 1,5 veces mayor en mujeres fumadoras que en mujeres no fumadoras, el cual también depende del número de cigarrillos/día fumados. También observaron mayor riesgo de carcinoma in situ (83 % mayor) en mujeres fumadoras y un 32% mayor en mujeres que habían fumado pero que en el momento del diagnóstico no fumaban respecto a mujeres que nunca habían fumado.

La implicación del tabaco en la carcinogénesis relacionada con el HPV se ha descrito en diferentes estudios desde la década de los años 60 del siglo pasado, aunque fue Winkelstein el primero en formular una hipótesis sobre el efecto del tabaco sobre el cérvix uterino en 1977.

En 1998, Ho et al. y Olsen et al. relacionaron el hábito tabáquico con el cáncer de cérvix, el cual actuaría como un cofactor favoreciendo la carcinogénesis provocada por el virus HPV. El tabaco tiene un efecto carcinógeno directo sobre la mucosa cervical además de favorecer la cronicidad de la infección viral.

Hoy en día no sólo se valora si la paciente es fumadora activa, sino también si es fumadora pasiva, hecho que debería reflejarse en la historia clínica de la paciente. McCan et al. en 1992 y Poppe et al. en 1995, publicaron estudios realizados en

pacientes fumadoras y no fumadoras que tenían un resultado citológico cérvico-vaginal anómalo, observando la presencia de determinados metabolitos, como la cotinina y la nicotina en el moco del cérvix uterino tanto en el caso de las fumadoras activas como en las pasivas, hecho que podría contribuir a que las mujeres fumadoras pasivas tuvieran también riesgo incrementado de transformación displásica y carcinoma en el cérvix uterino (Bucley et al., 1981; Hellberg et al., 1986; Slattery et al., 1989; y Tay et al., 2004).

Zheng et al., en 2012, publicaron un meta-análisis basado en 3.230 casos y 2.982 controles, en el que observaron un 73 % más de riesgo de cáncer cervical en las mujeres expuestas al humo del tabaco que en las que nunca habían estado expuestas.

En España, según los datos reflejados en la “Encuesta Europea de Salud”, publicada por el Instituto Nacional de Estadística (INE), la población femenina mayor de 16 años que fumaba era del 23,8 % en 2006 y del 39,3 % en 2009. Según los datos recogidos en HPV Centre en 2014 la población femenina que fumaba era de un 27,7 %.

En nuestra serie se ha observado que un 41,0 % de los casos eran fumadoras en el momento del tratamiento quirúrgico. En nuestro caso, este dato, refleja un porcentaje elevado de pacientes fumadoras, aunque casi similar a los datos recogidos en 2009 sobre la población española.

McIntyre-Seltman et al. (2005) realizaron un seguimiento de dos años a 5.060 mujeres con un resultado citológico de ASCUS o LSIL cada 6 meses para poder determinar un protocolo de seguimiento adecuado de estas pacientes, además de evaluar los cofactores asociados como el hábito tabáquico, y observaron un mayor riesgo de desarrollar una lesión escamosa de alto grado o carcinoma en pacientes fumadoras con diagnóstico citológico de LSIL o ASCUS e infección por HPV de alto riesgo (AR) que en las pacientes no fumadoras.

En nuestra serie, al relacionar el hábito tabáquico y el diagnóstico histológico en la pieza de conización observamos lo siguiente:

- (a) En los casos diagnosticados de LSIL existía un ligero predominio de pacientes fumadoras con respecto a no fumadoras, alrededor de un 16,6 % más (58,3 % frente al 41,7 %)

- (b) En los casos de HSIL se observaba casi un 50 % más de casos de pacientes fumadoras que no fumadoras, con un 61,1 y un 38,9 % respectivamente

- (c) Respecto a los casos de carcinoma epidermoide observamos que 4 de cada 5 casos eran pacientes fumadoras, con un 75 % de casos fumadores y un 25 % de no fumadores

Todos estos resultados de nuestro estudio parecen coincidir con los de los autores y trabajos mencionados, sin embargo, las diferencias entre estas dos variables no resultaron estadísticamente significativas, lo que se justifica, en nuestra opinión, por el hecho de que no disponíamos de datos sobre este hábito en la historia clínica del 33,0 % de los casos revisados, si bien podemos suponer, por la tendencia observada en los resultados expuestos, que, de haber dispuesto de esta información en toda la muestra, se habría alcanzado la significación estadística.

VI.3.2.- USO DE ANTICONCEPTIVOS HORMONALES

El uso prolongado de anticonceptivos hormonales ha sido relacionado con el desarrollo de carcinoma de cérvix y lesiones preneoplásicas en numerosos estudios de casos-control de mujeres con *test* ADN-HPV positivo, cuyo riesgo disminuiría tras el cese de su uso. (Moreno et al., 2002; Smith et al., 2003; Applebey et al., 2007). En 1993, *WHO Collaborative Study of Neoplasia and Steroid Contraceptives* mostró que el riesgo relativo para desarrollar carcinoma de cérvix en mujeres que utilizaban anticonceptivos hormonales que contenían sólo progesterona como el acetato de medroxiprogesterona de depósito (MDPA) era de 1,2 e incluso si se utilizaban durante más de cinco años el riesgo podía llegar a 2,4. Moodley et al. (2003) sugirieron que las hormonas esteroideas podrían incrementar la expresión de E6 y E7 del HPV 16 degradando el producto del gen p53, hecho que produciría un fallo de la apoptosis con el consiguiente riesgo oncogénico asociado.

Un meta-análisis realizado en 2002 por Moreno et al. que incluía a 10 estudios de casos-controles de pacientes con carcinoma de cérvix, en los que se incluían también casos de carcinoma in situ, mostró que el uso prolongado de anticonceptivos hormonales en mujeres *test* ADN-HPV positivas podría incrementar hasta 4 veces el riesgo de cáncer de cérvix.

En 2007 se publicó otro meta-análisis realizado por *Internacional Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer* que analizó veinticuatro estudios mundiales con datos de 16.573 pacientes con cáncer de cérvix y de 35.509 mujeres sin cáncer de cérvix, concluyendo que el uso prolongado de anticonceptivos hormonales (cinco o más años) o el comienzo de su uso a edades más tardías está asociado a un incremento del riesgo de desarrollar cáncer de cérvix.

En 2011 Marks et al., en un estudio realizado sobre 1.070 mujeres tailandesas con uso prolongado de anticonceptivos hormonales, concluyeron que el uso prolongado de

anticonceptivos hormonales combinados (más de seis años) está asociado a un incremento en el riesgo de infección por HPV, hecho que es independiente de la conducta sexual de la paciente. Así mismo no observaron esta asociación en mujeres que usaban anticonceptivos monofásicos con progesterona. Posteriormente, ese mismo año, en 2011, publicaron otro artículo en el que tras el seguimiento de esos mismos casos observaron que sólo existía un mínimo riesgo y no estadísticamente significativo de infección por un nuevo genotipo viral, aunque sí demostraron un riesgo incrementado de persistencia de la infección por HPV con fuerte asociación estadística debido a la disminución del aclaramiento viral.

Desde hace varios años se realiza en España una encuesta sobre el uso de métodos anticonceptivos, “ENCUESTA DAPHNE”, que refleja un incremento del uso de métodos anticonceptivos por las mujeres españolas hasta el año 2011. Dado que los casos de nuestra serie pertenecen a esa década, entre 1999 y 2010, mostramos los datos reflejados en el “Curso de Formación en Anticoncepción en Atención Primaria 2013” según las diferentes encuestas realizadas por el equipo Daphne:

Año 1999: 16,5 %

Año 2001: 19,2 %

Año 2003: 18,3 %

Año 2007: 20,3 %

Año 2009: 17,9 %

En 1997 utilizaban anticonceptivos orales el 14,3 % de las mujeres en edad fértil, con un pico máximo en 2007 de un 20,3 % hasta la encuesta realizada en 2011.

Según los datos reflejados en la “Encuesta de Fecundidad y Valores 2006” (www.hpvcentre.net), entre el 17,2 y el 17,4 % de las mujeres españolas entre los 17 y 49 años tomaban anticonceptivos hormonales.

En nuestra serie, el 58,1 % de las mujeres tomaban anticonceptivos hormonales, dato que refleja una tasa mucho mayor que en la población general, lo que se explicaría, a la luz de los trabajos mencionados que hacen hincapié en la relación existente entre el riesgo de padecimiento de lesiones cancerosas y el uso de ACO, al tratarse nuestra muestra de pacientes afectadas por lesiones ginecológicas; sin embargo, también resulta sensiblemente superior a la tasa referida en otros estudios realizados sobre mujeres tratadas mediante conización cervical por HSIL y/o carcinoma, como el realizado en la tesis doctoral de Eva María Sánchez (2012) en el que se observó un 34.2 % de uso de ACO.

VI.3.3.- INMUNODEPRESIÓN

El estado de inmunodepresión, tanto congénito como adquirido (por tratamientos farmacológicos: trasplante de órganos, enfermedades sistémicas, inflamatorias o autoinmunes o en pacientes con infección por VIH) es un factor de riesgo para carcinoma asociado a HPV en el tracto genital inferior (cérvix, vulva y ano) si se compara con pacientes inmunocompetentes, ya que son pacientes susceptibles de mantener una infección persistente por HPV (Palefsky et al., 2003 y Puig-Tintoré et al., 2006 y 2014), incluso es un factor de riesgo predictivo de recurrencia, como afirman Coronado et al. en los artículos publicados en 2004 y 2005.

Tratamiento inmunosupresor

Ozsaran et al. en 1999 evaluaron el riesgo de desarrollar lesiones displásicas en el cérvix uterino en una serie de 48 mujeres con trasplante renal y tratamiento inmunosupresor, y observaron que en un 41,6 % de los casos existía neoplasia intraepitelial y sólo en dos casos observaron un resultado *test* ADN- HPV positivo.

HIV

Desde 1993, los *Centers for Disease Control and Prevention* han incluido el carcinoma de células escamosas de cérvix como parte de la definición de enfermedades indicativas de SIDA. En el año 2000, Ellerbrock et al. realizaron un estudio retrospectivo sobre 328 mujeres que tenían infección por HIV y 325 mujeres sin infección por HIV durante cinco años, las cuales no tenían antecedentes de neoplasia intraepitelial en la triple toma cérvico-vaginal ni alteraciones colposcópicas previas. Observaron que una de cada cinco mujeres infectadas por HIV y sin evidencia de lesión preneoplásica previa desarrollaron LSIL durante los 3 años posteriores a la infección, y llegaron a la conclusión de que las mujeres infectadas con HIV deberían participar en los programas del cribado de cáncer cervical independientemente de la edad que tengan.

En 2014 Castellsagué et al. publicaron el resultado de un meta-análisis en el que concluyeron que el riesgo de desarrollar cáncer de cérvix en mujeres con infección por HIV era seis veces mayor que en la población general. Otros estudios publicados por Alder et al. en 2010 y 2012 , Bliz et al. en 2013 y Chen et al. en 2014 han sugerido que este riesgo podría minimizarse con el empleo de altas dosis de terapia antirretroviral que produciría un mayor aclaramiento de la infección viral.

Herpes virus tipo 2 (VHS-2)

Entre 1960 y 1980 se consideró al VHS-2 como un posible agente causal de cáncer de cérvix (Rawls et al., 1968; Muñoz et al., 1975). Posteriormente, tras el

descubrimiento y detección de ADN-HPV en el cáncer de cérvix, se pensó que la infección por HVS-2 podría iniciar el desarrollo de mutaciones e incluso participar en el proceso oncogénico en las células infectadas por HPV (zur Hausen et al., 1982).

En 1992 Brinton publicó el primer estudio epidemiológico que relacionaba el VHS-2 y cáncer de cérvix mediante la comparación de casos de mujeres con cáncer de cérvix y pruebas serológicas positivas para HVS-2 y casos control, aunque sin tener en cuenta la positividad para *test* ADN-HPV.

Posteriormente, Smith et al. en 2002 realizaron un meta-análisis de 7 estudios de casos y controles en el que valoraron el riesgo de desarrollar cáncer de cérvix en pacientes con infección por VHS-2 detectado mediante pruebas de serología y observaron que las mujeres con *test* ADN-HPV positivo mediante PCR e infección por VHS-2 tenían un riesgo tres veces superior de desarrollar cáncer de cérvix que las que no tenían infección por este virus.

Infección por Chlamydia trachomatis:

La relación entre cáncer de cérvix y coinfección entre HPV y Chlamydia trachomatis no está suficientemente aclarada, según los estudios realizados por Molano et al. en 2003. Algunos autores, como Smith et al. en 2005 y Schiffman et al. en 2007, sugirieron su posible papel como cofactor en la carcinogénesis por HPV. Es importante destacar que la prevalencia de esta infección no difería entre los casos de mujeres con y sin anomalías citológicas. Silins et al. en un estudio publicado en 2005 concluyeron que existía mayor riesgo de persistencia de infección por HPV-AR, con un riesgo relativo de 2,09 en las mujeres con infección previa por Chlamydia.

Al analizar los datos clínicos de nuestros casos observamos que en el 4,8 % de los mismos existían alteraciones en su estado inmunológico, los cuales especificaremos por separado posteriormente. Si valoramos la relación entre el estado de inmunodepresión y la neoplasia cervical observamos que:

- (a) Existía un claro predominio de casos con alteraciones en su estado inmunológico que presentaron HSIL (12 de 15 casos en total), sin observar ningún caso de carcinoma epidermoide ni de adenocarcinoma que presentaran alteraciones inmunológicas

- (b) Al estratificar los casos con estado de inmunodepresión por su causa de origen observamos un 40,0 % con coinfección por HIV, un 60,0 % con inmunodepresión iatrogénica (tratamiento quimioterápico por otra neoplasia (46,7 %): dos linfomas de alto grado, cuatro carcinomas de mama y un adenocarcinoma de estómago y tratamiento con inmunomoduladores por enfermedad autoinmune como artritis reumatoide en dos casos (13,3 %)

No hemos encontrado relación estadísticamente significativa entre ambas variables.

Respecto a otras infecciones víricas o bacterianas asociadas, observamos un caso con coinfección HIV y VHC, otro caso con VHC, siete casos con VHB y un caso con sífilis. No se encontró relación estadísticamente significativa entre estas variables y la lesión cervical, aunque sí hemos podido observar que 6 de los 7 casos con infección por VHB estaban diagnosticados de HSIL.

En nuestra serie no hemos tenido constancia de infección previa por Herpes virus tipo 2 ni por *Chlamydia trachomatis* en ninguno de los casos estudiados.

VI.3.4.- NÚMERO DE CITOLOGÍAS PREVIAS

A pesar de que la citología y la prueba ADN-HPV no son técnicas diagnósticas en las lesiones preneoplásicas y carcinoma de cérvix uterino (Puig-Tintoré, 2002), en numerosos estudios se ha reflejado la necesidad de un cribado en la población femenina acorde a la edad de las pacientes, hecho que implicaría la detección de casos con lesiones preneoplásicas y su posterior tratamiento, si corresponde, para evitar la evolución posterior a carcinoma infiltrante (Coleman et al., 1993).

El cribado citológico cérvicovaginal permite disminuir la incidencia y mortalidad del cáncer de cérvix. La incidencia y mortalidad de este cáncer se puede reducir hasta un 75 % cuando se aplica un cribado con una amplia cobertura poblacional y se aplica un protocolo adecuado (IARC, 2005).

Diferentes estudios epidemiológicos han reflejado la gran importancia del cribado cérvicovaginal, ya que el hecho de no realizarlo, o de hacerlo de forma inadecuada, es uno de los factores más importantes implicados en el desarrollo de cáncer de cérvix (Wright et al., 2011), además del genotipo viral implicado en la infección, ya que los genotipos 16 y 18 están implicados en el 70 % de los casos con cáncer de cérvix (Muñoz et al., 2006). En su estudio publicado en 2005, Khan et al. realizaron un seguimiento de mujeres con citología inicial negativa y prueba de ADN-HPV positiva y observaron mayor riesgo de progresión a lesión preneoplásica de alto grado (HSIL) o cáncer en los casos con HPV de AR. El 10 % de los casos con genotipos 16 o 18 fueron diagnosticados de HSIL a los 3 años y en el 18-20 % a los diez años. En los casos con otros HPV-AR no 16 ni 18 sólo se observó esta progresión en el 3 % de los casos.

También se ha observado que el cribado poblacional es más efectivo y además presenta un coste-eficacia adecuado respecto a los cribados oportunistas. En el cribado poblacional se deben utilizar técnicas con una alta especificidad. En España, en 1985, se

realizó un estudio para determinar la sensibilidad de la citología para detectar lesión preneoplásica, cuyos resultados mostró Puig-Tintoré (2002) y son los siguientes:

CIN 1: 0,50

CIN2: 0,68

CIN3: 0,90

Ante estos hallazgos se concluyó que la sensibilidad de la citología para la detección de las lesiones preneoplásicas aumenta a medida que aumenta el grado de displasia.

Según diferentes estudios, la sensibilidad y especificidad de la citología cérvico-vaginal como método de cribado está claramente demostrada, por lo que tiene una adecuada relación sensibilidad/especificidad para utilizarse como método de cribado. La sensibilidad oscila entre el 60 y el 80 % y la especificidad entre el 86 y el 100 %. (Martin-Hirsch et al., 2002).

En nuestra serie observamos que el 57,8 % de los casos no tenían estudio citológico previo que constara en la base de datos del Servicio de Anatomía Patológica. El nº medio de citologías fue de 0,7 por paciente, con un rango entre 0 y 8 citologías. Destacaba además:

(a) Un mayor número de citologías realizadas en los casos de LSIL que en HSIL y carcinoma epidermoide

(b) La media de citologías realizadas en los dos casos de adenocarcinoma fue de 3,

pero uno de los casos no tenía estudios previos y en el otro caso se habían registrado 6 citologías previas al primer diagnóstico anómalo

(c) Al analizar la posible relación estadística entre estas variables observamos una relación estadísticamente significativa y que en más de la mitad de los casos con HSIL y carcinoma epidermoide no tenían estudios citológicos previos que constaran en la base de datos del hospital

VI.4.- RESULTADOS DE LOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

VI.4.1.-INFECCIÓN POR HPV

El cáncer de cérvix uterino y las lesiones preneoplásicas están relacionadas etiológicamente con la infección persistente por HPV además de ser una consecuencia tardía de esa infección (Walboomers et al., 1999). En 2007 de Sanjosé et al. publicaron un meta-análisis de todos los artículos publicados sobre la prevalencia de HPV desde enero de 1995 hasta enero de 2005 y observaron diferencias según los grupos de edad establecidos en la mayor parte de los artículos (veinticinco años o menores, 25 a 34 años, 35 a 44 años, 45 a 54 años y mayores de 55 años años). Se observó una prevalencia muy alta en mujeres menores de 34 años en la mayor parte de las regiones y una disminución de la misma en el grupo de edad entre los 35 y los 44 años, así como

un segundo pico de incidencia en el grupo de edad 45 a 54 años y en mayores de 55 años, excepto en la región asiática.

En 2008 Bosch et al. publicaron un estudio sobre la prevalencia de la infección por HPV por continente y edad en mujeres con citología normal y *test* ADN-HPV positivo, con una prevalencia mundial independientemente de la edad. Al estratificarlo por la edad observaron una alta prevalencia de hasta el 30 % en mujeres jóvenes (menores de 25 años) excepto en Asia, una disminución de la misma en mujeres con edad media comprendida entre los 35 y los 45 años, y un segundo pico de prevalencia en mujeres entre los 45 y 54 años. En un meta-análisis realizado por de Sanjosé et al. (2007) ya habían observado unos resultados similares a los anteriores, aunque en Asia no se demostró el segundo pico de prevalencia a partir de los 45 años que observó Bosch posteriormente.

Cuzick et al. y Ronco et al. en 2008 publicaron sendos estudios sobre la prevalencia y sensibilidad de los *test* ADN-HPV validados para el cribado cérvicovaginal, mostrando una sensibilidad entre el 90-95 % dependiendo de la técnica utilizada.

Paraskevaidis et al. en un estudio realizado sobre 873 pacientes que habían sido tratadas quirúrgicamente por HSIL encontraron positividad para el *test* ADN-HPV en el 98,3 % y Versa et al. en un estudio publicado en 2010 sobre 251 pacientes tratadas mediante conización con bisturí frío y por asa diatérmica encontraron una positividad del 97,8 %.

En nuestra serie se realizó *test* ADN-HPV en el 86,0 % de los casos, con un 59,7 % de positividad frente a un 26,3 % de negatividad, estos resultados han sido inferiores a los encontrados en la bibliografía mencionada. En los casos diagnosticados de HSIL se observó positividad en el 68 %. Al estudiar la relación entre el resultado del *test* ADN-HPV y el diagnóstico histológico no obtuvimos un resultado estadísticamente significativo, $p= 0,37$, aunque sí observamos positividad en el doble de casos diagnosticados de lesión displásica y casi en la totalidad de los casos de carcinoma (90

% en carcinoma epidermoide y 100 % en adenocarcinoma) respecto a los casos sin lesión displásica.

a) Tipo de infección

En algunos estudios realizados no sólo se ha valorado si existía infección por HPV sino también si esta infección era por un único genotipo viral o si existía infección por varios genotipos HPV y sí esto implicaba una relación con el proceso carcinogénico. A nivel mundial la infección múltigenómica oscila entre el 25 y el 30 % de los casos.

Según Thomas et al. (2000) y Mendez et al. (2005), los diferentes genotipos HPV comparten los mismos factores de riesgo como son el número de compañeros sexuales, comportamiento sexual de la pareja (Vaccarella et al., 2006) o cambio reciente de pareja sexual (Winer et al., 2006) y esto facilitaría la presencia de infección por diferentes genotipos. Tran et al. (2015), sin embargo, afirman que los factores de riesgo para infección multigenómica todavía no han sido bien establecidos y requieren estudios epidemiológicos adicionales.

Según Vaccarella et al. (2010) la prevalencia de infección multigenómica se situaba entre el 0,3 y el 11,8 % tras realizar un estudio en 13.961 mujeres de 15 países de diferentes continentes a las que se les realizó citología cérvico-vaginal y *test* ADN-HPV mediante PCR desde 1993 hasta 2007. La prevalencia de infección multigenómica en mujeres con *test* ADN-HPV positivo según los estudios realizados por Liaw et al. en 2001 y por Clifford et al. en 2005 se situaba entre el 20-50 %. En los últimos estudios realizados por Vaccarella et al. (2010), Chaturvedi et al. (2011) y Dickson et al. (2013) mostraron una prevalencia del 25 %.

Franco et al. en 1999 observó que determinadas mujeres mostraban infección por varios genotipos virales y que éstos se repetían en muchos casos, posiblemente por la similitud genética entre las regiones L1. Molano et al. en 2003 y Plummer et al. en 2013

no observaron cambios en el curso o evolución de la infección viral en los casos que presentaban determinadas asociaciones de virus. Según Vacarella et al. (2010) los genotipos más frecuentemente asociados son 33 y 58, 18 y 45, 33 y 35 y 31 y 35. Además este autor observó más casos de infección multigenómica si la detección del ADN-HPV era realizada con inmunoensayo enzimático que si se realizaba por hibridación reversa y sugirió que estas asociaciones de virus podrían ser debidas a un artefacto en los métodos de detección del ADN-HPV.

En algunos casos sí se ha observado relación entre infección múltigenómica y progresión neoplásica, como en los estudios realizados por Chaturvedi et al. en 2005 y Trottier et al. en 2006, los cuales encontraron hallazgos que sugieren la existencia de un incremento lineal del riesgo neoplásico respecto al número de virus y éste sería independiente del riesgo oncogénico de los mismos. Milosevic et al. y Pattel et al. en 2013 observaron relación entre infección por múltiples HPV's y citología cérvicovaginal anómala. Trotter et al. en 2006 y Pista et al. en 2011 observaron relación con el desarrollo de HSIL. Munagala et al. (2009), a su vez, encontraron que las mujeres con infección multigenómica mostraban mayor riesgo de fallo en el tratamiento del cáncer de cérvix con radioterapia.

Dal Bello et al. en 2009 concluyeron que las mujeres con infección multigenómica deberían ser sometidas a controles médicos más exhaustivos que las que presentaran una infección monogenómica, especialmente si la infección está causada por virus de alto riesgo.

En 2011 Pista et al. publicaron un estudio sobre la frecuencia de la infección monogenómica y multigenómica simple por HPV en las mujeres portuguesas, así como la frecuencia de infección múltigenómica en las lesiones preneoplásicas. Durante 3 años evaluaron a 1500 mujeres sexualmente activas procedentes de Lisboa y sur de Portugal que habían sido derivadas a un centro ginecológico para la realización de cribado de cáncer de cérvix uterino o evaluación y tratamiento de las lesiones relacionadas con el HPV. En este estudio obtuvieron un 32 % de casos con infección múltigenómica y lo

asociaron a un mayor riesgo de lesiones preneoplásicas de alto riesgo que en los casos de infección monogenómica, además mostraron que la infección múltigenómica era más frecuente en las mujeres menores de 30 años. También en 2011 Vaccarella et al. publicaron un estudio de prevalencia de la infección por HPV en mujeres de 15 países de 4 continentes diferentes y observaron una prevalencia de infección multigenómica con un rango entre el 0,3 y el 11,8 %

Actualmente la mayoría de los autores concluyen que los diferentes genotipos HPV implicados en la infección multigenómica actuarían de forma independiente en la carcinogénesis cervical, como Quint et al. (2012), que realizaron un estudio de genotipado del HPV en el epitelio cervical normal y en las lesiones preneoplásicas, dado que las lesiones preneoplásicas de alto grado (HSIL) suelen tener una histología compleja en la que se observan áreas de LSIL y HSIL, y demostraron que en el 93% de las áreas mapeadas con lesión preneoplásica, sin especificación del grado de lesión, tenían infección por un solo genotipo viral. En el 7 % restante existía infección por múltiples virus, hecho que fue interpretado como que esas áreas serían zonas de colisión entre dos lesiones preneoplásicas de origen independiente y cada una de ellas estaría relacionada con un único genotipo viral. Estos autores concluyeron que en los casos con infección multigenómica cada genotipo viral actuaría de forma independiente en el proceso oncogénico y progresión neoplásica dando lugar a varias lesiones de diferente grado y localización apoyando la tesis de “un virus, una lesión”.

En nuestra serie observamos un 34,6 % de infección multigenómica, porcentaje superior al referido por Vaccarella et al. (2010), pero similar no sólo al publicado en 2011 por Pist et al. para mujeres portuguesas, sino también a otros estudios realizados en España, como en la tesis doctoral de Eva María Sánchez (2012) que observó un 35,1 % de infección multigenómica en pacientes conizadas por HSIL o carcinoma. En el estudio realizado por Edurne Mazaricos (2012) para su tesis doctoral, en el que valoró el genotipo HPV implicado en 1007 pacientes con citología anómala en el programa de cribado o con enfermedad cervical, observó un 28,3 % de casos con infección multigenómica. Además observamos infección multigenómica en el 35,6 % de los casos

diagnosticados de HSIL, en el 33,3 % de los casos con carcinoma epidermoide y en el 50 % de los casos de adenocarcinoma. No se observó relación estadísticamente significativa entre el tipo de infección y el grado de lesión histológica, aunque en todos los casos predominaba la infección monogenómica.

b) Genotipo viral

La infección por un genotipo HPV de AR es una causa necesaria para el desarrollo de las lesiones precursoras de alto grado (HSIL) y carcinoma (Lorincz et al., 1992; Bosch et al., 1995; Walboomers et al., 1999; Zur Hausen et al., 2002).

Según Gaarenstron et al. (1994) la infección por HPVs de AR se asociaba con un riesgo relativo entre 8 y 11 de desarrollar una lesión preneoplásica. Koutsky et al. (1992) observaron que sólo los casos de LSIL que tenían infección por HPV de AR progresaban a lesiones preneoplásicas de alto grado (HSIL).

Según Muñoz et al. (2003), Smith et al. (2007) y Schiffman et al. (2007), la infección por un genotipo viral de AR es uno de los factores más importantes implicados en la carcinogénesis cervical.

En nuestra serie se observó infección por genotipos HPV de AR en el 98,4 % de los casos positivos para *test* ADN-HPV y aunque no observamos relación estadísticamente significativa entre el tipo de genotipo viral y el grado histológico, sí observamos el predominio de infección por HPV de AR en todos los casos con lesión y/o tumor incluyendo los casos de LSIL (95,5 %).

Se han realizado numerosos estudios sobre los genotipos virales implicados en las lesiones preneoplásicas de alto grado (HSIL) y carcinoma tras la incorporación de las vacunas para determinar el impacto sobre la prevalencia de las mismas y su grado de cobertura, pero también hay que señalar la prevalencia de los genotipos HPV

implicados en los casos con citología normal. En 2011 el *IARC Infection and Cancer Epidemiology Group* realizó un meta-análisis sobre los estudios de prevalencia de genotipo HPV en mujeres con citología normal y en mujeres con lesiones preneoplásicas y carcinoma en tracto ano-genital. En la siguiente tabla se reflejan los 5 genotipos más frecuentes encontrados en mujeres con citología normal, tanto de forma global como en España:

Global	%	España	%
HPV 16	2,8 %	HPV 16	2,1 %
HPV 52	1,5 %	HPV 52	1,2 %
HPV 53	1,2 %	HPV 51	1,0 %

HPV 31	1,2 %	HPV 66	0,8 %
HPV 51	1,1 %	HPV 31	0,8 %

Tabla 88: Genotipos HPV más frecuentes en mujeres con citología normal a nivel mundial y en España

Muñoz et al. en 2003 analizaron los resultados de 11 estudios de casos-control de 9 países diferentes con 1.918 mujeres con carcinoma epidermoide de cérvix y 1.928 casos control, a los que realizaron *test* ADN-HPV mediante PCR. Según los datos obtenidos clasificaron los genotipos virales según su riesgo oncogénico.

Clifford et al. en 2003 realizaron un meta-análisis sobre los estudios publicados anteriormente en relación con la distribución de los genotipos de HPV en el carcinoma de cérvix y en HSIL, cuyos resultados mostraron que los serotipos más frecuentemente implicados en el carcinoma cervical eran el HPV 16, el 18 y el 45, mientras que los genotipos 31, 33, 52 y 58 eran más frecuentes en HSIL que en el carcinoma. Además concluyeron que dado que los genotipos 16, 18 y 45 mostraban mayor riesgo de desarrollar un carcinoma, las mujeres infectadas con estos genotipos deberían tener un seguimiento más estrecho que en los casos con infección por otros genotipos de AR.

Según el meta-análisis realizado por el *IARC Infection and Cancer Epidemiology Group* hasta 2011 los genotipos más prevalentes en los casos con citología normal, en las lesiones preneoplásicas y carcinoma de cérvix a nivel mundial fueron los siguientes:

	GENOTIPOS + FRECUENTES				
Carcinoma epidermoide	16 (57,5 %)	18 (11,2 %)	45 (4,6 %)	33 (4,5 %)	58 (3,9 %)
Adenocarcinoma	18 (36,2 %)	16 (35,9 %)	45 (5,7 %)	31 (1,9 %)	33 (1,8 %)
HSIL	16 (44,6 %)	52 (10,8 %)	31 (9,9 %)	58 (8,4 %)	33 (7,4 %)
LSIL	16 (19,1 %)	51 (10,2 %)	52 (8,7 %)	31 (7,8 %)	53 (7,7 %)

Citología normal	16 (2,8 %)	18 (1,1 %)	31 (1,2 %)	33 (0,7 %)	35 (0,5 %)
-------------------------	-------------------	-------------------	-------------------	-------------------	-------------------

Tabla 89: Genotipos HPV más frecuentes a nivel mundial según el grado de lesión y en citología normal

Se observa una clara prevalencia del HPV 16 tanto en mujeres con citología normal como en los casos con carcinoma y lesiones preneoplásicas, aunque en los casos diagnosticados de adenocarcinoma el virus más frecuente fue el genotipo 18 presente en el 36,2 % de los casos, seguido muy de cerca por el genotipo 16 con un 35,9 %.

En España, según los datos obtenidos en ese meta-análisis, el HPV 16 era el virus más frecuentemente aislado en los *test* ADN-HPV realizados, según reflejan diferentes estudios, tanto en mujeres con citología normal como en los casos con lesión preneoplásica y carcinoma (carcinoma epidermoide y adenocarcinoma). Con estos datos se demuestra una clara diferencia con los datos obtenidos a escala mundial respecto al adenocarcinoma, ya que existe un claro predominio de casos de adenocarcinoma asociados a HPV 16 con un 48,0 % y sólo se observa un 15,0 % de casos relacionados con el HPV 18. En la siguiente tabla se muestran los 5 genotipos HPV más prevalentes:

	GENOTIPOS + FRECUENTES				
Carcinoma epidermoide	16 (58,5 %)	33 (5,6 %)	18 (4,1 %)	31 (3,6 %)	45 (2,8 %)
Adenocarcinoma	16 (48 %)	18 (15 %)	45 (2,0 %)	51 (1,0 %)	35 (1,0 %)
HSIL	16 (42,6 %)	52 (5,9 %)	33 (5,4 %)	31 (4,3 %)	51 (4,0 %)
LSIL	16 (18,5 %)	51 (12,8%)	66 (11,6 %)	52 (9,6 %)	51 (7,8 %)
Citología normal	16 (2,1 %)	18 (0,6 %)	31 (0,8 %)	33 (0,4 %)	35 (0,2 %)

Tabla 90: Genotipos HPV más frecuentes según su grado de lesión y en citología normal en Espa

Nuestros resultados no difieren, en lo referente a la importancia relativa del genotipo HPV 16, de los obtenidos en el citado meta-análisis del *IARC*. Así, en nuestra serie los genotipos HPV más frecuentemente aislados en las infecciones por un solo tipo de virus fueron los siguientes, independientemente del diagnóstico histológico:

HPV 16	38,8 %
HPV 31	5,3 %
HPV 58	4,8 %
HPV 33	4,3 %
HPV 18	3,2 %

Tabla 91: Genotipos HPV más frecuentes en nuestra muestra independientemente del grado de lesión

Respecto a los casos con infección multigenómica, obtuvimos una clara prevalencia de casos con coinfección HPV 16 y otros genotipos de AR:

VPH 16 y 31	3,7 %
HPV 16 y 18	0,5 %
HPV 16 y otros virus AR	14,9 %

Tabla 92: Genotipos más frecuentes en infección multigenómica de nuestra serie

Si lo estratificamos por la lesión histológica observamos un claro predominio de los genotipos virales de AR (incluyendo los casos de infección multigenómica), dentro de los cuales destacaba el HPV 16 en HSIL y carcinoma epidermoide, con una prevalencia de 69,8 % y 44,4 % respectivamente, seguidos muy de lejos por otros virus de AR. En ninguno de los dos casos diagnosticados de adenocarcinoma de cérvix se observó infección por HPV 18, aunque sí se observó infección por genotipos de AR, uno de ellos tenía infección por HPV 33 y 84 y en el otro caso infección por HPV 56.

En los diferentes grados de lesión observamos los siguientes genotipos:

LSIL: en nuestra serie encontramos una elevada prevalencia de virus de AR, siendo el más prevalente el HPV 31 con un 27,3 % de casos con diagnóstico de LSIL. En el caso del HPV 16 su prevalencia fue del 22,7 % al incluir también los casos con coinfección.

HPV 31	27,3 %
HPV 16	22,7 %
HPV 18	18,2 %
HPV 33	4,5 %
HPV 58	4,5 %

Tabla 93: Genotipos virales más frecuentes en los casos diagnosticados de LSIL de nuestra serie

Tras la revisión de otros estudios realizados en la población española, como el realizado por Conesa-Zamora et al. y de Méndez et al. en 2009, encontramos una clara diferencia en los genotipos y en la prevalencia de los mismos con respecto a nuestra serie. En esos estudios los virus más frecuentemente aislados fueron:

HPV 16	18,5 %
HPV 53	12,8 %
HPV 66	11,6 %
HPV 52	9,6 %
HPV 51	7,8 %

Tabla 94: Genotipos HPV más frecuentes en casos diagnosticados de LSIL en otros estudios realizados sobre población española

Dómenech-Peris et al. en 2010 publicaron un estudio de genotipado HPV sobre tejido en parafina de casos con diferentes lesiones en el cérvix uterino, observando en los casos diagnosticados de LSIL una prevalencia del HPV 16 del 18,1 %. El HPV 58 fue el segundo genotipo viral más frecuentemente aislado, con un 20,8 %.

Creemos que la diferencia que existe entre los genotipos más frecuentemente observados en estos estudios respecto al nuestro podría estar relacionada con los casos muestreados, ya que en nuestro caso limitamos el estudio a los casos de mujeres conizadas, las cuales habían desarrollado lesiones cervicales de alto grado (HSIL) o carcinoma y sólo en el 14,0 % de los casos fueron conizadas por lesión de bajo grado (LSIL), posiblemente por divergencias entre el resultado citológico y el de la biopsia.

HSIL: en nuestra serie destaca un claro predominio de los genotipos virales de AR, dentro de los cuales el HPV 16 fue el más frecuente, con un 69,8 % (incluyendo los casos de infección multigenómica), seguido muy de lejos por el HPV 31 con un 7,4 % (incluyendo también los casos de infección multigenómica).

HPV 16	69,8 %
HPV 31	7,4 %
HPV 33	4,7 %

HPV 58	4,0 %
HPV 18	3,4 %

Tabla 95: Genotipos virales más frecuentes en los casos diagnosticados de HSIL en nuestra serie

En el meta-análisis realizado por *IARC'S Infections and Cancer Epidemiology Group* hasta 2011 sobre los estudios epidemiológicos realizados sobre la población española se describieron los 5 genotipos más frecuentemente implicados en HSIL, que fueron los siguientes :

HPV 16	42,6 %
HPV 52	5,9 %

HPV 33	5,4 %
HPV 51	4,0 %
HPV 18	3,0 %

Tabla 96: Genotipos HPV más frecuentes en los casos diagnosticados de HSIL en otros estudios realizados sobre población española

Pérez-Castro et al. (2013), en un estudio realizado sobre pacientes diagnosticadas de CIN2 o displasia de más alto grado (HSIL) y carcinoma de Galicia, observaron una prevalencia estimada de HPV 16 entre el 28,6 y el 42,9 % para los casos con CIN2 y de 52,8 y 62,9 % en los casos de CIN3, incluyendo los casos con infección monogenómica y con infección múltigenómica.

En nuestra serie, el HPV 16 también fue el más frecuente, aunque con un 69,8 % de los casos diagnosticados de HSIL, y claramente presenta una mayor prevalencia que en los otros estudios reseñados. En el segundo puesto tenemos al HPV 31 (7,4 %), que en los otros estudios no estaba incluido dentro de los cinco genotipos más frecuentemente aislados. El segundo genotipo viral más frecuentemente aislado, según esos estudios, fue el HPV 52, que en nuestra serie no aparece dentro de los cinco tipos virales más frecuentes y sólo se aisló en el 2,7 %. Respecto al HPV 18 en nuestra serie sólo

representa el 3,4 % de los casos diagnosticados de HSIL (incluyendo los casos de infección multigenómica), resultado muy similar al de esos estudios.

Carcinoma epidermoide: también obtuvimos un claro predominio de los genotipos virales de AR, entre los que destacó el HPV 16 que se detectó en el 44,4% de los casos, seguido de lejos por el HPV 58, 52 y otros HPVs de BR que fueron aislados en el 11,1 % de los casos cada respectivamente. También se observó infección por otros genotipos de AR diferentes a los anteriores en el 11,1 %. No se observó ningún caso de infección por HPV 18.

HPV 16	44,4 %
HPV 58	11,1 %
HPV 52	11,1 %

HPV BR	11.1 %
Otros AR	11,1 %

Tabla 97: Genotipos HPV más frecuentemente aislados en carcinoma epidermoide de nuestra serie

Los estudios realizados en España por Muñoz et al. en 1992, Bosch et al. en 1995 y Rodríguez et al. en 1998 reflejaron una prevalencia del HPV 16 en el carcinoma epidermoide infiltrante de entre el 54,1 y 61,1 %. En 2008 González-Bosquet et al. publicaron un estudio donde la prevalencia del HPV 16 en el carcinoma epidermoide fue del 52,4 %. La prevalencia más elevada la hemos encontrado en el estudio publicado por Darwich et al. en 2011, con un 79,2 %. Este estudio fue realizado en mujeres con carcinoma epidermoide e infección por HIV y mujeres sin infección por HIV, y demostraron que la distribución de los genotipos virales era similar en ambos grupos, independientemente de la infección por HIV, aunque sí observaron un ligero incremento de la prevalencia del HPV 18 en el carcinoma infiltrante de cérvix.

Aunque en nuestra serie la prevalencia del HPV 16 fue del 44,4 %, un poco por debajo de lo descrito en los diferentes artículos realizados sobre la población española desde 1992 hasta 2012, en este mismo año también se publicó un estudio

realizado por Mazarico et al. que obtuvo una prevalencia del 43,2 %, muy similar a la nuestra. También tenemos que destacar que en el presente estudio sólo se han valorado los casos de carcinoma epidermoide a los que se les ha realizado tratamiento con conización cervical de forma inicial y posteriormente se les realizó un tratamiento complementario.

Adenocarcinoma: en nuestra serie observamos dos casos diagnosticados de adenocarcinoma infiltrante en la pieza de conización y en ambos casos teníamos el genotipo viral, cuyo resultado se presenta en la siguiente tabla

HPV 33 y 84	50 %
HPV 56	50 %

Tabla 98: Genotipos HPV aislados en los 2 casos de adenocarcinoma de nuestra serie

Según el meta-análisis realizado por el *IARC's Infections and Cancer Epidemiology Group* los 5 genotipos virales más frecuentemente observados en los casos de adenocarcinoma de cérvix en España son los siguientes:

HPV 16	48,0 %
HPV 18	15,0 %
HPV 45	2,0 %
HPV 51	1,0 %
HPV 35	1,0 %

Tabla 99: Genotipos virales más frecuentemente aislados en España según *IARC*'s

VI.4.2.- COLPOSCOPIA

El estudio colposcópico del cérvix uterino junto con la toma de biopsia dirigida mediante colposcopia es el primer paso en la evaluación de las mujeres con resultado citológico anormal. No es un método válido como *test* de cribado primario ni puede sustituir al estudio histológico de la biopsia de cérvix. (Puig-Tintoré et al., 2006)

En la práctica clínica tras un resultado citológico anormal así como presencia de un *test* ADN-HPV positivo para virus de AR se debe realizar un estudio colposcópico de la paciente, hecho que permitirá la observación del cérvix uterino para comprobar si existen alteraciones macroscópicas sugestivas de lesión preneoplásica o cáncer, y si existen de qué grado son, así como la toma de una biopsia representativa de la lesión para su correcta tipificación histológica. El objetivo del estudio colposcópico en pacientes con sospecha de lesión cervical es el diagnóstico de certeza de lesión preneoplásica o carcinoma en cérvix, vagina o vulva (Puig-Tintoré et al., 2006).

Es un método muy adecuado que permite establecer la localización exacta de la lesión para así dirigir la toma de una biopsia actuando sobre las áreas visualizadas más sospechosas, todo lo cual conllevaría a un mayor rendimiento y exactitud en el diagnóstico histológico. También permite realizar una planificación individualizada del tratamiento, de modo que resulte más efectivo y con menor morbilidad. (Guía Clínica de la Patología Cervical Fundación Instituto Valenciano de Oncología 2008). Los resultados obtenidos dependen en gran medida de la experiencia del profesional que la realiza.

En 1925 Hinselmann introdujo una nueva técnica diagnóstica que permitía visualizar el cérvix y la vagina de forma magnificada mediante una luz y el uso de un sistema óptico de magnificación (colposcopio o video-colposcopio digital) para visualizar las lesiones premalignas en el cérvix uterino (Puig-Tintoré, 2011).

En 1996 Mitchel et al. realizaron un meta-análisis de 86 estudios en los que se utilizaba la colposcopia como uno de los métodos diagnósticos en las lesiones preneoplásicas de cérvix (SIL), observaron que la colposcopia tenía una sensibilidad del 96,0 % para la detección de CIN 2 (HSIL) y una especificidad del 48,0 %. La colposcopia tiene una mayor especificidad para diferenciar LSIL de HSIL que para diferenciar el epitelio normal del anormal. Según Hopman et al. (1998), el valor predictivo positivo disminuye cuanto menor es el grado de la lesión histológica.

Kyrgiou et al. en 2006 publicaron una revisión Cochrane sobre el uso de la colposcopia como método diagnóstico en las lesiones cervicales, y concluyeron que la colposcopia es un método eficiente en el estudio de los casos con citología anormal y no se debería utilizar como método de cribado ni como método diagnóstico en sustitución del estudio microscópico.

Hammes et al. en 2008 publican un estudio realizado en 3.040 mujeres de la población general para evaluar la exactitud de la clasificación colposcópica de la *Federación Internacional de Patología Cervical y Colposcopia (IFCPC)* de 2002, como método predictivo en las lesiones preneoplásicas y carcinoma. Determinaron que el método colposcópico tenía una sensibilidad del 86,0 % y una especificidad del 30,3 % en la distinción entre hallazgos normales y lesión preneoplásica o carcinoma. Respecto a la distinción entre hallazgos normales o lesión preneoplásica de bajo grado (CIN 1/LSIL) y lesiones preneoplásicas de alto grado (CIN 2/3, HSIL) observaron una sensibilidad del 61,1 % y una especificidad del 94,4 %. Asimismo observaron que los hallazgos colposcópicos compatibles con cambios mayores tenían el mayor valor predictivo positivo para la detección de HSIL y carcinoma.

En nuestra serie se observó un 40,0 % de casos con cambios menores y un 32,4 % de cambios mayores y sólo el 2,9 % de los casos mostraron cambios sospechosos de carcinoma infiltrante. En el 1,6 % de los casos el resultado fue insatisfactorio dado que no se podía visualizar la unión escamo-columnar. También es importante reflejar que en

el 8,3 % de los casos no se observaron hallazgos significativos y el informe colposcópico fue informado compatible con la normalidad.

Al analizar la relación entre los hallazgos colposcópicos y el diagnóstico histológico en la pieza de conización obtuvimos una relación estadísticamente significativa, $p=0,001$. Se observaron unos hallazgos colposcópicos compatibles con cambios mayores en el 34,4 % de los casos diagnosticados de HSIL y en el 50,0 % de los casos de carcinoma epidermoide. En el 16,9 % de los casos con carcinoma epidermoide se observaron cambios sugestivos de carcinoma infiltrante y en el 8,3 % se informó como hallazgos normales. También destaca un resultado normal en el 7,6 % de los casos diagnosticados de HSIL. Respecto a los casos diagnosticados de adenocarcinoma, en ambos casos no se observaron signos macroscópicos sospechosos de malignidad y fueron informados como hallazgos colposcópicos normales. A pesar de estos datos, sí observamos que el porcentaje de cambios menores disminuye a medida que aumenta el grado de displasia y carcinoma (56,8 % en LSIL y 39,2 % en HSIL) como en lo descrito en la bibliografía previamente.

VI.4.3.-BIOPSIA DE CÉRVIX

La técnica diagnóstica identificada como “gold standard” en patología cervical es la biopsia de cérvix dirigida mediante estudio colposcópico tras la localización de las áreas sospechosas.

El uso combinado de citología y estudio colposcópico en el cribado a demanda tiene un valor predictivo positivo de alrededor del 100 % en la detección de HSIL y carcinoma, según los diferentes estudios realizados por Carrera et al. en 1973 y por Puig-Tintoré en 1984.

Mitchell et al. (1996), en el meta-análisis descrito previamente, evaluaron nueve estudios en los que se valoraba la colposcopia y toma de biopsia como método de diagnóstico y encontraron los siguientes resultados que se reflejan en la siguiente tabla:

Diagnóstico	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Normal // Anormal	95,0 %	45,0 %	82,0 %	79,0 %
Normal-LSIL//HSIL- Cáncer	79,0 %	67,0 %	57,0 %	85,0 %

Tabla 100: Sensibilidad y especificidad de la colposcopia como método diagnóstico según Mitchel et al. (1996)

Según estos resultados el uso de la colposcopia y biopsia dirigida presenta una sensibilidad del 95,0 % en la diferenciación entre el epitelio normal y el que presente alguna anomalía, así como una especificidad del 45,0 %. Respecto a la diferenciación entre LSIL y HSIL o carcinoma, la especificidad aumenta hasta el 67,0 % a costa de disminuir la sensibilidad, que en este caso sería del 79,0 %.

Zuchna et al. (2010) revisaron las biopsias realizadas en mujeres que habían sido conizadas por HSIL y observaron una infraestimación del grado histológico en el 46,7 % de los casos.

En nuestra serie se realizó biopsia a todos los casos y observamos que el 18,7 % de los casos no tenían lesión displásica asociada. El 70,2 % de los casos fueron diagnosticados de HSIL. No se observó ningún caso de carcinoma epidermoide pero sí dos casos de adenocarcinoma (0,6 %). Además, en el 10,5 % se diagnosticó de LSIL.

Observamos una concordancia del 76 % entre el diagnóstico de HSIL en la biopsia cervical dirigida mediante colposcopia y en la pieza de conización, un resultado menor de lo que se refleja en otros estudios, como el realizado por Andía et al. publicado en 2001 basado en 77 pacientes conizadas del Hospital de Basurto, Bilbao. En nuestro estudio un 17,6 % de casos diagnosticados de HSIL en el cono fueron diagnosticados de normalidad, sin alteraciones displásicas, en la biopsia de cérvix, así como ninguno de los casos de carcinoma epidermoide en la pieza de conización fue diagnosticado en la biopsia como tal aunque en el 91,7 % de los casos sí fueron diagnosticados de HSIL. Un caso de carcinoma epidermoide (8,3 %) fue diagnosticado de normalidad en la biopsia. Respecto a los 2 casos de adenocarcinoma sí existía una concordancia del 100 % entre el diagnóstico histológico en la biopsia y en la pieza de conización.

En el 32,3 % de los casos se infraestimó el grado de lesión según los hallazgos en la biopsia cervical. Según Zuchna et al. (2010) estas discrepancias podrían ser debidas a una mala interpretación de los hallazgos colposcópicos, a la realización de una biopsia inadecuada o incluso a que la lesión o tumor sea muy grande con áreas heterogéneas de diferente grado y este hecho no se refleje en la biopsia. Además también existe un grado de variabilidad para la graduación de las lesiones displásicas entre diferentes patólogos.

Al comparar el resultado diagnóstico alcanzado en la pieza de conización y el de la biopsia de cérvix se observó relación estadísticamente significativa ($p=0,001$)

En la siguiente tabla reflejamos los datos de nuestro estudio y el de Andía et al. de 2001:

Concordancia cono-biopsia	Estudio actual	Andía et al. 2001
LSIL	38,6 %	55,5 %
HSIL	76,0 %	89,7 %
Carcinoma epidermoide	66,6 %	0,0 %
Adenocarcinoma	100 %	100 %

Tabla 101: Porcentaje de concordancia entre la biopsia cervical y la pieza de conización según Andía et al. y nuestra serie de casos

VI.5.- CONDUCTA TERAPÉUTICA

Ante un diagnóstico de HSIL confirmado por estudio histológico de la biopsia de cérvix se debe realizar un tratamiento, el adecuado a cada caso, aunque casi siempre se recomienda un tratamiento escisional ya que existe un elevado riesgo de desarrollar carcinoma infiltrante. Si el estudio colposcópico ha sido satisfactorio y no hay signos que sugieran infiltración en la citología, colposcopia y biopsia, se indicará un tratamiento que debe ser planificado de acuerdo a la localización de la lesión. El tratamiento de elección en los casos de HSII es el escisional y casi desde que se desarrolló la conización con asa de diatermia, ésta es la técnica más utilizada. (Puig-Tintoré et al., 2006).

Nuovo et al. (2000) publicaron un análisis de los diferentes métodos de tratamiento de las lesiones preneoplásicas mediante conización en frío, ablación con láser, crioterapia y conización con asa de diatermia, sin observar diferencias significativas en cuanto al éxito del tratamiento ni en la persistencia de la lesión. Tampoco observaron ningún caso de progresión a cáncer en los 12 meses de seguimiento post-tratamiento de las pacientes.

En 2010 Martin-Hirsch et al. publicaron una revisión de 29 estudios previos en los que se comparaban diferentes métodos de tratamiento de las lesiones preneoplásicas, como la crioterapia, la vaporización con láser, la conización con láser, la conización con bisturí frío y la conización con asa de diatermia, sin observar diferencias significativas respecto a la eficacia del tratamiento entre las diferentes técnicas estudiadas.

Tratamiento	Eficacia
Crioterapia	77-90,0 %
Vaporización con láser	90-95,0 %
Conización con láser	93-96,0 %
Conización con bisturí	90-94,0 %
Conización con asa de diatermia	93-96,0 %

Tabla 102: Eficacia de los diferentes métodos de tratamiento escisional según Martin-Hirsch

Nuestros resultados no pueden sino reforzar esta observación, ya que en nuestra serie, se realizó conización con asa de diatermia en todos los casos, sin observar casos con tratamiento previo fallido de las lesiones cervicales

Conización con asa de diatermia

Es una técnica ampliamente utilizada dados los resultados obtenidos y los escasos inconvenientes que presenta, datos que han favorecido su difusión, por lo que es actualmente la técnica más empleada en el tratamiento de las lesiones preneoplásicas de cérvix uterino. Permite realizar una resección simple de la zona de transformación (LLETZ) o una exéresis cónica con doble escisión del exocervix y del endocervix incluyendo la totalidad de la lesión.

Clásicamente se ha descrito la posibilidad de diagnosticar un carcinoma oculto en el 1,0 % de las pacientes tratadas mediante conización según Puig-Tintoré et al. (2006).

Se considera que una conización diagnóstica es también una conización terapéutica si cumple los siguientes requisitos (Guía Clínica de la Patología Cervical, Fundación Instituto Valenciano de Oncología, 2008):

- a) Tamaño suficiente, teniendo en cuenta el tamaño total del cérvix
- b) Márgenes exocervical, endocervical y profundo libres de lesión
- c) Legrado endocervical negativo
- d) Colposcopia, citología y *test* ADN-HPV negativos en control a los 6 meses post-conización

En la pieza de conización se valoraron las características histológicas de la lesión preneoplásica o carcinoma, el tamaño, la localización, la presencia o no de infiltración de las glándulas endocervicales, así como el estado de los bordes quirúrgicos de resección.

En nuestra serie, tras la valoración de todos esos parámetros obtuvimos los siguientes resultados:

1.- Histología

El diagnóstico histológico en las piezas de conización fue el siguiente:

- a) 79,4 % de HSIL
- b) 3,8 % de carcinoma epidermoide
- c) 0,6 % de adenocarcinoma
- d) 14% de LSIL

Además, en el 2,2 % de casos los casos no se observó lesión displásica. La Dra. Amina Lubrano, en la ponencia presentada en el *Congreso Anual de la Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia* celebrado en Madrid en 2008 con el título “Tratamiento de la Patología Premaligna del tracto Genital Inferior”, informó de

un resultado negativo en el 2,9 % de los casos tras el estudio de 979 piezas de conización con asa de diatermia. En 1996, Ferenczy et al. encontraron una tasa de piezas de conización sin lesión displásica de entre el 14-30 % de los casos. Centeno et al. en 2005, a su vez, publicaron un estudio realizado en 720 mujeres conizaciones con asa de diatermia en las que no observaron lesión displásica en el 26,8 % de los casos.

Las posibles causas de una pieza de conización sin lesión displásica, según la bibliografía, son las siguientes:

- a) erosión con reacción inflamatoria tras la toma de biopsia que induciría una respuesta inmune (Massad et al., 1996; Barker et al., 2001)
- b) extirpación completa de la lesión en la biopsia (Vergote et al., 1992; Denny et al., 1995)
- c) regresión espontánea de la lesión en el periodo entre la biopsia y la realización de la conización (Chappate et al., 1991; Denny et al., 1995)
- d) ausencia de extirpación de la lesión o extirpación incompleta (Chappate et al., 1991; Howell et al., 1991)
- e) error en el tallado y procesamiento en el laboratorio de Anatomía Patológica (Robboy et al., 2002)
- f) variabilidad histológica interobservador (Bonardi et al., 1992, Deny et al., 1995)

Como ya hemos dicho, Puig-Tintoré et al., en 2006, indican la posibilidad de diagnosticar mediante conización un carcinoma oculto en el 1 % de las pacientes tratadas, porcentaje que Centeno et al., en su trabajo de 2005, elevan hasta un 3 %; sin embargo, en nuestro estudio hemos observado una tasa muy superior, del 11 % (11 casos).

2.- Localización

Las lesiones cervicales suelen presentar una distribución topográfica típica según el grado de displasia. Tanto en la colposcopia realizada por el ginecólogo como en la descripción macroscópica y microscópica del servicio de Anatomía Patológica el cérvix uterino se describe indicando la posición de las lesiones tomando como referencia las posiciones horarias en la esfera de un reloj.

Guido et al. en un estudio realizado para *ALTS trial* en 2005, observaron que las áreas de cérvix con alteraciones sugestivas de HSIL (CIN3) estaban frecuentemente localizadas entre las 12 y las 6h. Al dividir el cérvix en cuadrantes observaron una mayor afectación del labio anterior y del posterior si se comparaba con los cuadrantes laterales. También observaron una distribución irregular de las áreas acetoblancas, de similares características a las descritas para HSIL, en mujeres con biopsia normal y *test* ADN-HPV negativo, por lo que concluyeron que las áreas que podrían estar más frecuentemente afectas por lesión preneoplásica serían el labio anterior y el labio posterior en contraposición a las porciones laterales del cérvix.

Estos resultados coinciden con los que pueden deducirse de nuestro estudio, ya que en él, las localizaciones más frecuentes de toma de biopsia cervical realizada por los ginecólogos fueron las siguientes:

- a) 41,4 % labio anterior (12h)
- b) 28,4 % labio posterior (6h)
- c) 15,8 % (3h)
- d) 14,5 % (9h)

Belinson et al. en 2001 y Pretorius et al. en 2004 demostraron un incremento del rendimiento de la biopsia cervical de hasta un 37,4 % para la detección de las lesiones preneoplásicas de alto grado (HSIL) y cáncer si se realizaban biopsias al azar de la unión escamocolumnar en las mujeres con un resultado citológico de HSIL.

En nuestra serie se referenció la localización de la lesión cervical en el 54,3 % de los casos. La lesión preneoplásica o carcinoma estaba localizada, por orden de frecuencia, en el labio posterior con un 28,3 %, seguido por ambos labios con un 11,1 %. La localización en el labio anterior sólo se describía en el 8,6 % de los casos y del endocérnix en el 4,4 % de las mujeres. Estos datos reflejan una disparidad con los estudios anteriores, respecto a la localización en el labio anterior, aunque este hecho podría ser consecuencia de la ausencia de referencias a la localización de la lesión en el 45,7 % de la informes anatomopatológicos.

3.- Tamaño de la lesión

Burghart et al. en 1973 estudiaron la topografía, la extensión en superficie y la profundidad de las lesiones preneoplásicas de cérvix en la pieza de conización, demostrando que existe relación entre la extensión de la lesión (tamaño microscópico en la pieza de conización) y el grado de displasia, de modo que se puede concluir que las lesiones extensas corresponderían con mayor probabilidad a carcinoma *in situ* o carcinoma infiltrante que a displasia, datos que también corroboraron Shafi et al. en 1991 y Tidbury et al. en 1992.

Puig-Tintoré et al. en 2001 evaluaron los hallazgos colposcópicos observados en 101 pacientes con diagnóstico de displasia, y midieron el área de la zona de transformación así como de las zonas sospechosas de lesión preneoplásica, describiendo además la topografía de la misma. Dados los resultados obtenidos concluyeron que a mayor grado de displasia mayor tamaño de la lesión en la colposcopia. También valoraron la localización de las lesiones respecto al orificio cervical externo, clasificándolas en “lesiones centrales” si contactaban con el orificio o se insinuaban en el canal endocervical y en “lesiones periféricas” si no contactaban. Observaron que las lesiones de mayor grado ocupaban una disposición más central, alrededor del orificio cervical externo, que las lesiones de bajo grado. En este estudio encontraron un tamaño medio de 91 mm² y al estratificarlo por la lesión histológica obtuvieron los siguientes resultados:

Diagnóstico histológico	Tamaño medio (mm²)
CIN 1	67
CIN 2	89
CIN 3	127

Tabla 103: Tamaño medio del área de la lesión displásica en mm²

Al compararlo con la medida obtenida mediante colposcopia observaron que existía una muy buena correlación, cercana al 85,0 %, entre los 2 tamaños obtenidos.

En el nuestra serie, tras revisar el tamaño de la lesión displásica descrito en el informe anatomopatológico y descartar los casos en los que no se informaba del mismo así como los casos sin alteraciones histológicas residuales, obtuvimos una media de 6,5 mm, con un máximo de 15 mm y un mínimo de 1mm con una desviación típica de 2,9.

Estos datos no son comparables a los del estudio precedente, ya que la medida obtenida hace referencia al eje máximo horizontal y no hemos podido medir el área de la lesión posteriormente.

4.- Estado de los bordes quirúrgicos

Aunque la técnica quirúrgica denominada conización con asa de diatermia es una técnica muy segura y presenta una alta eficacia en el tratamiento de las lesiones preneoplásicas de cérvix uterino, Murdoch et al. describieron en 1992 un alto porcentaje de escisiones incompletas, de hasta un 44,0 %, aunque actualmente este porcentaje se ha visto reducido con el uso de asas de diferente tamaño, que permiten la selección de la más acorde al tamaño de la lesión. Kocken et al. (2011) concluyeron que la conización con asa de diatermia es un método muy eficaz aunque puede llegar a observarse una tasa de fallo como método terapéutico en el 5-30,0 % de las piezas de conización.

También se ha observado que la resección en varios fragmentos complica la revisión del estado de los bordes quirúrgicos por el patólogo e indica que se ha realizado una mala técnica quirúrgica (Puig-Tintoré et al., 2006).

Según Jakus et al., que publicaron un estudio en el año 2000 realizado en pacientes conizadas, puede haber afectación de los bordes quirúrgicos en la pieza de conización hasta en el 48,0 % de los tratamientos escisionales.

Otros autores indican porcentajes más bajos, como Centeno et al. (2005), que en un estudio realizado en 720 pacientes conizadas con asa de diatermia encontraron afectación de los bordes quirúrgicos en el 14,0 % de los casos.

Nuestros resultados se acercan más a los del estudio de Centeno et al. (2005) que a las cifras referidas por Murdoch et al. en 1992 o por Jakus et al. en 2000, y coinciden con el margen que indicó en 2011 Kocken et al., ya que tras la valoración de los bordes quirúrgicos en las piezas de conización de nuestra serie observamos que:

- a) el 75,6 % de los casos tenían bordes negativos para displasia
- b) el 20,0 % tenían bordes afectos (positivos) que correspondían a 63 casos.
- c) el 4,4 % de los casos presentaron bordes con artefacto de electrocoagulación

Puig-Tintoré et al. (2006) sugieren como posibles causas de márgenes no valorables, además del artefacto de electrocoagulación, el desprendimiento del epitelio de la base que sería consecuencia de una mala técnica quirúrgica.

En nuestro caso, al relacionar la afectación del borde quirúrgico con la lesión cervical obtuvimos:

- a) Todos los casos con bordes afectados por artefactos el diagnóstico histológico de la pieza de conización fue de HSIL
- b) Una relación estadísticamente significativa entre estas 2 variables, $p= 0,003$. Se observó mayor porcentaje de afectación de los bordes quirúrgicos a medida que aumentaba el grado de displasia. En el 83,3 % de los casos diagnosticados de carcinoma epidermoide existía afectación de bordes quirúrgicos, además del 100 % de los casos de adenocarcinoma. Respecto a los casos diagnosticados de HSIL se observó afectación de los bordes quirúrgicos en el 20,0 % de los casos.

La afectación de los bordes quirúrgicos en la pieza de conización es uno de los factores más importantes relacionados con enfermedad residual y debería ser considerado como un factor predictivo de persistencia, aunque también es importante

señalar que no debe ser considerado por sí sólo como indicación de reconización o histerectomía, ya que se deben tener en cuenta otros factores antes de realizar otro tratamiento posterior (Rivero et al., 2009).

La existencia de un borde quirúrgico afecto no es sinónimo de enfermedad residual, ya que sólo un 15-20,0 % de los casos con bordes afectos, independientemente de su localización, presentará lesión residual en la pieza de reconización o histerectomía posterior (Rivero et al., 2009).

Clásicamente se ha considerado que la presencia de un borde quirúrgico afecto es un factor predictivo de enfermedad residual. Paraskevaïdis et al. en 2001, Reich et al. en 2002 y Sarian et al. en 2004 observaron en sus estudios que aproximadamente el 60,0 % de los casos de mujeres conizadas con algún borde afecto no presentarán lesión residual durante su seguimiento, aunque destaca el hecho de que sí observaron presencia de lesión en un 12 % de los casos con bordes quirúrgicos negativos. Ante estos hallazgos, la presencia de afectación de bordes quirúrgicos es un factor de riesgo de persistencia que por sí sólo no justificaría la realización de reconización o histerectomía posterior (Rivero et al., 2009).

Según las estimaciones realizadas por Holowaty et al., Nuevo et al. y Centeno et al. en 2006 y Kocken et al. en 2011, en el 5-30,0 % de las pacientes tratadas se observaría enfermedad residual o recurrencia. Paraskevaïdis et al. (2001) observaron que las pacientes que habían sido tratadas mediante conización con láser y conización con asa de diatermia que tenían afectación del borde endocervical y/o exocervical mostraban un riesgo relativo de recurrencia de lesión preneoplásica del 8,2 %.

Algunos autores han realizado estudios sobre la afectación del borde quirúrgico, especificando qué borde era el afecto y si existía relación con la recurrencia de la enfermedad preneoplásica. Borchert et al. (2006) concluyeron en su estudio que la afectación del borde quirúrgico endocervical presentaba una mayor tasa de lesión residual que la afectación del borde exocervical.

En 2010 se publica un estudio realizado por Leguevaque et al. sobre trescientas cincuenta y dos mujeres conizadas mediante conización convencional o conización con asa de diatermia en las que valoraron los factores predictivos de recurrencia y persistencia. Relacionaron la afectación del borde quirúrgico endocervical y el resultado *test* ADN-HPV pre y post-tratamiento, y concluyeron que la afectación del borde endocervical era el segundo factor predictivo más importante de recurrencia, detrás de un resultado positivo en el *test* ADN-HPV a los seis meses del tratamiento quirúrgico.

Al valorar la localización del borde afecto en los 63 casos de nuestra serie observamos:

- a) En un 23,8 % de los casos no se especificaba la localización del borde afecto
- b) También en un 22,2 % existía afectación del borde exocervical
- c) El 44,4 % (28 casos) mostraban afectación endocervical
- d) En el 9,5 % de los casos existía afectación de ambos bordes

Al relacionar la localización del borde quirúrgico afecto y la lesión cervical:

- a) En los casos con HSIL se observó el doble de casos con afectación del borde endocervical que del borde exocervical, con un 24,0 y un 48,0 % de casos respectivamente

b) También observamos que predominaba la afectación del borde endocervical en los casos de carcinoma epidermoide (40,0 % de los casos)

c) En el 50,0 % de los casos de adenocarcinoma existía afectación de ambos bordes

d) No observamos una relación estadísticamente significativa ($p= 0,007$) entre estas dos variables.

Posteriormente hemos relacionado la localización de la lesión y el borde quirúrgico afecto, sin observar relación estadísticamente significativa ($p= 0,35$) aunque:

a) Si la lesión estaba presente en ambos labios, existía afectación del borde exocervical, endocervical y de ambos en el 33,3 % de los casos respectivamente

b) El 65,5 % de los casos con lesión localizada en el labio posterior de cérvix mostraron afectación del borde endocervical

Todos los estudios realizados sobre la afectación de los bordes quirúrgicos en los tratamientos escisionales mediante láser o conización con asa de diatermia de las lesiones preneoplásicas y su relación con el riesgo de recurrencia muestran que la resección incompleta de la lesión no es sinónimo de lesión residual, ya que mediante estos tratamientos se produciría un daño térmico en los bordes de resección así como una intensa reacción inflamatoria del tejido circundante que afectaría también a la lesión displásica (Puig-Tintoré et al., 2011)

VI.6.- SEGUIMIENTO

Ante el hecho de que la existencia previa de una lesión preneoplásica implica un riesgo de desarrollar posteriormente un carcinoma infiltrante en el área anogenital, el tratamiento de la misma no implica que ese riesgo haya desaparecido, por lo que estas pacientes deberían seguir un protocolo de revisiones periódicas. Souter et al. en 2005 concluyeron que existe un incremento del riesgo de desarrollar un cáncer invasor 5 veces mayor que en la población general e incluso éste podría desarrollarse a lo largo de diez-veinte años tras el tratamiento de la lesión. Según otros autores, entre ellos Rivero et al. (2009), el riesgo podría ser hasta veinte veces mayor con respecto a mujeres con citología cérvicovaginal normal.

El principal objetivo del seguimiento en estas pacientes es el diagnóstico precoz de enfermedad residual (persistencia de la lesión: lesión que se pone de manifiesto en cualquier control realizado durante los doce primeros meses tras el tratamiento) o recurrente (enfermedad de “novo”: presencia de lesión preneoplásica después del primer año de seguimiento, con citologías y colposcopias negativas previas), hecho que evitaría el riesgo de progresión a carcinoma. Independientemente del tratamiento realizado y del estado de los bordes quirúrgicos de la pieza quirúrgica, se debería realizar un control periódico de estas pacientes. Según la bibliografía existe un 5-10 % de casos tratados que presentarán persistencia o recidiva de su lesión tras el tratamiento a lo largo de los años. (Lu et al., 2006; Rivero et al., 2009). Incluso Souter et al., en un artículo publicado en 2006, estimaron que aproximadamente el 16% de los casos de carcinoma infiltrante de Inglaterra habrían sido tratados previamente por SIL.

Se ha valorado mediante diferentes estudios qué protocolo de seguimiento deberíamos utilizar en los casos de pacientes tratadas debido a una lesión preneoplásica, aunque éste depende de una serie de factores. Uno de los más importantes que clásicamente se ha descrito es el estado de los bordes quirúrgicos. Como hemos

comentado previamente, la afectación del borde superior, en la parte alta del canal endocervical y del margen profundo (por la afectación de cuellos glandulares) plantean un seguimiento difícil, dado que se puede producir un proceso de cicatrización sobre la lesión residual y la valoración citológica y colposcópica sería muy limitada (Rivero et al., 2009).

A lo largo de los años se han propuesto diferentes protocolos de seguimiento, que constaban de toma citológica, colposcopia, *tets* de ADN-HPV y diferentes combinaciones de los mismos realizados a intervalos variables de tiempo. En los primeros protocolos se incluía sólo la realización de una toma citológica y colposcopia realizada a los tres, seis y doce meses, según las características de cada caso. La recomendación era el seguimiento durante al menos dos años con citologías y colposcopia si procediera.

Posteriormente, desde 2005 se ha añadido la realización de prueba de detección de ADN-HPV a los seis y doce meses post-tratamiento (del Mistro et al., 2015). Como se ha comentado en la introducción, la infección persistente por HPV de AR es causa necesaria de desarrollo, persistencia y progresión a carcinoma en las lesiones preneoplásicas o SIL, por lo que diferentes autores como Chua et al. (1997), Bollen et al. (1999) y Rozendaal et al. (2000), asumieron que con el tratamiento de las lesiones preneoplásicas se produciría un aclaramiento del *test* ADN-HPV, mientras que si persistiera la lesión también persistiría la infección viral y se observaría un resultado positivo en el *test* ADN-HPV.

Algunos autores han demostrado que la prueba de detección de ADN-HPV es más eficaz que la citología para detectar enfermedad persistente o recurrente. La sensibilidad en este caso sería de hasta un 90 % a los seis meses del tratamiento e incluso algunos autores mantienen que esa sensibilidad se observaría hasta los dos años post-tratamiento. Zielinski et al. (2004), Paraskevaidis et al. (2001) y Coloma et al. (2004), han descrito una sensibilidad de la citología post-tratamiento en torno al 70 %.

Nobbenhuis et al. en 2001 reforzaron la necesidad de realizar citología y *test* ADN-HPV en el seguimiento de estas pacientes, dada la baja especificidad del *test* ADN-HPV.

En el control post-tratamiento se ha observado que la mejor actuación para detectar persistencia o recidiva de la lesión es realizar citología y colposcopia (Rivero et al., 2009). En los últimos años diferentes estudios, como el realizado por Kitchener et al., publicado en 2008, han demostrado la validez del *test* ADN-HPV a los seis y/o doce meses post-tratamiento, el cual presenta mayor sensibilidad que la citología en la identificación de mujeres con enfermedad residual e incluso tiene un alto valor predictivo negativo.

La recomendación general es la realización de una citología y una colposcopia cada seis meses y *test* ADN-HPV a los seis y doce meses post-tratamiento. Si el *test* fuera negativo o se obtuvieran dos citologías posteriores negativas la paciente volvería al protocolo de cribado normal, el cual debería ser realizado durante veinte años (Wright et al., 2006). Si existiera afectación de los bordes quirúrgicos se realizará una citología a los tres meses. Dependiendo de los resultados obtenidos, la paciente seguirá un protocolo adecuado en función de los mismos.

Según Puig-Tintoré et al. (2006), si la citología y el *test* ADN-HPV son negativos a los seis meses post-tratamiento, no existiría prácticamente riesgo de persistencia. Si posteriormente se observara una recidiva sería muy probable que se debiera a una nueva re-infección viral.

El seguimiento realizado en los diferentes estudios que evaluaban la posibilidad de enfermedad residual o recidiva tras tratamiento quirúrgico en las lesiones preneoplásicas de cérvix oscila entre los dos años (en la mayoría de los estudios) y los catorce años (Del Mistro et al., 2015). En España también se han realizado estudios con un seguimiento durante cinco años en el que se evaluaba el porcentaje de enfermedad residual o persistencia en trescientas ochenta y dos pacientes conizadas mediante asa con diatermia, como el realizado por Goya-Canino et al. publicado en 2005.

En nuestra serie el seguimiento medio fue de 58,2 meses (más de cuatro años), con un rango entre doce (un año) y ciento cuarenta y seis meses (más de doce años). Estos datos son similares al seguimiento realizado en otros estudios. Las mayores tasas de seguimiento se llevaron a cabo en los casos con carcinoma epidermoide y en los diagnosticados de HSIL, con una media de 58,7 (más de cuatro años) y 63,5 meses (más de cinco años). Respecto al seguimiento medio en los casos de adenocarcinoma fue de 13,5 meses (casi dos años).

Alonso et al. (2006) evaluaron a doscientas tres pacientes conizadas por HSIL, en cuyo seguimiento se realizaron citologías y determinaciones de ADN-HPV para determinar su posible valor como factores predictivos de enfermedad residual o recurrencia, y observaron que en un 21,2% de los casos la citología resultaba anormal (de diferente grado) y durante todo el seguimiento hasta el 31% de los casos mostraron alteraciones citológicas.

Bais et al. publicaron en 2009 un estudio aleatorizado en doscientas cuatro pacientes conizadas por HSIL con enfermedad residual o recurrente a los seis meses, un grupo diagnosticado sólo por citología y otro grupo por citología anormal y *test* ADN-HPV positivo. En el grupo diagnosticado por citología observaron citologías anormales en el 14,58% de los casos, frente al 7,2 % detectado en el otro grupo. Las últimas recomendaciones de seguimiento, según la bibliografía, indican que el seguimiento de estas pacientes durante el primer año postconización debería de ser mediante citología y/o *test* ADN-HPV así como colposcopia si procede.

En nuestra serie, se realizó seguimiento a los seis meses y/o doce meses postconización con toma citológica y/o *test* ADN-HPV en el 67,6 % (213 de 315 casos) en los que se observó un resultado citológico anómalo en el 3,0 % (11 casos), un *test* ADN-HPV positivo en el 7,3 % (23 casos) y positividad en ambos estudios en el 3,8 % (12 casos).

Verša et al. (2010) encontraron en el seguimiento de 251 pacientes tratadas mediante conización con diferentes técnicas una tasa de citología anormal del 15,2 % y

de positividad para *test* ADN-HPV del 15,7 %. Al comparar ambos estudios, se observa en nuestra muestra que el porcentaje de citología anormal y prueba de detección de ADN-HPV ha sido muy inferior al de este estudio.

El resultado citológico a los seis meses fue de alteraciones displásicas en el 9,3 % (11 casos (6,0 %) con LSIL y 6 casos (3,3 %) HSIL). El resto de casos (166) fueron informados como normales. Respecto al *test* ADN-HPV a los 6 meses postcono se observó negatividad en el 71,2 % (47 casos) y positividad en el 28,8 % restante (19 casos). Dentro de los casos positivos se observó infección persistente en el 7,6 % (5 casos) y en los 14 casos restantes la positividad fue debida a una infección por otro genotipo viral. Nuestros resultados, así, no difieren esencialmente de los obtenidos en el estudio realizado por Nagai et al. (2000), en el que observaron positividad del *test* ADN-HPV postconización en el 19,6 % de los casos y negatividad en el 80,4 %.

Al relacionar el estado de los márgenes quirúrgicos de la pieza de conización con el resultado de la prueba de detección de ADN-HPV, aunque no se observó relación estadísticamente significativa ($p= 0,88$), constatamos que la mayor parte de los casos con bordes afectos no tenían un *test* positivo (72,7 %) y sólo el resto de casos (27,3 %) tenían afectación de los bordes de resección. Además sólo en un caso se observó infección por el mismo genotipo viral (persistencia de la infección HPV) y los otros dos casos positivos (18,2 %) mostraron infección por otro genotipo viral. En los casos con bordes de resección libres de lesión displásica se observó positividad en este *test* en el 27,7 % de los casos (13 casos), con predominio de la infección por nuevos genotipos virales (10 de los 13 casos).

Song et al. (2006) encontraron una positividad para el *test* ADN-HPV postconización en pacientes con bordes quirúrgicos negativos de hasta el 17,4 %, aunque Distefano et al. (1998) han publicado estudios con hasta el 50 %, por lo que llegaron a sugerir que el tratamiento escisional era efectivo para el tratamiento de la enfermedad pero no para la infección por HPV.

VI.7.- ENFERMEDAD RESIDUAL Y RECIDIVA

Según la bibliografía, los tratamientos escisionales en HSIL presentan una elevada eficacia, por lo que la mayor parte de las pacientes tratadas con métodos escisionales no requerirán un tratamiento quirúrgico complementario; si bien diferentes investigaciones, como las realizadas por Ghaem-Maghami et al. en 2007 y Alonso et al. en 2006, indican que la tasa de fallo terapéutico puede alcanzar hasta el 48,0 %.

En nuestra investigación, el tratamiento quirúrgico mediante conización con asa de diatermia fue curativo en el 84,4 % (254 casos) tras la exclusión de los casos con diagnóstico de carcinoma, resultado similar al del estudio realizado por Rivero et al. en 2009.

La prevalencia de enfermedad residual o recurrente en pacientes con HSIL que han sido tratadas mediante conización con asa de diatermia se estima entre el 5 y el 30 % de los casos (Nuevo et al., 2000; Centeno et al., 2004; Puig-Tintoré et al., 2006). En nuestra serie la prevalencia de enfermedad residual y recidiva ha sido del 10,6 % (32 de 301 casos), tras la exclusión de los casos de carcinoma que habían sido tratados inicialmente mediante conización con asa de diatermia. En un meta-análisis realizado por Kocken et al. (2012) se muestra una prevalencia de CIN 2 (HSIL) recurrente y residual entre el 4,0 y el 11,9 % a los seis meses postconización.

Martin-Hirsh et al. (2000) encontraron un porcentaje de recurrencia o persistencia de CIN en mujeres conizadas entre el 5 y el 17 % independientemente del método escisional utilizado, resultados compatibles con los de nuestro estudio, ya que hemos observado presencia de enfermedad residual en el 8,3 % (25 casos) y recidiva en el 2,3 % (7 casos), ambas confirmadas histológicamente.

Se han descrito una serie de factores que clásicamente se han relacionado con un mayor riesgo de persistencia o recurrencia de las lesiones preneoplásicas, como son: (Puig-Tintoré et al., 2006)

1. Tamaño de la lesión

En cuanto al tamaño de la lesión se ha descrito inicialmente que cuanto mayor es el tamaño de la lesión mayor riesgo de afectación de los bordes quirúrgicos y por añadidura mayor riesgo de lesión residual y recidiva. En nuestro estudio el tamaño medio fue de ocho mm. con un máximo de quince y un mínimo de cuatro mm. Sólo disponíamos de esta información en veintiocho casos de treinta y dos (59,6 %)

2. Borde quirúrgico afecto

La afectación de los bordes quirúrgicos, sobre todo el borde endocervical, se ha considerado un factor predictivo de enfermedad residual por numerosos autores, aunque se ha constatado que actuaría más como un factor de riesgo de persistencia, ya que incluso en el 60,0 % de los casos descritos no se observará lesión residual ni recidiva posteriormente. También se ha descrito que hasta el 12,0 % de los casos de mujeres conizadas con bordes negativos podrían desarrollar lesión posteriormente.

Park et al. en un artículo publicado en 2007 sobre los factores de riesgo implicados en el desarrollo de enfermedad residual tras la conización, observaron una probabilidad de enfermedad residual entre el 3,0 y el 31,0 % si los bordes quirúrgicos del cono eran negativos y de entre el 30,0 y el 90,0 % si estaban afectados.

Según Jakus et al. (2001), podría haber afectación de los bordes endocervical, exocervical y/o profundo hasta en el 48,0 % de los casos tratados mediante cirugía.

En nuestro caso sólo existía afectación de los bordes quirúrgicos en el 20,0 % del total de casos (63 de 315 casos), con una tasa del 4,4 % (14 casos) en los que no se pudo especificar si existía afectación debido al intenso artefacto de electrocoagulación presente en la pieza. En los casos de enfermedad residual y recidiva de nuestra serie, 32 casos, sólo hemos constatado la afectación de los bordes en 19 casos (59,4 %), siendo negativos en 9 casos (28,1 %).

3. Edad

Respecto a la edad, existe controversia, aunque según los estudios realizados principalmente por Verguts et al. (2006), Strander et al. (2007) y Baloglu et al. (2010), las mujeres mayores de 35-50 años tendrían mayor riesgo de recurrencia que las mujeres menores de 35 años, posiblemente debido a una disminución de la inmunidad así como mayor riesgo de infección persistente por HPV. Según Flannely et al. (2001) y Paraskevaidis et al. (2003), la edad sería un factor de riesgo independiente de recidiva, siendo éste más elevado en pacientes conizadas mayores de 50 años

En nuestra serie no hemos observado esta asociación, ya que la edad media ha sido de 36,3 años, con un 75,1 % de casos con una edad inferior a 41 años (24 de 32 casos). Otros autores han relacionado la enfermedad residual y recidiva con una edad superior a los 50 años y en nuestro caso sólo hemos observado 1 caso (3,1 %) que presentó esta evolución.

4. Estado inmunológico

Según Shafi et al. (1990) y Anderson (2004), la afectación del estado inmunológico estaría también implicada en el incremento de riesgo de presentar lesión residual y

recidiva tras el tratamiento quirúrgico inicial, sobre todo en los casos de co-infección por HIV.

En nuestra serie, el 96,9 % de las pacientes eran inmunocompetentes (31 de 32 casos) y sólo 1 caso presentaba inmunodepresión por co-infección con HIV.

5. Persistencia de la infección por HPV post-tratamiento

La persistencia de la infección por HPV clásicamente ha sido relacionada con la resección incompleta de la lesión preneoplásica (Bollen et al. 1997); incluso algunos autores como Distefano et al. en 1998 publicaron un artículo donde mostraban la persistencia de la infección viral en mujeres tratadas con bordes libres. Mitchell et al. (1998) observaron una relación entre la positividad en los *test* ADN-HPV post-tratamiento y el volumen tumoral, a mayor volumen más riesgo de persistencia de la infección viral. Aunque el objetivo del tratamiento en las lesiones preneoplásicas es eliminar la lesión, también se observa que el HPV, tanto de bajo como de alto riesgo, se negativiza en las lesiones extirpadas completamente. Según Kjellberg et al. y Nagai et al. en el año 2000 y Elfgren et al. en el 2002, el aclaramiento de la infección viral tras la conización oscilaba entre el 85 y el 90 % de los casos, mientras que otros autores como Bollen et al. (1996) encontraron aclaramiento viral en el 50-70 % de los casos. Según Schiffman et al. (2011) en un estudio realizado en Costa Rica, más de la mitad de los casos con infección por HPV mostraban aclaramiento viral a los 6 meses.

Según diferentes autores, incluyendo Bollen et al. (1996), han mostrado un aclaramiento viral en el 50-70 % de las pacientes conizadas. En nuestro caso a los 6 meses se realizó *test* ADN-HPV a 66 casos, mostrando negatividad para el mismo en 47 casos (71,2 %), mientras que el porcentaje de negativos a los 12 meses era de 64,1 %, resultados que concuerdan con la mayoría de las publicaciones revisadas en la bibliografía.

Respecto a los casos con lesión residual y recidiva, se observaron 3 casos con *test* ADN-HPV positivo (9,4 %), 2 de manera aislada y uno presentaba además alteraciones citológicas. En 13 casos (40,6 %) no se realizó ningún estudio postconización a lo largo de 12 meses. En el *test* realizado a los 6 meses se observó un caso de infección persistente por el mismo genotipo viral (HPV 16) y a los 12 meses persistía la infección por el mismo virus, además de un nuevo caso que presentaba infección por otro genotipo viral, también de alto riesgo.

6. Carga viral antes del tratamiento

Algunos autores han relacionado las cifras de la carga viral del HPV pre-tratamiento con el riesgo de persistencia o recurrencia. Si la carga viral fuera mayor de 500 o 1000 URL existiría mayor riesgo de persistencia y/o recurrencia (Alonso et al. y Song et al., 2006).

En nuestro caso no disponíamos de datos sobre la carga viral.

VI.7.1.- CITOLOGÍA

Según algunos autores, incluyendo a Baldauf et al., 1998, la sensibilidad de la citología realizada durante el seguimiento en mujeres conizadas por lesión preneoplásica se sitúa alrededor del 70 % y esto influiría en la presencia de un significativo número de casos falsos negativos, lo cual retrasaría el diagnóstico de la enfermedad residual o recidiva (Leguevaque et al., 2010). Apgar et al. en 2009

mostraron que la sensibilidad de la citología postcono no mejoraba tras la realización de una colposcopia postconización.

En nuestra serie se realizó estudio citológico en el 59,4 % (19 casos) y en los que sí se realizó obtuvimos un resultado citológico anómalo en el 25,0 % (8 casos), por lo que la sensibilidad se situaría en torno al 53,0 %.

VI.7.2.- TEST HPV POSTCONO

Chan et al. (2009) hicieron una revisión de casos de mujeres conizadas por lesión preneoplásica y mostraron que el *test* ADN-HPV realizado a los 3 y/o 6 meses postcono podría identificar aproximadamente al 91 % de las pacientes con enfermedad residual, y sólo sería necesario realizar colposcopia en el 30 % de los casos para confirmar la lesión.

Nobenhuis et al. remarcaron, en un estudio retrospectivo de 103 casos, que sólo tuvieron un *test* ADN-HPV post-tratamiento en el 2 % de los casos con lesión residual, y que esto indicaba que este *test* tiene una baja tasa de falsos negativos, lo cual compensaría su baja sensibilidad durante el seguimiento de estas pacientes.

Según Del Mistro et al. (2015), se puede encontrar hasta un 13 % de casos con *test* ADN-HPV positivo en los 12 primeros meses postconización sin presencia constatable de enfermedad residual y este hecho ha sido relacionado con recidiva de la lesión preneoplásica.

En nuestro caso se realizó esta determinación, incluyendo los casos realizados a los 6 y 12 meses, al 21,0 % de las pacientes (66 casos) y sólo fue positivo en 35 casos (53,0 %). Respecto a los casos con enfermedad residual y recidiva, sólo se observó

positividad en 4 de los 47 casos (8,5 %), aunque esta determinación no se había realizado en 20 casos (42,6 %).

Según diferentes series, en el tratamiento de las lesiones preneoplásicas de cérvix mediante conización con asas de diatermia se observará entre un 5-48 % casos con enfermedad residual o recurrente (Nuevo et al., 2000, Centeno et al., 2004 y Lu et al., 2006). En nuestro estudio hemos constatado histológicamente la presencia de enfermedad residual y/o recidiva en el 10,6% de los casos diagnosticados de HSIL (32 casos), el 8,3 % (25 casos) fueron diagnosticados durante los 12 meses postconización (enfermedad residual) y el resto, el 2,3 % (7 casos) a partir de los 12 meses postconización tras unos resultados negativos durante ese tiempo de seguimiento. En todos estos casos se realizó un tratamiento quirúrgico posterior.

VI.7.3.- TRATAMIENTO QUIRÚRGICO COMPLEMENTARIO EN ENFERMEDAD RESIDUAL Y RECIDIVA

La indicación de tratamiento complementario debe ser individualizada teniendo en cuenta los diferentes factores implicados en el riesgo de persistencia o recurrencia de las lesiones preneoplásicas y los deseos genésicos de la paciente.

Clásicamente se realizaba una reconización si existía afectación de los márgenes de resección en la pieza de conización previa y/o persistencia de la lesión displásica.

En determinados casos, la afectación de los bordes o márgenes de resección en la pieza de conización no implica necesariamente la realización de una nueva conización cervical. Se puede realizar un seguimiento adecuado de las pacientes con afectación del

borde exocervical ya que su control mediante citología y colposcopia es fácil. Si el borde afecto es el borde superior (en la parte alta del canal endocervical y/o el profundo (a nivel de los cuellos y fondos glandulares), el control citológico y colposcópico es complicado ya que como hemos comentado previamente se puede producir una re-epitelización posterior al tratamiento que ocultaría la lesión tanto al realizar la citología como la colposcopia.

Tasci et al., en un artículo publicado en 2014, estudiaron a 74 pacientes a las que se les había realizado re-conización o histerectomía tras una conización previa por lesión preneoplásica y presentaban bordes quirúrgicos afectados por HSIL o casos con diagnóstico de carcinoma epidermoide microinfiltrante. Estos autores observaron la presencia de lesión residual en casi la mitad de las pacientes con tratamiento posterior. Además encontraron relación entre el número de cuadrantes con borde positivo de la pieza de conización y el riesgo de enfermedad residual, así que observaron presencia de enfermedad residual en el 80 % de los casos con afectación de más de dos cuadrantes.

En nuestra serie, en la mayor parte de los casos con enfermedad residual y recidiva, dieciocho de treinta y dos (56,3 %) se realizó posteriormente reconización y en siete casos (21,9 %) histerectomía. En el resto de casos, siete, se realizaron ambos procedimientos quirúrgicos.

Como hemos comentado previamente, la localización del borde afecto es uno de los factores a tener en cuenta en el riesgo de enfermedad persistente o recurrente, por lo que también hemos revisado si existía relación estadísticamente significativa entre la localización del borde afecto y la realización de tratamiento complementario: se realizaron más tratamientos complementarios si el borde afecto era el endocervical, en el 47,6 % de las reconizaciones y en el 44,4 % de las histerectomías, y no se observó relación estadísticamente significativa ($p=0,24$).

Reconización

Las recomendaciones para realizar una reconización, según la SEGO 2006, son las siguientes:

- a) Citología post-tratamiento: HSIL o carcinoma
- b) colposcopia-biopsia de cérvix: HSIL
- c) legrado endocervical positivo

Todos los estudios realizados sobre la afectación de los bordes quirúrgicos en los tratamientos escisionales mediante láser o conización con asa de diatermia de las lesiones preneoplásicas y su relación con el riesgo de recurrencia muestran que la resección incompleta de la lesión no es sinónimo de lesión residual, ya que mediante estos tratamientos se produciría un daño térmico en los bordes de resección así como una intensa reacción inflamatoria del tejido circundante que afectaría también a la lesión displásica (Puig-Tintoré et al., 2011).

Al relacionar los hallazgos histológicos en la pieza de conización inicial con los encontrados en la reconización no hemos observado ningún caso de progresión a carcinoma.

Histerectomía

Las indicaciones de histerectomía en los casos con lesión preneoplásica han sido, clásicamente, las siguientes:

1.- Afectación de 2-3 bordes quirúrgicos en la pieza de conización en paciente sin deseo gestacional

2.- Imposibilidad de control post-tratamiento

3.- Enfermedad benigna asociada

4.- Recidiva persistente tras tratamientos escisionales

Independientemente de las indicaciones, antes de la realización de una histerectomía en estas pacientes, se debería realizar una revisión cuidadosa de la vagina para descartar la posibilidad de VAIN (Neoplasia intraepitelial de vagina) (Puig-Tintoré et al., 2006). Según Hermann et al., no se puede excluir el riesgo de recidiva en la cúpula vaginal tras la realización de una histerectomía total.

Algunos autores, como Flannelly et al., en 1997 observaron recurrencia en el 5-10 % de las pacientes histerectomizadas tras tratamiento escisional en las lesiones preneoplásicas; del mismo modo que Lu et al., en el año 2000 y Lin et al., en 2001, han mostrado en sus estudios una tasa de enfermedad residual entre el 20 y el 35 % de las histerectomías. En nuestro caso se realizó histerectomía complementaria en 40 de los 315 casos, de los cuales sólo en 7 se observó lesión residual o recidiva (17,5 %), cifras que concuerdan con las publicadas por estos autores.

Respecto a los casos con enfermedad residual y recidiva se realizó sólo histerectomía complementaria en 7 casos, que fueron diagnosticados de HSIL en 6 casos (85,7 %) y en el otro caso restante se diagnosticó de adenocarcinoma, que se había mostrado en la pieza de conización previa HSIL.

En la bibliografía se describe que hasta en los casos de conización por HSIL se puede encontrar hasta un 1 % de casos que presentarán carcinoma infiltrante en el tratamiento complementario. En nuestro caso la prevalencia ha sido de 0,3 % con sólo 1 caso, diagnosticado de HSIL inicialmente y que en la evolución presentó un adenocarcinoma infiltrante.

Al comparar el diagnóstico previo en la pieza de conización con el diagnóstico en la pieza de histerectomía hemos observado:

- a) 1 caso con mayor grado de displasia en la pieza de histerectomía que en el cono inicial (LSIL a HSIL)

- b) 6 casos con menor grado de displasia (HSIL a LSIL)

- c) 1 caso de HSIL que en la pieza de conización presentaba carcinoma epidermoide

- d) 3 casos de carcinoma epidermoide concordantes en ambas muestras

- e) 50,0 % de concordancia en los casos de adenocarcinoma, ya que 1 caso de adenocarcinoma fue diagnosticado en el cono como HSIL

VI.8.- CASOS ESPECIALES

VI.8.1.- EMBARAZO

En los casos de pacientes embarazadas se tiende a tener una conducta expectante hasta el período postparto ya que se existe un bajo riesgo de progresión a carcinoma además de un alto porcentaje de regresión espontánea tras el parto (“Conferencia de consenso de ASCCP para determinar el manejo óptimo de la paciente con CIN” , Septiembre 2001.NIH Natcher Conference Center Bethesda, MD, USA; Puig-Tintoré et al., 2011)

En la bibliografía se han descrito los riesgos que presenta el tratamiento escisional de las lesiones preneoplásicas sobre los embarazos posteriores (Andia et al., 2011); Puig-Tintoré et al., 2011) como son:

Mayor riesgo de partos prematuros (11 % vs 7 %)

Bajo peso al nacer (8 % vs 4 %)

Rotura prematura de membranas (5 % vs 2 %)

En nuestra serie sólo hemos tenido en cuenta los casos de mujeres embarazadas con diagnóstico de HSIL que han sido conizadas en el período postparto

VI.8.2.- VAIN

La neoplasia vaginal intraepitelial (VAIN) es una entidad rara, que habitualmente se presenta en mujeres postmenopáusicas, aunque en realidad no se conoce su prevalencia. Su etiopatogenia está también asociada a la infección por HPV, su principal factor de riesgo, sobre todo el genotipo 16. La progresión de VAIN a carcinoma es inferior que de CIN a carcinoma, según la bibliografía revisada.

Se estima que su prevalencia es de alrededor del 1-3% de todas las neoplasias intraepiteliales cervicales (CIN) que han sido tratadas previamente y en las pacientes no tratadas sería de alrededor del 9-10 %, según Aho et al. (1991).

En nuestra serie de 301 casos de HSIL tratados quirúrgicamente sólo hemos observado 1 caso (0,33%).

En su fisiopatología se incluyen diferentes factores de riesgo, además de la infección por HPV, similares a los descritos en CIN, como son: tabaquismo, conducta sexual e inmunosupresión.

La edad media de presentación suele ser de 50 años, según Meler et al. (2007) con un amplio rango de presentación, entre 20 y 80 años. La edad de nuestro caso era de 34 años.

La localización más frecuente suele ser el tercio superior de la vagina, desarrollándose como una extensión de la lesión cervical. También se ha descrito que estas pacientes suelen tener de forma sincrónica o metacrónica lesiones preneoplásicas en cérvix y/o vulva hasta en el 75 % de los casos, formando parte de lo que se ha llamado “enfermedad multicéntrica del tracto genital inferior (TGI)”. En nuestro caso estaba localizado en cúpula vaginal.

En nuestra serie sólo en 1 caso se observó lesión preneoplásica tras conización en otra localización del tracto ano-genital, concretamente en vagina. Se trata de una

paciente de 34 años, inmunocompetente, cuyos antecedentes obstétricos eran: dos gestaciones previas, un aborto y un parto, uso de ACO, sin datos sobre hábito tabáquico, que es remitida a consulta de patología cervical por resultado anómalo en citología previa realizada en consulta privada de ginecología. El resultado citológico fue de HSIL y el *test* ADN-HPV demostró infección por HPV 16. Se le realizó colposcopia que fue informada de “cambios mayores” y se le realizó una biopsia de cérvix (localizada en 2, 4, 7 y 9 h) cuyo resultado histológico fue de HSIL (CIS). A los cinco meses se le realizó conización con asa de diatermia, mostrando en la pieza quirúrgica dos lesiones diagnosticadas de HSIL (CIS) en labio anterior y labio posterior, con un tamaño de 14 y 5mm respectivamente. Existía afectación del borde quirúrgico exocervical. La paciente ha sido seguida durante treinta meses, sin mostrar alteraciones en los controles posteriores a los 6 y 12 meses postcono. En el último control, realizado a los treinta y seis meses postcono, la citología mostró cambios de LSIL y *test* ADN-HPV positivo, con infección por HPV 54 y 62. Se le realizó estudio colposcópico observando una lesión en la cúpula vaginal, de la que se tomó muestra. El resultado de la biopsia fue de VAIN2.

VII. CONCLUSIONES

1.- La conización con asa de diatermia es el método de elección para el tratamiento de las lesiones preneoplásicas del cérvix uterino. Este tratamiento muestra una alta tasa de curación, aún cuando durante la evolución de algunos casos pueda tener lugar durante enfermedad residual y/o recidiva.

2.- La afectación del borde quirúrgico en la pieza de conización, fundamentalmente el endocervical, y la persistencia de infección por HPV-AR son los factores de riesgo más importantes implicados en el riesgo de enfermedad residual y/o recidiva, si bien la afectación de dichos bordes no implica necesariamente la presencia de enfermedad residual, así como tampoco su negatividad implica la eliminación del riesgo de enfermedad residual o recidiva.

3.- El tratamiento de la lesión preneoplásica no excluye la necesidad de realizar un seguimiento protocolizado para detectar la posibilidad de enfermedad residual y/o recidiva e incluso de la denominada “enfermedad multicéntrica del tracto genital inferior”, con valoración no sólo del cérvix uterino sino también de todo el tracto anogenital, mediante estudio citológico y/o *test* ADN-HPV, a los seis y doce meses postconización, ya que la mayor parte de los casos con enfermedad residual y/o recidiva se desarrollan durante el primer año postconización. Sin embargo, la negatividad en estas pruebas no excluye la necesidad de seguir realizando un seguimiento adecuado, ya que estas pacientes tienen mayor riesgo para el desarrollo de lesiones preneoplásicas y cáncer en el tracto genital inferior que la población general.

4.- La edad media de las pacientes afectadas por lesiones preneoplásicas o neoplásicas en cérvix uterino depende del grado de lesión; así, la edad media de las pacientes diagnosticadas de HSIL es significativamente inferior a la edad media de las pacientes afectadas por carcinoma.

5.- La población estudiada determina variaciones en la prevalencia de los diferentes genotipos de HPV, y la mayor parte de los casos con HSIL y/o carcinoma mostrarán infección por genotipo de alto riesgo (AR). En el área de influencia del Complejo Asistencial Universitario de León, a diferencia de lo que se refiere sobre la población española, los genotipos HPV más frecuentemente detectados, incluyendo los casos de infección multigenómica, son los siguientes: 16, 31, 18, 58 y 33; mientras que en los casos diagnosticados de HSIL se detecta infección por HPV de AR en una mayoría de casos cercana al 99,5 %, siendo los genotipos más frecuentes: 16, 31, 33, 58 y 18.

6.- Durante el seguimiento de las pacientes infectadas por HPV, no sólo se puede detectar positividad para el mismo genotipo viral en el *test* ADN-HPV, sino también es posible observar infección por un nuevo genotipo viral, hecho que implica la presencia de una nueva infección.

VIII. PROYECTOS DE FUTURO

Cuando iniciamos nuestro trabajo de investigación, el planteamiento del mismo, así como la obligada limitación en el espacio y el tiempo para su realización y finalización, nos llevó a centrarnos en aspectos concretos a los que queríamos dar cumplida respuesta y, en la medida de nuestras posibilidades, así lo hicimos.

Sin embargo, con la presentación de esta tesis no podemos, ni queremos, dar por finalizado nuestra dedicación al estudio de los procesos displásicos del cuello uterino, sino que esperamos poder seguir aportando nuestro humilde granito de arena en la mejora de las perspectivas de tantas mujeres infectadas por el Virus del Papiloma Humano, o afectadas de lesiones preneoplásicas en el cérvix, en nuestro entorno, pues, como expresó brillantemente Mario Benedetti, *Cuando creíamos que teníamos todas las respuestas, de pronto, cambiaron todas las preguntas, y hoy por hoy creemos necesario investigar la epidemiología de las futuras pacientes conizadas en la era post-vacunación HPV.*

De hecho, hoy en día ya se han realizado y se realizarán en un futuro próximo estudios sobre el genotipo de la infección por HPV en las pacientes vacunadas, así que consideramos que una de las líneas de investigación que reviste gran interés consiste en el estudio epidemiológico de los casos con lesión preneoplásica de alto grado (HSIL) que requieran un tratamiento quirúrgico para comparar los hallazgos con respecto al presente estudio, para constatar, si existen, las posibles diferencias o cambios generados por la vacunación, así como su significación.

IX. Resumen

Con el objetivo de valorar la evolución y seguimiento realizado en las pacientes conizadas en el Servicio de Ginecología del Complejo Asistencial Universitario de León, y analizar los diferentes parámetros histológicos en la pieza de conización, así como la prevalencia de infección por HPV y su genotipado, en este trabajo hemos revisado las historias clínicas de 315 casos de pacientes conizadas por lesión preneoplásica del cérvix uterino (HSIL) o discrepancia entre los resultados citológicos y la biopsia, durante el periodo comprendido entre el 1 de enero de 1999 y el 31 de diciembre de 2009. Se ha realizado un análisis descriptivo y estadístico de los siguientes parámetros: edad, antecedentes obstétricos, hábito tabáquico, anticoncepción hormonal, estado inmunitario, número de citologías previas, HPV (*test*, infección monogenómica/multigenómica, genotipado (AR/BR y genotipo), citología, colposcopia, biopsia de cérvix, pieza de conización: diagnóstico, localización de la lesión, tamaño, estado de los bordes quirúrgicos, seguimiento con citología y/o *test* ADN-HPV, enfermedad residual y/o recidiva), con estudio de los citados parámetros y estudio de casos especiales como son el embarazo y enfermedad multicéntrica del tracto genital inferior.

Del estudio descriptivo y estadístico de los datos obtenidos observamos una edad media de 36,8 años con un rango entre 30 y 77 años. La mayor parte de los casos se encontraban entre los 31 y los 40 años (40,3 %), y los rangos entre los 20 y 30 años y entre los 41-50 años presentaban frecuencias similares (26,9 y 27 % respectivamente). La mayor parte de los casos fueron tratados mediante conización por la presencia de HSIL, diagnosticado previamente mediante citología y/o biopsia, en el 79,4 % de los casos. No se observó relación estadísticamente significativa entre el diagnóstico en la pieza de conización y gravidez o número de abortos previos, hábito tabáquico, anticoncepción hormonal y alteración del estado inmunitario. En el 59,7% de los casos se observó positividad en el *test* ADN-HPV, con un 34,6 % de casos con infección multigenómica. No se observó relación estadísticamente significativa entre la categoría diagnóstica y el tipo de infección. En el 98,4% de los casos con *test* ADN-HPV positivo

la infección estaba producida por un genotipo de AR, y en el 34,6 % de los casos existía infección multigenómica sin observar relación estadísticamente significativa. Los genotipos más frecuentemente encontrados fueron el HPV 16 (61,1 %), 31 (9,0 %), 58 (4,8 %) 33 (4,3%) y 18 (3,2%). La colposcopia detectó cambios mayores en el 32,4 % de los casos (34,4 % de HSIL, 50,0 % de carcinoma epidermoide) y sólo en el 2,9 % fue sospechosa de malignidad (2,4 % de HSIL, 16,7 % de carcinoma epidermoide y 0,0 % de adenocarcinoma). En el 20,0 % se observó afectación de los bordes quirúrgicos, siendo el borde endocervical el más frecuentemente afecto. En el seguimiento postconización se observó alteración de la citología en el 3,5 % de los casos, del *test* ADN-HPV en el 7,3 % y de ambas pruebas en el 3,8%. No se observó relación entre el estado de los bordes y la positividad en el *test* ADN-HPV. En el 10,6 % de los casos no diagnosticados de carcinoma se observó enfermedad residual y/o recidiva (32 de 301 casos). En estos casos predominaba la afectación de los bordes quirúrgicos (59,4 % frente al 28,1 %), siendo el borde afecto más frecuente el endocervical, con un 18,8 %. En el 31,3 % de esos casos se observó alteración en citología y/o *test* ADN-HPV realizados a los 6 y/o 12 meses postconización, con sólo un 9,4 % de casos con *test* ADN-HPV positivo. En el 56,3 % se realizó una reconización posterior además de histerectomía o sólo histerectomía, en el 21,9 %. En todos los casos de reconización o histerectomía se confirmó el diagnóstico de HSIL no siendo así en todos los casos de ambos tratamientos, ya que la lesión se habría extirpado en la totalidad en la pieza de reconización. Solo en 1 de los 315 casos muestreados se observó “enfermedad multicéntrica del tracto genital inferior” diagnosticando VAIN en la cúpula vaginal a los 3 años postconización.

Aunque la conización con asa de diatermia para el tratamiento de las lesiones preneoplásicas del cérvix muestra una alta tasa de curación, existe un porcentaje de casos que presentarán a lo largo de su evolución enfermedad residual y/o recidiva, independientemente del estado de los bordes quirúrgicos en la pieza de conización. Para evitar este riesgo se realiza un seguimiento protocolizado que incluye la realización de un estudio citológico y/o *test* ADN-HPV, cuyos resultados determinarán la realización

de un tratamiento complementario posterior o un seguimiento diferente. La sensibilidad y especificidad de ambas pruebas es elevada, aunque no se excluye la necesidad de un seguimiento a largo plazo dado que el riesgo presente en estas pacientes es más elevado que en la población en general. Además, este seguimiento también detecta la presencia de infección persistente e incluso de reinfecciones por otros genotipos virales.

Es importante realizar estudios de prevalencia del genotipado del HPV en las diferentes áreas del país que permitirán tener un mayor conocimiento de las características de esta infección y su oncogénesis así como de la efectividad de la vacunación frente al HPV en la población femenina. En nuestra serie los genotipos más frecuentemente detectados han sido: 16, 31, 18, 58 y 33, datos que demuestran una diferencia con otros estudios realizados en España.

X. SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the progression, histopathological characteristics and the genotype-specific prevalence of Human Papilloma Virus (HPV) in women that underwent cervical conisation (LEEP) at the Gynaecologist Service of Leon University Hospital, Spain, between 1/1/1999 and 31/12/2009. The study population comprised 315 women that met the inclusion criteria, high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) diagnosis and/or discrepancies between cytology and biopsy results. Data from clinical records of mentioned patients was statistically analysed, including: age, previous gynaecological history, smoking habits, methods of contraception, immunity state, number of previous vaginal smears, genotype of HPV, cytology, biopsy and colposcopy results. In addition, evaluation of cone biopsy: diagnosis, location and size of the lesions and follow-up with cytology and/or ADN test as well as special circumstances such as pregnancy and multicentric lesions of the lower genital tract were also assessed.

Patients ranged in age from 30 to 77 years with a mean of 36,8 years. Most women were between 31 and 40 years (40,3 %), followed by 41-50 (27,0 %) and 20-30 years (26,9%). The vast majority of cases were treated with cervical conisation after HSIL diagnosis. Positive diagnosis was made by cytology and/or biopsy in 79.4% cases. No significant association was found among cone-biopsy and pregnancy, abortions, smoking habits, contraception measures or immune system state. Sixty percent of cases presented with a positive HPV-DNA test, of which 34,6% showed multiple type infections. Infection by AR genotype was demonstrated in 98,4% cases, of which 34,6% evidenced multiple type infections. The most frequently encountered genotypes of HPV in our study population were; 16 (61,1 %), 31 (9 %), 58 (4,8 %) 33 (4,3%) y 18 (3,2%).

The colposcopy technique was able to identify major changes at the cervix in 32,4% cases (34,4 % HSIL and 50,0 % epidermoid carcinoma) and malignant changes in 2,9% cases (2,4 % HSIL and 16,7 % epidermoid carcinoma). Moreover, colposcopy was also useful detecting positive surgical margins in 20 % cases, in which endocervical margin was most commonly affected.

Follow up post-conisation revealed an abnormal cytology in 3,5 % cases, positive HPV-DNA test in 7,3 % cases and both abnormal tests in 3,8 %. No significant association between margins and positive HPV-DNA test was found. Recurrence of disease was detected in 10.6% cases (32/301), of which surgical margins were commonly affected (59,4%), particularly endocervical margin (18,8 %). In 31, 3% cases of recurrence, abnormal cytology and/or HPV-DNA test was observed at 6 and/or 12-month postconisation, with only 9.4 % cases positive for HPV-DNA test. Fifty-six percent of patients underwent posterior-reconisation and hysterectomy and 21,9 % hysterectomy. HSIL diagnosis was confirmed in all the patients that sustained reconisation or hysterectomy. However positive diagnosis was not achieved in patients that were treated with both surgical techniques, as the lesion had been surgically excised in its totality during the reconisation process. Multicentric lesions of the lower genital tract was found in one case out of the 315 examined. In this case a VAIN diagnosis of the vaginal vault 3 years postconisation was confirmed.

Although diathermia handle conisation has a good success rate for the treatment of preneoplastic cervical lesion, there is a percentage of cases that will present recurrence regardless of the surgical margins achieved by the cone biopsy. In order to avoid this risk the patients will follow and standardised protocol, including cytology and/or HPV-DNA test. The results of these tests will determine the subsequent complementary treatment and/or specific follow-up. Although the sensitivity and specificity of both tests are elevated, a long term follow up is necessary due to the increased risk of these patients compared to the general population. Furthermore, this long term follow up will also aid to detect persistent infections or reinfections by different viral genotypes.

It is important to perform prevalence studies of HPV genotypes in different areas of the country to understand the mechanisms of infection, oncogenesis and vaccination effectiveness against HPV in female population. Our study revealed that genotype 16, 31, 18, 58 and 33 were the most common in our study population, in contrast to other studies conducted in Spain.

XI. BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Alameda F, Mancebo G, Lloveras B, Sole JM, Garrigos L, Carreras R, Arumi-Uria M, Albanell J, Serrano S, Rojo F. Vías de señalización intracelular en el carcinoma escamoso infiltrante de cérvix uterino. Identificación de nuevos marcadores pronósticos. Revista Española de Patología; 2014;47(2): 69-75.
- 2.- Alba A, Bosch F, Castellsagué X, Junquera M, Muñoz N, Pérez C, Solares C, Tardón A, Velasco J. (2007). La infección por VPH. Barcelona: BYPASS Ediciones.
- 3.- Alonso I, Torné A, Puig-Tintoré LM, Esteve R, Quinto L, Campo E, Pahisa J, Ordi J. Pre- and post-conization high-risk HPV testing predicts residual/recurrent disease in patients treated for CIN 2-3. Gynecologic Oncology, 2006; 103(2):631-6.
- 4.- Andia D, Mozo de Rosales F, Villasante A, Rivero B, Díez J, Pérez C. Pregnancy outcome in patients treated with cervical conization for cervical intraepithelial neoplasia. International Journal of Gynaecology Obstetrics, 2011; 112: 225-228.
- 5.- Anttila T, Saikku P, Koskela P, Bloigu A, Dillner J, Ikäheimo I, Jellum E, Lehtinen M, Ikonen P, Hakulinen T, Närvanen A, Pukkala E, Thoresen S, Youngman L, Paavonen J. Serotypes of *Chlamydia trachomatis* and Risk for Development of Cervical Squamous Cell Carcinoma. JAMA, 2001;285(1):47-45. Doi:10.1001/jam.285.1.47.
- 6.- Appleby P, Beral V, de Gonzalez AB, Colin D, Franceschi S, Green J, La Vecchia C, Peto J, Plummer M, Randi G, Sweetland SC, I.C. Epidemiological. Cervical carcinoma and reproductive factors: collaborative reanalysis of individual data on 16, 563 women with cervical carcinoma and 33, 542 women without cervical carcinoma from 25 epidemiological studies. International Journal of Cancer, 2006;119 (5): 1108–1124
- 7.- Appleby P, Veral V, Berrington de González A, Colin D, Franceschi S, Doodhill A, Green J, Peto J, Plummer M, Sweetland S. Cervical cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data for 16,573 women with cervical cancer and 35,509 women without cervical cancer from 24 epidemiological studies. The Lancet, 2007; 370(9599):1609-21.

- 8.- Arbyn M, Ronco G, Antila A, Meijer CJ; Poljak M, Ogilvie G, Koliopoulos G, Naucler P, Sankaranarayanan R, Peto J. Evidence Regarding Human Papillomavirus Testing in Secondary Prevention of Cervical Cancer. *Vaccine*. 2012; 30 (5): F88-99.
- 9.- Autier P, Coibion M, Huet F, Grivegne AR. Transformation zone location and intraepithelial neoplasia of the cervix uteri. *British Journal of Cancer*, 1996; 74:488-90
- 10.- Barker B, Garcia F, Lozevski J, Warner J, Hatch K. The correlation between colposcopically directed cervical biopsy and loop electrosurgical excision procedure pathology and the effect of time on that agreement. *Gynecologic Oncology* 2001; 82:22-6.
- 11.- Beguiristáin JA, De la Fuente Pérez P. Tratado de Obstetricia y Ginecología. Madrid: Mcgraw-Hill Interamericana, D.L. 2007.
- 12.- Bollen LJM; Tjong-A-Hung SP, Van der Velden J, Jacobus MD, Mol BW, Boer K, Ten Kate FWJ, Bleker O, Schegget JT. Clearance of cervical human papillomavirus infection by treatment for cervical dysplasia. *Sexually Transmitted Diseases*,1997; 24: 456-60.
- 13.- Bonardi R, Cecchini S, Grazzini G, Ciatto S. Loop electrosurgical excision procedure of the transformation zone and colposcopically directed punch biopsy in the diagnosis of cervical lesions. *Obstetrics & Gynecology*, 1992; 80: 1020-2.
- 14.- Boonlikit S, Noinual N. Vaginal intraepithelial neoplasia: a retrospective analysis of clinical features and colpohistology. *Journal of Obstetrics & Gynaecology Reproductive*, 2010; 36 (1):94-100.
- 15.- Bosch FX, Burchell A, Schiffman M, Giuliano A, de Sanjosé S, Bruni L, Tortolero-Luna G, Kruger S, Muñoz N. Epidemiology and Natural History of Human Papillomavirus Infections and Type-Specific Implications in Cervical Neoplasia. *Vaccine*, 2008; 26(10): K1-K16.

- 16.- Bosch FX, Castellsagué X, Cortes X, Puig-Tintoré LM, Roura E. Estudio AFRODITA. Cribado del cáncer de cuello uterino en España y factores relacionados. (Barcelona), GSK Eds, 2009. ISBN: 978-84-691-8490-S.
- 17.- Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. Journal of Clinical Pathology, 2002; 55 (4):244-65.
- 18.-Bosch FX, Manos MM, Munoz N, Sherman M, Jansen, AM, Peto J, Schiffman MH, Moreno V, Kurman R, Shah KV. International Biological Study in Cervical Cancer Study Group Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. Journal of the National Cancer Institute, 1995; 87:796–802.
- 19.- Bosch FX. Human papillomavirus: science and technologies for the elimination of cervical cancer. Expert Opinion on Pharmacotherapy, 2011;12(14):2189-204.
- 20.- Bray F, Ren JS, Masuyer E, Ferlay J. Estimates of global cancer prevalence for 27 sites in the adult population in 2008. International Journal of Cancer, 2013; 132(5):1133-45. doi: 10.1002/ijc.27711. Epub 2012 Jul 26.
- 21.- Bruni L, Díaz M, Castellsagué M, Ferrer E, Bosch FX, de Sanjosé. Cervical Human Papillomavirus Prevalence in 5 Continents: Meta-Analysis of 1 Million Women with Normal Cytological Findings. The Journal of Infectious Diseases, 2010; 202: 1789
- 22.- Burchell AN, Winer RL, de Sanjose S, Franco E. Chapter 6: Epidemiology and transmissions dynamics of genital HPV infection. Vaccine, 2006; 24 (Suppl 3): S52-S61.
- 23.- Cantor SB, Atkinson EN, Cardenas-Turanzas M, Benedet JL, Follen M, MacAulay C. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia. Acta Cytologica, 2005; 49:405-415.

- 24.- Castellsagué X, Bosch FX, Muñoz N, Meijer C, Shah K, de Sanjosé S, Eluf-Neto J, Ngelangel MD, Chichareon S, Smith J, Herrero R, Moreno V, Franceschi S, for the International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Male circumcision, penile human papillomavirus infection, and cervical cancer in female partners. The New England of Journal of Medicine, 2002. 34: 1105-1112.
- 25.- Castellsague X, Bosch FX; Muñoz N. Environmental co-factors in HPV carcinogénesis. Virus Research,,2002; 89; 191-9.
- 26.- Castellsagué X, Muñoz N. CHAPTER 3: Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis-role of parity, oral contraceptives and tobacco smoking. The Journal of the National Cancer Institute Monographs 2003 (31): 20-28.
- 27.- Castle PE, Rodríguez AC, Burk RD, Herrero R, Wacholder S, Alfaro M, Morales, Guillen D, Sherman M, Soloman D, Schiffman. Proyecto Epidemiológico Guanacaste (PEG) Group. Short term persistence of huan papillomavirus and risk of cervical precancer and cancer: population base cohort study. British Medical of Journal, 2009; 339: b2569. doi:10.1136/bmj.b2569
- 28.- Castle PE, Walker J, Schiffman M, Wheeler C. Hormonal contraceptive use, pregnancy and parity, and the risk of cervical intraepithelial neoplasia 3 among oncogenic HPV DNA-positive women with equivocal or mildly abnormal cytology. International Journal of Cancer, 2005; 117: 1007-1012.
- 29.- Cattani P, Siddu A, D'Onghia S, Marchetti S, Santangelo R, Vellone VG, Zannoni GF, Fadda G. RNA (E6 and E7) Assays versus DNA (E6 and E7) Assays for Risk Evaluation for Women Infected with Human Papillomavirus. Journal of Clinical Microbiology, 2009; 47: 2136-41. doi: [10.1128/JCM.01733-08](https://doi.org/10.1128/JCM.01733-08)
- 30.- Centeno C, Xercavins J. En: Patología del tracto genital inferior y colposcopia en España. Barcelona: Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia. 2004. P.16.

- 31.- Chan BK, Melnikow J, Slee CA, Arellanes R, Sawaya GF. Posttreatment human papillomavirus testing for recurrent cervical intraepithelial neoplasia: a systematic review. American Journal of Obstetrics & Gynecology, 2009; 200(4): 422e-9
- 32.- Chappatte OA, Byrne DL, Raju KS, Nayagam M, Kenney A. Histological differences between colposcopic-directed biopsy and loop excision of the transformation zone (LETZ): a cause for concern. Gynecologic Oncology, 1991; 43:46-50.
- 33.- Chaturvedi AK, Katki HA, Hildesheim A, Rodríguez AC, Quint W, Schiffman M, Van Doorn LJ, Porras C, Wacholder S, González P, Sherman ME, Herrero R. Human Papillomavirus infection with multiple types: pattern of coinfection and risk of cervical disease. The Journal of Infectious Diseases, 2011; 203 (7):910-20.
- 34.- Chua KL., Hjerpe A. Human papillomavirus analysis as a prognostic marker following conization of the cervix uteri. Gynecologic Oncology, 1997; 66: 108-16.
- Clavel C, Masure M, Bory JP, Putaud I, Mangeonjean C, Lorenzato M, Nazeyrollas P, Gabriel R, Quereux C, Birembaut P. Human papillomavirus testing in primary screening for the detection of high-grade cervical lesions: a study of 7932 women. *British Journal of Cancer*, 2001; **89**: 1616–23.
- 35.- Clifford G, Smith JS, Aguado T and Franceschi S. Comparison of HPV type distribution in high-grade cervical lesions and cervical cancer: a meta-analysis. British Journal of Cancer, 2003; 89(1):101–105. <http://dx.doi.org/10.1038%2Fsj.bjc.6601024>.
- 36.- Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Muñoz N, Snijders PJF, Vaccarella S, Anh PTH, Ferreccio C, Hieu NT, Matos E, Molano M, Rajkumar R, Ronco G, de Sanjosé S, Shin HR, Sukvirach S, Thomas JO, Tunsakul S, Meijer CJLM, Franceschi S. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. The Lancet, 2005; 366:991–8.

- 37.- Cogliano V., Baan R., Straif K., Grosse Y., Secretan B., El Guissassi F. and the WHO International Agency for Research on Cancer. Carcinogenicity of Human Papillomaviruses. Lancet Oncology, 2005; 6: 204.
- 38.- Coleman D, Day N, Douglas G. Farmery E, Lynge E, Philip J, Segnan N. European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening. Europe against cancer programme. European Journal of Cancer, 1993; 29A (Suppl 4): S1-S38.
- 39.- Coloma F, Niguez I, Diago JV. Valor del HPV-DNA como factor pronóstico de la recidiva tras conización cervical en pacientes con HSIL. Revista Española de Obstetricia y Ginecología, 2004; 39-41.
- 40.- Conner S, Cahill A, Tuuli M, Stamilio D, Odibo A, Roehl K, Macones G. Interval from Loop Electrosurgical Excision Procedure to Pregnancy and Pregnancy Outcomes. Obstetrics & Gynecology, 2013; 122(6): 1154-1159.
- 41.- Coronado P, Fasero M, Ramirez M, Arab C, Bellon M, García J, Vidart JA. La inmunosupresión es un factor mayor de riesgo en la recidiva de las lesiones del tracto genital inferior asociadas al virus del papiloma humano. Progresos de Obstetricia y Ginecología. 2010. 53(5): 179-188.
- 42.- Cortés J, Martín-Torres F, Ramón y Cajal JM, Gil A, Velasco J, Abizanda M, Miranda P y Garrido R. Prevención primaria y secundaria de los cánceres de cuello de útero y vulva: recomendaciones para la práctica clínica. Progresos de Obstetricia y Ginecología, 2010; 53 (Supl.1):1-19
- 43.- Cortés J, Xercavins J, Garrido R, Miranda P, Ramón y Cajal JM, Velasco J, Grupo de Estudio CRIVAC VPH España. Conocimientos y adherencia a las nuevas recomendaciones de la SEGO para la prevención del cáncer de cuello de útero por parte de los ginecólogos españoles en la práctica diaria. Progresos de Obstetricia y Ginecología, 2012; 55:153-64.

- 44.- Cortés J. III Foro Español de Actualización en Virus del Papiloma Humano. SEGO 2011. Gráficas Albadalejo, S.L.
- 45.- Culp TD, Spatz CM, Reed CA, Christensen ND. Binding and neutralization efficiencies of monoclonal antibodies, Fab fragments, and scRv specific for L1 epitopes on the capsid of infectious HPV particles. *Virology*, 2007; 361, 435–446.
- 46.- Cuzick J, Arbyn M, Sankaranarayanan R, Tsu V, Ronco G, Mayrand MH, Dillner J, Meijer C. Overview of human papillomavirus-based and other novel options for cervical cancer screening in developed and developing countries. *Vaccine*, 2008, 26 (10):K29-K41.
- 47.- Dalla P, Moresco L, Giorgi P and Working Group Authors. Health Technology Assessment of Computer-Assisted Pap Test Screening in Italy. *Acta Cytologica*, 2013; 57: 349-58.
- 48.- Dalla Palma, Moresco L, Giorgi P. Health technology assessment report: Computer-assisted Pap test for cervical cancer screening. *Epidemiologia & Prevenzione*, 2012; 36 (5) (Suppl. 3):e1-43
- 49.- Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, Heller DS, Henry MR, Luff RD, McCalmont T, Navar R, Palefsky JM, Stoler MH, Wilkinson EJ, Zaino RJ, Wilbur DC, Members of LAST Project Work Groups. The lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologist and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 2012; 136 (10):1266-97.
- 50.- de la Fuente P. Patología tumoral del cuello uterino. En: Usandizaga Beguiristáin JA, De la Fuente Pérez P. *Tratado de Obstetricia y Ginecología*. Vol. 2. 2ª ed. Madrid. Mc Graw-Hill Interamericana, 2005; p. 345-384.

- 51.- de Sanjosé S., Cortés X., Méndez C., Puig-Tintore L., Torné A., Roura E., Bosch FX., Castellsague X. Age at sexual initiation and number of sexual partners in the female Spanish population Results from the AFRODITA survey. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, 2008; 140 (2): 234-240.
- 52.- de Sanjosé S, Díaz M, Castellsagué X, Clifford G, Bruni L, Muñoz N, Bosch FX. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. The Lancet Infectious Diseases, 2007; 7:453-9.
- 53.- de Sanjosé S., Almirall R., Lloveras B., Font R., Díaz M., Muñoz N., Catalá I., Meijer CL., SnijdersPJ., Herrero R., Bosch FX. Cervical human papillomavirus infection in the female population in Barcelona, Spain. Sexually Transmitted Diseases, 2003; 30: 788-793.
- 54.- de Sanjosé S., Valls I., Paz M., Cañadas MP, Lloveras B., Quintana MJ., Shah K., Bosch FX. HPV and human immunodeficiency virus infections as risk factors for cervix cancer in women prisoners. Medicina Clinica, 2000; 115: 81-84.
- de Villiers EM, Fauquet C, Broker T, Bernard HU, Zur Hausen. Classification of papillomaviruses. Virology, 2004; 324:17-27.
- 55.- Denny LA, Soeters R, Dehaeck K, Bloch B. Does colposcopically directed punch biopsy reduce the incidence of negative LLETZ? British Journal of Obstetrics & Gynaecology, 1995; 102: 545-8.
- 56.- Dexeus S, Cararach M, Dexeus D. The role of coposcopy in modern gynecology. European Journal of Gynecology Oncology, 2001; 23; 269-277.
- 57.- Duerr A, Kieke B, Warren D, Shah K, Burk R, Peipert J, Schuman P, Klein. Human papillomavirus-associated cervical cytologic abnormalities among women with or at risk of infection with human immunodeficiency virus. American Journal of Obstetrics and Gynecology, 2001; 184:584-590.

- 58.- Dunne E, Unger E, Stenberg M, McQuillan G, Swan D, Patel S, Markowitz. Prevalence of HPV infection among females in the United States. *Jama*, 2007; 297 (8):813-819.
- 59.- Edgren G, Sparen P. Risk of anogenital cancer after diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia: a prospective population-based study. *The Lancet Oncology*, 2007; 105 (1):228-33.
- 60.- Elfgrén K, Jacobs M, Walboomers JM, Meijer CJ, Dillner J. Rate of human papillomavirus clearance after treatment of cervical intraepithelial neoplasia. *Obstetrics & Gynecology*, 2002; 100: 965-71.
- 61.- Ellerbrock T, Chiasson MA, Bush T, Sun XW, Sawo D, Brudney K, Wright T. *JAMA*, 2000; 283:1031-1037. doi:10.1001/jama.283.8.1031.
- 62.- Etherington IJ, Dunn J, Shafi MI, Smith T, Luesley DM. Videocolpology: a new technique for secondary cervical screening. *An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 1997; 104: 150-3.
- 63.- Etherington IJ, Luesley DM, Shafi MI, Dunn J, Hiller L, Jordan JA. Observer Variability among colposcopists from the West Midlands region. *An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 1997; 104: 1380-4.
- 64.- Ferenczy A, Choukroun D, Arseneau J. Loop electrosurgical excision procedure for squamous intraepithelial lesions of the cervix: advantages and potential pitfalls. *Obstetrics & Gynecology*, 1996; 87: 332-337.
- 69.- Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JWW, Comber H, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *European Journal of Cancer*, 2013; 49 (6):1374-403. doi: 10.1016/j.ejca.2012.12.027.
- 70.- Franco EL, Villa LL, Sobrinho JP, Prado JM, Rousseau MC, Désy M, Rohan TE. Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection

in women from a high-risk area for cervical cancer. The Journal of Infectious Diseases, 1999; 180 (5):1415–23.

71.- Frazer I, Leggatt G, Mattarollo S. Prevention and treatment of papillomavirus-related cancers through immunization. Annual Review of Immunology, 2011. 29:111-38

72.- Gaarenstroom KN, Melkert P, Walboomers JMM, Van Den Brule AJC, Van Bommel PFJ, Meijer CJLM, Voorhorst FJ, Kenemans P, Helmerhorst TJM. Human papillomavirus DNA genotypes: prognostic factors for progression of cervical intraepithelial neoplasia. International Journal of Gynecological Cancer, 1994; 4:73–78.

73.- García E (coord.). Guía Clínica de la patología cervical. Fundación Instituto Valenciano de Oncología. 2008

74.- Giroglou T, Florin L, Schafer F, Streeck RE, Sapp M. Human papillomavirus infection requires cell surface heparan sulfate. Journal of Virology, 2001 ;75(3):1565-70.

75.- Gómez J. Patología benigna y lesiones premalignas del cérvix. Servicio de Obstetricia y Ginecología, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada 2007, (http://www.hvn.es/servicios_asistenciales/ginecologia_y_obstetricia/ficheros/cr07.patologia_benigna_cervix.pdf)

76.- Goya-Canino MM, Falcón-Santana JM, Arencibia-Sánchez O, Lubrano-Rosales A, Falcón-Vizcaíno O, Morín-Gamarra JC. Seguimiento de las lesiones intraepiteliales de alto grado (H-SIL) tras conización con asa diatérmica. Progresos de Obstetricia y ginecología, 2006;49(2): 72-6.

77.- Guido R, Schiffman M, Solomon D, Burke L, for the ASCUS-LSIL Triage Study (ALTS) Group. Postcolposcopy management strategies for women referred with low-grade squamous intraepithelial lesions or human papillomavirus DNA-positive atypical

squamous cells of undetermined significance: A two-year prospective study. American Journal of Obstetrics and Gynecology, 2003; 188: 1401-1405.

78.- Halford J, Walker KA, Duhig J. A review of histological outcomes from perimenopausal and post-menopausal women with a cytological report of possible high grade abnormality: an alternative management strategy for these women. Anatomical Pathology, 2010; 42(1): 23-27.

79.- Halford JA, Batty T, Boost T, Duhig J, Hall J, Lee C, Walker K. Comparison of the sensitivity of conventional cytology and the ThinPrep Imaging System for 1.083 biopsy confirmed high-grade squamous lesions. Diagnostic Cytopathology, 2010; 38: 318-326.

80.- Halloush R, Akpolat I, Zhai Q, Schwartz M and Mody D. Comparison of ProExC With p16INK4a and Ki-67 Immunohistochemical Staining of Cell Blocks prepared from Residual Liquid-based Cervicovaginal Material: A Pilot study. Cancer Cytopathology American Cancer Society, 2008:474-80. DOI: 10.1002/cncr.23951.

81.- Hammes LS, Naud P, Passos EP, Matos J, Brouwers K, Rivoire W, Syrjänen K. Spa: Valor de la terminología de la Federación Internacional de Patología Cervical y Colposcopia (IFCPC) en la predicción de la enfermedad cervical. Journal of Lower Genital Tract Disease (Edición española), 2008. (1-1) 14.

82.- Hernandez B, Ton T, Shvetsov Y, Goodman M, Zhu X. Human Papillomavirus (HPV) L1 and L1-L2 Virus-Like Particle-Based Multiplex Assays for Measurement of HPV Virion Antibodies. Clinical and Vaccine Immunology, 2012; 19(9): 1348-1352.

83.- Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. The New England Journal of Medicine, 1998 Feb 12; 338(7):423-428

84.- Holowaty P, Miller AB, Rohan T, To T. Natural History of displasia of the uterine cervix. Journal of the National Cancer Institute. 1999; 91: 252-8.

- 85.- Hopman EH, Voorhorst FJ, Kenemans P, Meyer CJ, Helmerhorst TJ. Observer agreement on interpreting colposcopic images of CIN. Gynecologic Oncology, 1995; 58: 206-9.
- 86.- Hopman EH, Kenemans P, Hemerhorst TJ. Positive predictive rate of colposcopic examination of the cervix uteri: an overview of literature. Obstetrical & Gynecological Survey, 1998; 53(2): 97-106.
- 87.- Hoste, G, Vossaert K, Poppe WA. The Clinical Role of HPV Testing in Primary and Secondary Cervical Cancer Screening. Obstetrics and Gynecology International, 2013, Article ID 610373, 7 pages.
- 88.- Howell R, Hammond R, Pryse-Davies J. The histologic reliability of laser cone biopsy of the cervix. Obstetrics & Gynecology, 1991; 77:905-11
- 89.- Hudelist G, Manavi M, Pischinger K, Watkins-Riedel T, Singer C, Kubista E, Czerwenka K. Physical state and expression of HPV DNA in benign and dysplastic cervical tissue: different levels of viral integration are correlated with lesion grade. Gynecologic Oncology, 2004; 3: 873-880.
- 90.- International Agency for Research on Cancer. IARC Handbooks of Cancer prevention. Vol. 10: Cervix Cancer Screening. Lyon, France: IARC Press 2005.
- Jakus S, Edmonds P, Dunton C, King SA. Margin status and excision of cervical intraepithelial neoplasia: A review. Obstetrical & Gynecological Survey, 2000; 55: 520-7.
- 91.- Jones BA, Davey DD. Quality management in gynecologic cytology using interlaboratory comparison. Archives of Pathology & Laboratory Medicine, 2000; 124:672-81.
- 92.- Jordan J, arbyn M, Martin-Hirsch P, Schenck U, Baldauf JJ; da Silva D, Anttila A, Nieminen P, Prendiville W. European guidelines for quality assurance in cervical cancer

screening: recommendations for clinical management of abnormal cervical cytology, part 1. Cytopathology, 2008; 19(6): 342-354.

93.- Joyce J, Tung JS, Przysiecki CT, Cook JC, Lehman ED, Sands JA, Jansen KU, Keller PM. The L1 major capsid protein of human papillomavirus type 11 recombinant virus-like particles interacts with heparin and cell-surface glycosaminoglycans on human keratinocytes. The Journal of Biological Chemistry, 1999; 274: 5810–5822.

94.- Joyce JG, Tung JS, Przysiecki CT, Cook JC, Lehman ED, Sands JA, Jansen KU, Keller PM. The L1 major capsid protein of human papillomavirus type 11 recombinant virus-like particles interacts with heparin and cell surface glycosaminoglycans on human keratinocytes. Journal of Biological Chemistry, 1999 Feb 26; 274(9):5810-22.

95.- Kagie MJ. Aspects of malignant progression of vulvar epithelial disorders. European Journal of Obstetrics & Gynecology & Reproductive Biology, 1998; 80:1-3.

96.- Kahn JA, Rosenthal SL, Succop PA, Ho GY, Burk RD. The interval between menarche and age of first sexual intercourse as a risk factor for subsequent HPV infection in adolescent and Young adult women. Journal of Pediatrics, 2002; 141(5): 718-23.

97.- Karam A. Cervical cancer in pregnancy. <http://www.uptodate.com/contents/cervical-cancer-in-pregnancy>, 2015.

98.- Khan MJ, Castle PE, Lorincz AT, Wacholder S, Sherman M, Scott DR, Russh B, Glass A, Schiffman M. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. The Journal of the National Cancer Institute Monographs, 2003; 31:35-40

99.- Kjaer SK, van den Brule AJ, Paull G, Svare EI, Sherman ME, Thomsen BL, Sunum M, Bock JE, Poll PA, Meijer CJ. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial

lesions in young women: population based prospective follow up study. British Medical Journal, 2002; 325(7364):572.

100.- Kjaer SK, van den Brule AJC, Svare EI, Engholm G, Sherman ME, Poll PA, Walboomers JM, Bock JE, Meijer CJLM. Different risk factor patterns for high-grade and low-grade intraepithelial lesions on the cervix among HPV-positive and HPV-negative young women. International Journal of Cancer, 1998; 76:613.

101.- Kjellberg I, Wadell G, Bergman F, Isaksson M, Angström T, Dillner J. Regular isappearance of the human papillomavirus genome after conization of cervical epithelial dysplasia by carbon dioxide laser. American Journal of Obstetrics & Gynecology, 2000; 183; 1238-42.

102.- Knebel Doeberitz M, Vinokurova S. Host factors in HPV-related carcinogenesis: cellular mechanisms controlling HPV infections. Archives of Medical Research, 2009 ;40(6):435-42.

103.- Kocken M, Uijterwaal MH, de Vries AL, Berkhof J, Ket JC, Helmerhorst TJ, Meijer C. High-risk human papillomavirus testing versus cytology in predicting post-treatment disease in women treated for high-grade cervical disease: a systematic review and meta-analysis. Gynecologic Oncology, 2012; 125 (2):500-7.

104.- Kolstad P, Klem V, Valborg K. Long –term follow up of 1121 cases of carcinoma in situ. Obstetrics & Gynecology, 1976; 48 (2): 125-129.

105.- Koshiol J, Lindsay L, Pimenta JM, Poole C, Jenkins D, Smith JS. Persistent human papillomavirus infection and cervical neoplasia: a systematic review and meta-analysis. American Journal of Epidemiology, 2008; 168: 123–137.

106.- Koss LG. DYSPLASIA: A real concept or a misnomer? Obstetrics & Gynecology, 1978; 51: 374.

107.- Koutsky LA, Holmes KK, Critchlow CW, Stevens CE, Paavonen J, Beckmann AM, Derouen TA, Galloway DA, Vernon D, Kiviat NB. A cohort study of the risk of

cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomavirus infection. The New England Journal of Medicine, 1992; 327:1272–1278.

108.- Kurman RJ, Ellenson LH, Bonnett BM. Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract. New York, NY: Springer Verlag; 2011.

109.- Kyrgiou M, Koliopoulos G, Martin-Hirsch P, Arbyn M, Prendiville W, Paraskevidis E. Obstetric outcomes after conservative treatment for intraepithelial or early invasive cervical lesions: systematic review and meta-analysis. The Lancet, 2006; 367: 489-98.

110.- Kyrgiou M, Tsoumpou I, Vrekoussis T, Martin-Hoirsch P, Prendivile W, Mitrou S, Koliopoulos G, Dalkalitsis N, Stamatopoulos P, Paraskevidis E.. The up-to-date evidence on colposcopy practice and treatment of cervical intraepithelial neoplasia: The Cochrane colposcopy & cervical cytopathology collaborative group (C5 group) approach. Cancer Treatment Reviews, 2006; 32: 516-523.

111.- Lacruz C, Vilaplana E. Citología endocervical. En: Lacruz C, Fariña J. Citología ginecológica. De Papanocilau a Bethesda. (Madrid) Editorial Complutense; 2003. P. 115-36.

112.- Lacruz C. Citología de las lesiones intraepiteliales escamosas. En: Lacruz C, Fariña J. et al. Citología ginecológica. De Papanocilau a Bethesda. Madrid: Editorial Complutense; 2003. P 65-87.

112.- Last JM. A Dictionary of Epidemiology. (New York) Oxford University 1988.

113.- Last JM. Diccionario de epidemiología. Trad.: Fontan, F. Revision cientf: Laporte Rosello JR. Barcelona: SaIvat, 1989.

114.- Liaw KL, Hildesheim A, Burk RD, Gravitt P, Wacholder S, Manos MM, Scott DR, Sherman M, Kurman R, Glass A, Anderson S, Schiffman M.. A Prospective Study of Human Papillomavirus (HPV) type 16 DNA detection by Polymerase Chain

Reaction and Its Association with Acquisition and Persistence of Other HPV Types. The Journal of Infectious Diseases, 2001; 183:8–15

115.- Lloveras B, Gómez S, Alameda F, Bellosillo B, Mojal S, Muset M, Parra M, Palomares JC, Serrano S. Correction HPV Testing by cobas HPV Test in population from Catalonia. PloS One, 2013; 8 (10): 10.1371. doi: [10.1371/annotation/e228bdf4-d943-4d44-8e0f-d441dfa80260](https://doi.org/10.1371/annotation/e228bdf4-d943-4d44-8e0f-d441dfa80260)

116.- Lorincz AT, Reid R, Jenson AB, Greenberg MD, Lancaster W, Kurman RJ. Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk association of 15 common anogenital types. Obstetrics & Gynecology, 1992; 79:328–337.

117.- Lu B, Hagensee ME, Lee JH, Wu Y, Stockwell HG, Nielson CM, Abrahamsen M, Papenfuss M, Harris RB, Giuliano AR. Epidemiologic factors associated with seropositivity to human papillomavirus type 16 and 18 virus-like particles and risk of subsequent infection in men. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, 2010; 19(2):511-516.

118.- Lu CH, Liu FS, Kuo CJ, Chang CC, Ho E. Prediction of persistence of recurrence after conization for cervical intraepithelial neoplasia III. Obstetrics & Gynecology, 2006; 107: 830-5.

119.- Luhn P, Walker j, SCHIFFMAN m, Zuna RE, Dunn ST, Gold MA, Smith K, Mathews C, allen RA, Zhang R, Wang S, Wentzensen N. The role of co-factors in the pregression from human papillomavirus infection to cervical cancer. Gynecologic Oncology, 2013; 128(2): 265-270.

120.- Maclalek D, Poynten M, Jin F, Fairley C, Farnsworth A, Garland S, Hillman R, Petoumenos K, Roberts J, Tabrizi S, Templeton D, Grulich A. Anal human papillomavirus infection and associated neoplastic lesions in men who have sex with men: asystematic review and meta-analysis. The Lancet Oncology, 2012;13(5): 487-500.

- 123.- Madeleine M, Anttila T, Schwartz S, Saikku P, Leinonen M, Carter J, Wurscher M, Jhonson L, Galloway D, Daling J. Risk of cervical cancer associated with *Chlamydia trachomatis* antibodies by histology, HPV type and HPV cofactors. International Journal of Cancer, 2007; 120(3):650-655.
- 124.- Malouf M, Hopkins P, Singleton L, Chhajed P, Plit M, Glanville A. Sexual health issues after lung transplantation: importance of cervical screening. The Journal of Heart and Lung Transplantation, 2004; 23(7): 894-897.
- 125.- Manual de colposcopia básica. Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia Pulso Ediciones SL. Barcelona 2002. Disponible en www.aepcc.org.
- 126.- Marks S, Gravitt, PE, Gupta, SB, Liaw KL, Kim E, Tadesse A, Phongnarisorn C, Wootipoom C, Yuenyao P, Vipupinyo C, Ruggao S, Sriplienchan S, Celentano DD. The association of hormonal contraceptive use and HPV prevalence. International Journal of Cancer, 2011. 128: 2962-70.
- 127.- Martin-Hirsch PPL, Paraskevaidis E, Bryant A, Dickinson HO; Keep SL. Surgery for cervical intraepithelial neoplasia. Cochrane Database of Systematic ReMartin-Hirsch PPL, Paraskevaidis E, Bryant A, Dickinson HO; Keep SL. Surgery for cervical intraepithelial neoplasia. Cochrane Database os Systematic Reviews, 2010. Issue 6. Art. Nº.: CD001318- DOI: 10.1002/14651858. CD001318.pub2.
- 128.- Massad LS, Halperin CJ, Bitterman P. Correlation between colposcopically directed biopsy and cervical loop excision. Gynecologic Oncology, 1996; 60:400-3.
- 129.- Mazarico Gallego E. (2012). Relación existente entre la infección por los diferentes genotipos del Virus del papiloma Humano y la presencia de patología premaligna y maligna del cuello uterino (Tesis doctoral). Universidad de Barcelona, Barcelona.
- 130.- McCredie MR, Paul C, Sharples K, Baranya J, Medley G, Skegg D. Consequences in women of participating in a study of the natural history of cervical

intraepithelial neoplasia 3. Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology, 2010; 50(4):363-70.

131.- McCredie MR, Sharples KJ, Paul C, Baranyai J, Medley g, Jones RW, Skegg DC. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. Lancet Oncology, 2008; 9(5): 425-34. Doi:10.1016/S1470-2045(8)70103.

132.- Meler E, Olivella A, Alonso I, GarciaS, Torné A, Ordi J, Puig-Tintoré LM. Epidemiología y clínica de la neoplasia intraepitelial de vagina (VAIN). En Puig-Tintoré LM, Andía D. Patología del tracto genital inferior y colposcopia en España 2005. (ISBN: 84-609-7825-7) pag 171. <http://www.aepcc.org/reuniones-y-congresos-aepcc/xvii-congreso-aepcc-bilbao-2005>.

133.- Melnikow J, Kulasingam S, Slee C, Helms LS, Kuppermann M, Birch S, McGahan C, Coldman A, Chan B, Sawaya G. Surveillance after treatment for cervical intraepithelial neoplasia: outcomes, cost, and cost-effectiveness. Obstetrics & Gynecology, 2010; 116(5): 1158-70.

134.- Melnikow J, McGahan C, Sawaya GF, Ehlen T, Coldman A. Cervical intraepithelial neoplasia outcomes after treatment: long-term follow-up from the British Columbia Cohort Study. Journal of National Cancer Institute, 2009; 101 (10):721-8.

135.- Melnikow J, Nuovo J, Willan AR, Chan B, Howell L. Natural history of cervical squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis. Obstetrics & Gynecology, 1998; 92 (4 Pt 2): 727-735.

136.- Milosevic VS, Kokacecic G, Hrnjakovic I, Radovanov J, Elez I, Patric A. Frequency of Multiple HPV Genotypes in Women from Vojvodina, Serbia. Sexually Transmitted Infections, 2013; 89:A164. doi:10.1136/sextrans-2013-051184.0512.

- 136.- Mitchell MF, Schottenfeld D, Tortolero-Luna G, Cantor SB, Richards-Kortum R. Colposcopy for the diagnosis of squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis. *Obstetrics & Gynecology*, 1998; 91(4): 626-631.
- 137.- Mitchell MF, Tortolero-Luna G, Wright T, Sarkar A, Richards-Kortum R, Hong WK, Schottenfeld D. Cervical human papillomavirus infection and intraepithelial neoplasia: a review. *Journal of National Cancer Institute Monographs*, 1996 (21): 17-25.
- 138.- Mitchell MF; Schottenfeld D, Tortolero-Luna G, Cantor SB, Richards-Kortum R. Colposcopy For The Diagnosis of Squamous Intraepithelial Lesions: A Meta-Analysis. *Obstetrics & Gynecology*, 1998; 91: 626-31.
- 139.- Mittal R, Pater A, Pater MM. Multiple human papillomavirus type 16 glucocorticoid response elements functional for transformation, transient expression, and DNA-protein interactions. *Journal of Virology*, 1993,67(9): 5656-5659.
- 140.- Moberg M, Gustavsson I, Gyllensten U. Type-specific associations of human papillomavirus load with risk of developing cervical carcinoma *in situ*. *International Journal of Cancer*, 2004; 112: 854-859.
- 141.- Molano M, van den Brule AJ, Plummer M, Weiderpass E, Posso H, Arslan A, Meijer C, Muñoz N, Franceschi, the HPV Study Group. Determinants of clearance of human papillomavirus infections in Colombian women with normal cytology: a population-based, 5-year follow-up study. *American Journal of Epidemiology*, 2003; 158:486-94.
- 142.- Moodley M, Moodley J, Chetty R, Herrington CS. The role of steroid contraceptive hormones in the pathogenesis of invasive cervical cancer: a review. *International Journal of Gynecological Cancer*, 2003; 13: 103-10. DOI: 10.1046/j.1525-1438.2003.13030.x.
- 143.- Moodley M, Sewart S, Herrington CS, Chetty R, Pegoraro R, Moodley J. The interaction between steroid hormones, human papillomavirus type 16, E6 oncogene

expression, and cervical cancer. International Journal of Gynecological Cancer; 13(6):834-842.

144.- Moore E, Wark J, Hopper J, Bircan E, Garland S, CeCaGeEn Study Group. The Roles of Genetic and Environmental factors on Risk of Cervical Cancer: A Review of Classical Twin Studies. Twin Research and human Genetics, 2012; 15: 79-86.

145.- Moreno V, Bosch FX, Muñoz N, Meijer C, Shah K, Walboomers J, Herreo R, Franceschis S, for the International Agency for Research on Cancer. Effect of oral contraceptives of risk of cervical cancer in women with human Papillomavirus infection: the IARC multicentric case-control study. The Lancet, 2002. 359: 1085-92.

Moscicki AB, Shiboski S, Hills NK, Powell KJ, Jay N, Hanson EN, Miller S, Canjura-Clayton L, Farhat S, Broering JM, Darragh T. Regression of low-grade squamous intra-epithelial lesions in young women. The Lancet, 2014. 364: 1678-83.

147.- Munagala R, Doná MG, Rai SN, Jenson AB, Bala N, Ghim SJ, Gupta R. Significance of multiple HPV infection in cervical cancer patients and its impact on treatment response. International Journal of Oncology, 2009; 263-271.

148.- Muñoz N, Castellsagué X, de González AB, Gissmann L. Chapter 1: VPH in the etiology of human cancer. Vaccine, 2006 (21); 24S3: S1-S10.

149.- Muñoz N, de-Thé G, Aristizabal N, Yee C, Rabson A, Pearson G. Antibodies to herpesviruses in patients with cervical cancer and controls. In: de-The G, Epstein MA, zur Hausen H, editors. Oncogenesis and herpesviruses II. IARC SCi Publ N° 11. Lyon (France): IARC, 1975.p. 45-51.

150.- Muñoz N, Franceschi S, Bosetti C, Moreno V, Herrero R, Smith J, Shah K, Meijer C, Bosch FX. Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. The Lancet, 2002; 359: 1093-101.

151.- Muñoz N, Méndez F, Posso H, Molano M, van den Brule A, Ronderos M, Meijer C, Muñoz A, Instituto Nacional de Cancerología HV study group. Incidence, Duration,

and Determinants of Cervical Human Papillomavirus Infection in a Cohort of Colombian Women with Normal Cytological Results. The Journal of Infectious Diseases, 2004; 190:2077-87.

152.- Murdoch JB, Morgan PR, Lopes A, Monaghan JM. Histological incomplete excision of the transformation zone (LLETZ) merits careful follow up not retreatment. British Journal of Obstetrics & Gynaecology, 1992; 99(12): 990-3.

153.- Nagai Y; Maehama T, Asato T; Kanawaza K. Persistence of human papillomavirus infection after therapeutic conization for CIN 3; is it an alarm for disease recurrence? Gynecologic Oncology, 2000; 79: 294-9.

154.- Nguyen C, Montz F, Bristow RE. Management of Stage I Cervical Cancer in Pregnancy. Obstetrical & Gynecological Survey, 2000; 55(10): 633-643.

155.- Nobbenhuis MA, Helmerhorst TJ, van den Brule AJ, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Bezemer PD, Verheijen R, Meijer C. Cytological regression and clearance of high-risk human papillomavirus in women with an abnormal cervical smear. The Lancet, 2001; 358:1782-83.

156.- Nobbenhuis MAE, Meijer CJLM, Van den Brule AJC, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Risse EKJ, Verheijen RHM, Helmerhorst TJM. Addition of high-risk HPV testing improves the current guidelines on follow-up after treatment for cervical intraepithelial neoplasia. British Journal of Cancer, 2001; 84: 796-8.

157.- Nuovo J, Melinkow J, Wilan AR, Chan BK. Treatment outcomes for squamous intraepithelial lesions. International Journal of Gynecology & Obstetrics, 2000; 68: 25-33.

158.- Ognenovski V, Marder W, Somers E, Johnston C, Farrehi J, Selvaggi S, McCune W. Increased incidence of cervical intraepithelial neoplasia in women with systemic lupus erythematosus treated with intravenous cyclophosphamide. The Journal of Rheumatology, 2004;31(9):1763-1767.

- 159.- Oncoguía SEGO: Prevención del cáncer de cuello de útero. Guías de práctica clínica en cáncer ginecológico y mamario. Publicaciones SEGO, Octubre 2014. Oncoguías ISBN: 978-84-612-7418-2 - Vol. 9. Depósito Legal: M-29271-2014
- 160.- Oon SF. Perianal Condylomas, anal squamous intraepithelial neoplasms and screening: a review of the literatura. Journal of Medical Screening, 2010; 17 (1): 44-9.
- 161.- Ordi J, Alonso I, Torné A, Esteve R, Sierra E, Campo E, Puig-Tintoré LM. Human papillomavirus load in Hybrid Capture II assay: does increasing the cutoff improve the test? Gynecologic Oncology, 2005; 99: 313-9.
- 162.- Ordi J, Puig-Tintoré LM, Torne A, Sanz S, Esteve R, Romagosa C, Cardesa A. Contribution of high risk human papillomavirus testing to the management of premalignant and malignant lesions of the uterine cervix. Medicina Clínica, 2003; 121: 441-5.
- 163.- Overmeer RM, Louwers JA, Meijer CJ, van Kemenade FJ, Hesselink AT, Dallmeijer NF, Wilting S, Heideman D, Verheijen R, zaal A, van Baal WM, Berkhof J, Snijders P, Steenbergen R. Combined CADM1 and MAL promoter methylation analysis to detect (pre-) malignant cervical lesions in high-risk HPV-positive women. International Journal of Cancer, 2011; 129: 2218-25.
- 164.- Ozsaran AA, Ates T, Dikmen Y, Zeytinoglu A, Terek C. Evaluation of the risk of cervical intraepithelial neoplasia and human papillomavirus infection in renal transplant patients receiving immunosuppressive therapy. European Journal of Gynaecological Oncology, 1999; 20: 127-30.
- 165.- Pagano JS, Blaser M, Buendia MA, Damania B, Khalili K, Raab_Traub N, Roizman B. Infectious agents and cancer: criteria for a causal relation. Seminars in Cancer Biology, 2004; 14: 453-71.

- 166.- Palefsky JM, Holly EA, Gonzales J, Berline J, Ahn DK, Greenspan JS. Detection of human papillomavirus DNA in anal intraepithelial neoplasia and anal cancer, *Cancer Research*, 1991; 51:1014-9.
- 167.- Palle C, Bangsboll S, Andreasson B. Cervical intraepithelial neoplasia in pregnancy. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 200; 79(4): 306-10.
- 168.- Paraskevaïdis E, Kalantaridou SN, Paschopoulos M, Zikopoulos K, Diakomanolis E, Dalkalitsis N, Makrydimas G, Pappa L, Malomou-Mitsi V, Agnantis NJ. Factors affecting outcome after incomplete excision of cervical intraepithelial neoplasia. *European Journal of Gynaecological Oncology*, 2003; 6: 541-3.
- 169.- Paraskevaïdis E, Kitchener H, Malamou-Mitsi V, Agnanti N, Lois D. Thermal tissue damage following laser and large loop conisation of the cervix. *Obstetrics & Gynecology*, 1994; 84: 752-54.
- 170.- Paraskevaïdis E, Koliopoulos G, Alamanos Y, Malamou-Mitsi V, Lolis ED, Kitchener HC. Human papillomavirus testing and the outcome of treatment for cervical intraepithelial neoplasia. *Obstetrics & Gynecology*, 2001; 98: 833-6.
- 171.- Paraskevaïdis E; Arbyn M, Sotiriadis A, Diakomanolis E, Martin-Hirsch P, Koliopoulos G, Makrydimas G, Tofoski J, Roukos D. The role of HPV DNA testing in the follow-up period after treatment for CIN: a systematic review of the literature. *Cancer Treatment Reviews*, 2004; 30: 205-11.
- 172.- Park JY, Lee SM, Yoo CW, Kang S, Park SY, Seo SS. Risk factors predicting residual disease in subsequent hysterectomy following conization for cervical intraepithelial neoplasia (CIN) III and microinvasive cervical cancer. *Gynecologic Oncology*, 2007; 107; 39-44.
- 173.- Patel SJ, Mugo NR, Cohen CR, Ting J, Nguti R, Kwatampora J, Waweru W, Patnaik P, Donders GG, Kimani J, Kenney DL, Kiviat NB, Smith JS. Multiple human papillomavirus infections and HIV seropositivity as risk factors for abnormal cervical

cytology among female sex workers in Nairobi. International Journal of STD & AIDS, 2013; 24: 221-225

174.- Pérez S, Iñarrea A, Lamas MJ, Sarán MT, Cid A, Álvarez MJ, Pato M, López-Miragaya I, Estévez N, Torres J, Oña M. Human papillomavirus (HPV) E6/E7 mRNA as a triage test after detection of HPV 16 and HPV 18 DNA. Journal of Medical Virology, 2013; 85: 1063-8.

175.- Petry K. Modern methods for the diagnosis of HPV and cervical intraepithelial neoplasia in the prevention of cervical cancer. (Bremen) UNI-MED, 2011.

176.- PHARMA., 6ª Encuesta DAPHNE-BAYER SHERING. Hábitos anticonceptivos de la mujer en España. 2009.

177.- Pista A, Oliveira A, Verdasca N, Ribeiro F. Single and multiple human papillomavirus infectious in cervical abnormalities in Portuguese women. Clinical Microbiology and Infection, 2011; 17: 941-946

178.- Plummer M, Schiffman M, Castle PE, Maucort-Boulch D, Wheeler CM. A 2-year prospective study of human papillomavirus persistence among women with a cytological diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance or low-grade squamous intraepithelial lesion. The Journal of Infectious Disease, 2007; 195:1582-9.

179.- Puig-Tintoré L, Alba A, Bayas JM, Cararach M, Castellsagué X, Martínez-Escoriza JC, Torné A. Curso de Formación continuada: Prevención del cáncer cervical: vacunación y colposcopia (Tomos 3-4). (Madrid) Editores Médicos, S.A. EDIMSA. 2011.

180.- Puig-Tintoré LM, Alba A, Bosch FX, Castellsagué X, Coll C, Cortes X, Torné A, Vidart JA. La infección por papilomavirus. Documento de consenso de la SEGO, SEC y AEPPC. Documentos de Consenso SEGO 2002. (Madrid) Meditex-Sanex, 2003. 41-104 (ISSN: 1138-6185).

- 181.- Puig-Tintoré LM, Cortes X, Castellsagué X, Torné A, Ordi J, de Sanjosé S, Alonso I, Cararach M, Vidart JA, Alba A, Martínez Escoriza JC, Coll C, Vilaplana E, Hardisson D, Bosch X; Prevención del cáncer cuello uterino ante la vacunación frente a virus del papiloma humano. *Progresos de Obstetricia y Ginecología*, 2006. 49 Supl 2:5-62.
- 182.- Puig-Tintoré LM, Ordi J, Torné A, J ou P, Pahisa J, Lejarcegui JA. Neoplasia vulvar intraepitelial (VIN). *Progresos de Obstetricia y Ginecología*, 2002; 45:487-96.
- 183.- Puig-Tintoré LM. Condilomas acuminados. Tratamiento con láser. En: J. González Merlo, J. Iglesias Guiu, I. Burzaco y L.M. Puig Tintoré, “Avances en Obstetricia y Ginecología” (Barcelona) Salvat editores, 1986; 9: 47 64.
- 184.- Puig-Tintoré LM. Tratamiento conservador de la neoplasia cervical intraepitelial. *Jano*, 1986; 763:29-33
- 185.- Queiro T, Puñal J. Métodos automatizados de lectura de citología cervical uterina. Desarrollo de actividades de la Red Española de Agencias de Evaluación de Tecnologías y Prestaciones del SNS. Axencia de Avaliación de Tecnoloxías Sanitarias de Galicia, 2013. Informes de evaluación de tecnologías sanitarias: avalia-t Núm. 2013/01.
- 186.- Quint W, Jenkins D, Molijn A, Struijk L, van den Sandt JD, Mols J, Van Hoof C, hardt K, Struyf F, Colau B. One virus, one lesion-individual components of CIN lesions contain a specific HPV type. *Journal of Pathology*, 2012; 227:62-67.
- 187.- Ramírez-Hidalgo A, Musset-Biarnes M, Vilamala-Muns M, Laso-Perez E, Serrano-Munne L, Alameda-Quitllet F. Hybrid capture 2 high-risk human papillomavirus test: should “grey zone” results justify repeating the test? *Analytical and Quantitative Cytopathology and Histopathology*, 2013; 35(3):152-156.
- 188.- Ramirez-Hidalgo A, Musset-Biarnes M, Vilamala-Muns M, Las-Pérez E, Serrano-Munne L, Aameda-Quitllet F. Hybrid capture 2 high-risk human papillomavirus test:

shoul “grey zone” results justify repeating the test? Analytical and Quantitative Cytology and Histology, 2013; 35: 152-6.

189.- Rawls WE, Tompkins WA, Figueroa ME, Melnick JL. Herpesvirus type 2: association with carcinoma of the cervix. Science 1968; 161:1255-6.

190.- Reich O, Lahousen M, Pickel H, Tamussino K, Winter R. Cervical intraepithelial neoplasia III: Long-term follow-up after cold-knife conization with involver margins. Obstetrics & Gynecology, 2002; 99: 193-6.

191.- Richart RM, Lerch V, Baron B. A time-lapse cinematographic study in vitro of mitosis in normal human cervical epithelium, displasia and carcinoma in situ. The Journal of National Cancer Institute, 1967; 39: 571.

192.- Richart RM. Cervical intraepithelial neoplasia: A review. Pathol Annu. Edited by SC Sommers. Appleton Century Crofts, 1973; 301-328.

193.- Rieck G, Fiander A. The effect of lifestyle factors on gynaecological cancer . Best Practice & and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology , 2006;20: 227 - 251.

194.- Rivero B., Gorostidi M., AndiaD, Iparraguirre E., Díez J., Pérez C., Olabarri JI., Elorza A., Serrano JR., Murua E. Situación de la conización del cuello uterino en el País Vasco. Progresos de Obstetricia y Ginecología, 2010; 53 (3):93-101

195.- Robboy SJ, Bentley RC, Russel P, Anderson MC. Cut up: the gross description processing and reporting of specimens. En: Robboy SJ, Anderson MC, Russel P, editors. Pathology of the Female Reproductive Tract. (London) Churchill Livingstone; 2002. p.861-908.

196.- Rodríguez AC, Schiffman M, Herrero R, Waclolder S, Hildesheim A, Castle P, Solomn D, Burk R, On behalf of the Proyecto Epidemiológico Guanacaste Group. Rapid clearance of human papillomavirus and implications for clinical focus on persistent infections. Journal of the National Cancer Institute, 2008;100(7):513-517.

- 197.- Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F, Confortini M, Dalla P, Gillio-Tos A, Minucci D, Naldoni C, Rizzolo R, Schincaglia P, Volante R, Zappa M, Zorzi M, Cuzick J, Segnan N. New Technologies for Cervical Cancer Screening Working Group. Results at recruitment from a randomized controlled trial comparing human papillomavirus testing alone with conventional cytology as the primary cervical cancer screening test. Journal of the National Cancer Institute, 2008; 100:492-501.
- 198.- Sánchez EM. INFECCIÓN DEL VIRUS PAPILOMA HUMANO Y CÁNCER DE CUELLO UTERINO: DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS EN MUJERES CONIZADAS POR LESIÓN ESCAMOSA INTRAEPITELIAL DE ALTO GRADO (CIN 2-3) y ANÁLISIS DE LOS COFACTORES DE CÁNCER DE CÉRVIX EN MÁLAGA. (Tesis Doctoral). Universidad de Málaga, Málaga
- 199.- Sánchez-Rosales M, Osorio-Morales S, Díaz-Araujo F. Evaluación de los marcadores inmunohistoquímicos PCNA y MIB-1 en el diagnóstico de lesiones de bajo grado del cuello uterino. Investigación Clínica, 2004; (45), 3.
- 200.- Sarian LO, Derchain SF, Andrade LA, Tambascia J, Moraiss SS, Syrjänen KJ. HPV DNA test and pap smear in detection of residual and recurrent disease following loop electrosurgical excision procedure of high-grade cervical intraepithelial neoplasia. Gynecologic Oncology, 2004; 94: 181-6.
- 201.- Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodríguez AC, Walcholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. The Lancet, 2007; 370 (9590): 890-907.
- 202.- Schiffman M, Kjaer SK. Natural history of anogenital human papillomavirus infection and neoplasia. Journal of the National Cancer Institute, 2003; 31: 14-9
- 203.- Schlecht N, Kulaga S, Robitaille J, Ferreira S, Santos M, Miyamura R, Duarte-Franco E, Rohan T, Ferenczy A, Villa L, Franco E. Persistent Human Papillomavirus Infection as a predictor of Cervical Intraepithelial Neoplasia. JAMA, 2001;286(24):3106-3114.

- 204.- Selinka HC, Florin I, Patel HD, Freitag K, Schmidtke M, Makarov V, Sapp M. Inhibition of transfer to secondary receptors by heparin sulfate-binding drug or antibody induces noninfectious uptake of human papillomavirus. Journal of Virology, 2007; 20: 10970-80.
- 205.- Sethi S, Muller M, Schneider A, Blettner M, Smith E, Turek L, Wahrendorf J, Gissmann L, Chang-claude J. Serologic response to the E4, E6 and E7 proteins of human papillomavirus type 16 in pregnant women. American Journal of Obstetrics and Gynecology, 1998; 178:360-4.
- 206.- Sillman F, Staneck A, Sedlis A, Rosenthal J, Lanks K, Buchhagen D, Nicastrì A, Boyce J. The relationship between human papillomavirus and lower genital intraepithelial neoplasia in immunosuppressed women. American Journal of Obstetrics and Gynecology, 1984;150: 300-308.
- 207.- Smith JS, Green J, Berrington A, Appleby P, Peto J, Plummer M, Franceschi S, Beral V. Cervical cancer and use of hormonal contraceptives. A systematic review. The Lancet, 2003; 361: 1159-67.
- 208.- Smith JS, Herrero R, Bosetti C, Muñoz N, Bosch FX, Eluf-Neto J, Castellsagué, Meijer C, Van den Brule A, Franceschi, Ashley R. Herpes virus-2 as a Human Papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical Cancer. Journal of the National Cancer Institute, 1994; (21):1604-1613.
- 209.- Snijders PJ, Steenbergen RD, Heideman DA, Meijer C. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. The Journal of Pathology, 2006; 208(2): 152-164.
- 210.- Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, Raab S, Sherman M, Wilbur D, Wright T, Young N, for the Forum Group Members and the Bethesda 2001 Workshop. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. JAMA, 2002; 287 (16): 2114-2119.

- 211.- Song SH, Lee JK, Oh MJ, Hur JY, Na JY, Park YK, Saw HS. Persistent HPV infection after conization in patients with negative margins. Gynecologic Oncology, 2006; 101; 418-422
- 212.- Soutter WP, Butler JS, Tipples M. Gynaecological oncology: the role of colposcopy in the follow up of women treated for cervical intraepithelial neoplasia. An International Journal of Obstetrics & Gynaecology, 2006; 113 (5):511-4.
- 213.- Soutter WP, Sasiene P, Panoskaltis T. Long-term risk of invasive cervical cancer after treatment of squamous cervical intraepithelial neoplasia. International Journal of Cancer, 2005; 118: 2048-2055.
- 214.- Stanley M. Pathology and epidemiology of HPV infection in females. Gynecologic Oncology, 2010; 117, S5-10.
- 215.- Syrjanen K, Gissmann L, Koss LG (EDs). Papillomavirus and Human Disease. (Berlin) Springer-Verlag, 1987.
- 216.- Tam LS, Chan A, Chan P, Chang A, Li E. Increased prevalence of squamous intraepithelial lesions in systemic lupus erythematosus: Associations with human papillomavirus infection. Arthritis & Rheumatology, 2004; 50(11):3619-3625.
- The Open Virology Journal, 2012; 6:144-150. doi: 10.2174/1874357901206010144.
- 217.- Thrall MJ, Russell DK, Bonfiglio TA, Hoda RS. Use of the ThinPrep Imaging System does not alter the frequency of interpreting Papanicolaou tests as atypical squamous cells of undetermined significance. Cytojournal, 2008; 5: 10. doi: [10.1186/1742-6413-5-10](https://doi.org/10.1186/1742-6413-5-10)
- 218.- Torné-Bladé A. (Coord.) Guía del Cribado de Cáncer en España, 2014. Revista Española de Patología, Septiembre 2014. Vol. 47; Extraordinario 1.
- Torres M, Echevarría JM, Hernández B, Ortiz M. Human papillomavirus (HPV) Genotyping: Automation and Application in Routine Laboratory Testing.

- 219.- Trevathan E, Layde P, Webster LA, Adams JB, Benigno BB, Ory H. Cigarette smoking and dysplasia and carcinoma in situ of the uterine cervix. JAMA, 1983;250(4): 499-502.
- 220.- Trevathan E, Layde P, Webster LA. Cigarette smoking and displasia and carcinoma in situ of the uterine cervix. JAMA, 1983; 250:499-502.
- 221.- Trottier H, Mahmud S, Costa MC, Sobrinho JP, Duarte-Franco E, Rohan TE, Ferenczy A, Villa L, Franco E. Human Papillomavirus Infections with Multiple Types and Risk of Cervical Neoplasia. Cancer Epidemiology & Prevention, 2006; 15; 1274-80. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-06-0129
- 222.- Vaccarella S, Franceschi S, Herrero R, Muñoz N, Snijders P, Clifford G, Smith J, Lazcano-Ponce E, Sukvirach S, Shun HR, de Sanjosé S, Molano M, Matos E, Ferreccio C, Anh P, Thomas J, Meier C, IARC HPV Prevalence Surveys Study Group. Sexual behavior, condom use and HPV: pooled analysis of the International Agency for Research on Cancer HPV Prevalence Surveys. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, 2006; 15:326–33.
- 223.- Vaccarella S, Franceschi S, Snijders PJ, Herrero R, Meijer CJ, Plummer M, and the IARC HPV Prevalence Surveys Study Group. Concurrent infection with multiple human papillomavirus types: pooled analysis of the IARC HPV Prevalence Surveys. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, 2010; 19(2): 503-10.doi: 10.1158/1055-9965.EPI-09-0983.
- 224.- Van Calsteren K, Vergote I, Amant F. Cervical neoplasia during pregnancy: diagnosis, management and prognosis. Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology, 2005; 19(4): 611-30.
- 225.- Vergote IB, Makar AP, Kjorstad KE. Laser excision of the transformation zone as treatment of cervical intraepithelial neoplasia with satisfactory colposcopy. Gynecologic Oncology, 1992; 44:235-9.

- 226.- Verša D, Vrdoljak-Mozetič, Štemberger-Papić S, Finderle A, Senija E. Cervical Cytology and HPV Test in Follow-up after Conisation or LLETZ. Collegium Antropologum, 2010; 34(1): 219–224.
- 227.- Villa L, Sichero L, Rahal L, Caballero O, Ferenczy A, Rohan T, Franco E. Molecular variants of human papillomavirus types 16 and 18 preferentially associated with cervical neoplasia. Journal of General Virology, 2000; 81:2959-68.
- 228.- Vinokurova S, Wentzensen N, Kraus I, Klaes R, Driesch C, Driesch C, Melsheimer P, Kisseljov F, Dürst M, Schneider A, von Knebel M. Type-dependent integration frequency of human papillomavirus genomes in cervical lesions. Cancer Research, 2008; 68: 307–313.
- 229.- Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJ, Peto J, Meijer CJ, Munoz N. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. The Journal of Pathology, 1999; 189:12–19.
- 230.- Walling KL, Wilkund F, Angström T, Gergman F, Stedahl U, Wadel G, Hallmans G, Dillner J. Type-Specific Persistence of Human Papillomavirus DNA before the Development of Invasive Cervical Cancer. The New England of Journal Medicine, 1999; 341:1633-1638.
- 231.- Wang SS, Schiffman M, Shields TS, Herreo R, Hildesheim A, Bratti MC, Sherman ME, Rodríguez AC, Castle PE, Morales J, Wright T, Chen S, Clayman B, Burk RD, Viscidis P. Seroprevalence of human papillomavirus-16, -18, -31, and -45 in a population-based cohort of 10 000 women in Costa Rica. British Journal of Cancer, 2003; 89:1248-1254. Doi:10.1038/sj.bjc.6601272.
- 232.- Wheeler CM, Hunt WC, Schiffman M. Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesions Triage Study. Human Papillomavirus Genotypes and the Cumulative 2-Year Risk of Cervical Precancer. The Journal Infectious Diseases, 2006; 194 (9): 1291-1299.

- 233.- Williams A, Darragh T, Vranizan K, Ochia C, Moss A, Palefsk J. Anal and Cervical Human Papillomavirus Infection and Risk of Anal and Cervical Epithelial Abnormalities in Human Immunodeficiency Virus-Infected Women. *Obstetrics & Gynecology*, 1994; 83 (2).
- 234.- Winer RL, Hughes JP, Feng Q, O'Reilly, Kiviat N, Holmes K, Koutsky L. Condom use and the risk of genital human papillomavirus infection in young women. *The New England Journal of Medicine*, 2006; 354: 2645–54.
- 235.- Winer RL, Kiviat NB, Hughes JP, Adam DE, Lee SK, Kuypers JM, Koutsky LA. Development and duration of human papillomavirus lesions, after initial infection. *The Journal of Infectious Diseases*, 2005, 191(5): 731-8.
- 236.- Winer RL, Kiviat NB, Hughes JP, Adam DE, Lee SK, Kuipers JM et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. *The Journal of Infectious Diseases*, 2005; 191 (5):731-8.
- Winkelstein W.JR. Smoking and cervical cancer—current status: a review. *American Journal of Epidemiology*, 1990; 131: 945-957.
- 237.- Winkelstein, W. Smoking and cáncer de cervix of the utherine cervix: Hyphotesis. *American Journal of epidemiology*, 1977; 106 (4): 257-259.
- 238.- Wright T, Ronnet B, Kurman R and Ferenczy. (2011). Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract. (2011). (6th ed.), DOI: 10.1007/978-1-4419-0489-8.
- 239.- Wright TC, Kuhn L. Immunosuppression and the cervix; human immunodeficiency virus (HIV). En: Jordan JA, Singer A. *The Cervix*. Malden, MA: Blackwell; 2006:450-517.
- 240.- Wright TC, Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D. 2006 consensus guidelines for the management os women with cervical intraepithelial neoplasia or adenocarcinoma in situ. *American Journal of Obstetrics & Gynecolgy*, 2007; 197: 340-5.

- 241.- Wright TC, Schiffman M, Solomon D, Cox JT, García F, Hatch K, Noller KL, Roach N, Runowicz C, Saslow D. Interim guidance for the use of human papillomavirus DNA testing as an adjunct to cervical cytology for screening. *Obstetrics & Gynecology*, 2004;103(2):304-9.
- 242.- Wright, Jason. Cervical intraepithelial neoplasia: terminology, incidence, pathogenic, and prevention. [on line] 2015. Disponible en: <http://www.uptodate.com>
- Xi LF, Critchlow C, Wheeler C, Kotsky L, Galloway D, Kuypers J, Hughes J, Hawes S, Surawicz C, Goldbaum G, Holmes K, Kiviat N. Risk of Anal Carcinoma *in Situ* in Relation to Human Papillomavirus type 16 Variants. *Cancer Research*, 1998; 58:3839-44
- 243.- Zelinski GD, Bais AG, Helmerhorst TH, Verheijen RHM, de Schipper FA, Snijders PJF, Voorhorst FJ, van Kemenade, Rozendaal L, Meijer CJLM. HPV testing and monitoring of women after treatment of CIN 3: Review of the literatura and meta-analysis. *Obstetrical & Gynecological Survey*, 2004; 59: 543-53.
- 244.- Zemlickis D., Lishner M., Degendorfer P., Panzarella T., Sutcliffe S., Koren G. (1991) Maternal and fetal outcome after invasive cervical cancer in pregnancy. *Journal of Clinical Oncology*, 1991; 9: 1956–1961.
- 245.- Zheng ZM. Viral Oncogenes, Noncoding RNAs, and RNA Splicing in Human Tumor Viruses. *International Journal of Biological Sciences*, 2010; 6(7):730-755. doi:10.7150/ijbs.6.730.
- 246.- Zielinski GD, Bais AG, Helmerhorst TH, Verheijen RHM, de Schipper FA, Snijders PJF, Voorhorst FJ, van Kemenade FJ, Rozendaal L, Meijer C. HPV testing and monitoring of women after treatment of CIN 3: Review of the literatura and meta-analysis. *Obstetrical & Gynecological Survey*, 2004; 59: 543-53.
- 247.- Zielinski GD, Rozendaal L; Voorhorst FJ, Berkhof J, Snijders PJ, Risse EJ, Runsink A, de Schipper F. HPV testing can reduce the number of follow-up visits in

women treated for cervical intraepithelial neoplasia grade 3. Gynecologic Oncology, 2003; 91: 67-73.

248.- Zuchna C, Hager M, Tringler B, Georgouloupoulos A, Ciresa-Koenig, Volgger B, Widschwender A, Staudach A. Diagnostic accuracy of guided cervical biopsies: a prospective multicenter study comparing the histopathology of simultaneous biopsy and cone specimen. American Journal of Obstetrics and Gynecology, 2010; 203(4): 321.e1–321.e6.

249.- Zur Hausen H. Human genital cancer: synergism between two virus infections or synergism between infection and initiating events? The Lancet, 1982; 2: 1029-34.

Zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. Nature Reviews Cancer, 2002; 2: 342–350.

250.- http://genomica.es/diagnosico_in_vitro_productos_clart_hpv2.cfm

251.- <http://www.hpvmedicalcenter.com.ar/>

252.- <http://globocan.iarc.fr/Default.aspx>

253.- <http://www.uptodate.com/es/home>

254.- <http://eco.iarc.fr/eucan/CancerOne.aspx>

256.- <http://www.hpvcentre.net>

257.- <http://www.immunopaedia.org.za/?id=3>

258.- <http://g5tecnologiaeducativa.blogspot.com.es/p/thinprep.html>

259.- http://www.wcpl.com/physician_supplies.asp