

UNIVERSIDAD DE MÁLAGA

Facultad de Medicina

Departamento de Fisiología Humana, Histología Humana,

Anatomía Patológica y Educación Física y Deportiva



TESIS DOCTORAL

**PERSISTENCIA DEL VPH-AR TRAS TRATAMIENTO
ESCISIONAL CERVICAL (CONIZACIÓN)
Y/O TRATAMIENTO ABLATIVO CERVICAL
Y SU RELACIÓN CON LOS DISTINTOS COFACTORES**

Susana Pérez Rodríguez

Málaga, 2017

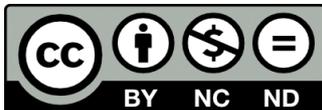


UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

AUTOR: Susana Pérez Rodríguez

 <http://orcid.org/0000-0002-5412-4119>

EDITA: Publicaciones y Divulgación Científica. Universidad de Málaga



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional:

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/legalcode>

Cualquier parte de esta obra se puede reproducir sin autorización pero con el reconocimiento y atribución de los autores.

No se puede hacer uso comercial de la obra y no se puede alterar, transformar o hacer obras derivadas.

Esta Tesis Doctoral está depositada en el Repositorio Institucional de la Universidad de Málaga (RIUMA): riuma.uma.es





Dpto de Fisiología Humana, Histología Humana,
Anatomía Patológica y Educación Física y Deportiva
Facultad de Medicina
Universidad de Málaga

Dr. D. Miguel Ángel Olalla Herrera, Profesor Asociado Clínico del Departamento de Especialidades Quirúrgicas, Bioquímica e Inmunología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Málaga y Coordinador de la Unidad de Patología del Tracto Genital Inferior del Hospital Universitario Virgen de la Victoria de Málaga.

Dra. D^a María Isabel Hierro Martín, Profesora Asociada Clínico del Departamento de Fisiología Humana, Histología Humana, Anatomía Patológica y Educación Física Deportiva de la Facultad de Medicina de la Universidad de Málaga y Directora de la UGC Intercentros Provincial de Anatomía Patológica de Málaga.

Certifican:

Que el trabajo de tesis doctoral realizado por **D^a Susana Pérez Rodríguez** ha sido ejecutado bajo nuestra dirección y lleva como título **“PERSISTENCIA DEL VPH-ARTRAS TRATAMIENTO ESCISIONAL CERVICAL (CONIZACIÓN) Y/O TRATAMIENTO ABLATIVO CERVICAL Y SU RELACIÓN CON LOS DISTINTOS COFACTORES”**.

Que dicho trabajo versa sobre un tema original de investigación y tiene el suficiente rigor científico para que, de acuerdo con la normativa legal vigente, sea presentado en esta Facultad, al objeto de obtener el Grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

Y para que conste a los efectos legales, expedimos la presente certificación.

Fdo. Dr. Miguel Ángel Olalla Herrera

Fdo. Dra. M^a Isabel Hierro Martín

A mi marido y mis hijos

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis de una forma directa o indirecta, requiere de la colaboración de un equipo de personas sin las que este trabajo no hubiera sido posible. A todas ellas, que invirtieron su tiempo y sus conocimientos quiero agradecerles su apoyo.

En primer lugar, me gustaría agradecer a mis directores de tesis el apoyo mostrado:

- A la Dra. María Isabel Hierro Martín, quien confió en mí desde el principio para llevar a cabo este proyecto brindándome su ánimo y conocimiento.
- Al Dr. Miguel Ángel Olalla Herrera, por transmitirme siempre su entusiasmo para mantener con vida el interés por el conocimiento en la materia así como por ser un ejemplo de constancia y buenhacer.

A todo el personal de la UGC de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Virgen de la Victoria de Málaga y del Dpto. de Histología y Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina de Málaga por su ayuda en la búsqueda de datos y material para este estudio y por su meticuloso trabajo tal y como demuestran día a día.

Al Dr. Luis Cóndor Muñoz, primero y al Dr. Agustín Eslava Martín después, directores de la UGC de Obstetricia y Ginecología del Hospital Universitario Virgen de la Victoria de Málaga, que confiaron en mí en todo momento a lo largo de estos años.

A todos los que han sido mis compañeros de la UGC de Obstetricia y Ginecología del Hospital Universitario Virgen de la Victoria de Málaga, por el estímulo prestado y, en especial, a mi compañera y amiga Isabel María Jurado Navarrete, por compartir conmigo todo lo que ha estado a su alcance, sobre todo su tiempo y colaboración para conseguir finalizar el proyecto que empezamos juntas. Simplemente, gracias.

A María Dolores Garcés Chaves, auxiliar de enfermería de la consulta de Patología del TGI de dicho Hospital, por su predisposición, su colaboración y ayuda en todo lo posible para conseguir lo necesario para esta tesis. Gracias por tu sonrisa y apoyo a mi persona aún en la distancia.

Añado un cordial agradecimiento a todo el Servicio de Documentación Clínica del mismo hospital por su dedicación y comprensión hacia mi persona para poder realizar dicha memoria.

A mi marido, Pedro, confidente, amigo y compañero de este largo y difícil viaje que con su inagotable paciencia aporta siempre grandes soluciones a pequeños problemas. Gracias por ser tú.

A mi hijos, Estrella y Pedro, por llenar mi vida de alegría y amor con una simple mirada o caricia.

Al resto de familiares que de forma directa están dispuestos siempre a prestar su ayuda muy necesaria en ciertos momentos.

Y en última instancia, a todas las personas que han contribuido a que este proyecto haya sido posible, quiero expresarles mi cariño y mi agradecimiento más sincero.

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

ACOG: American College of Obstetrician and Gynecologist

ACS: American Cancer Society

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AEPCC: Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia

AGC: Atypical glandular cells (células glandulares atípicas)

AIS: Adenocarcinoma in situ

ARN: Ácido ribonucleico

ASC-H: Atypical squamous cells can not exclude HSIL (células escamosas atípicas de significado incierto sin poder descartar lesión escamosa intraepitelial de alto grado)

ASC-US: Atypical squamous cells of undetermined significance (células escamosas atípicas de significado incierto)

CIN: Cervical intraepithelial neoplasia (neoplasia intraepitelial cervical)

CIS: Carcinoma in situ

CCU: Cáncer de cuello uterino

CNE: Centro Nacional de Epidemiología

DIU: Dispositivo intrauterino

FDA: Food and Drug Administration

HC2: Hybrid Capture 2 (Captura Híbrida 2)

HE: Hematoxilina-Eosina

HSIL: High grade squamous intraepithelial lesion (lesión escamosa intraepitelial de alto grado)

HUVV: Hospital Universitario Virgen de la Victoria

IARC: International Agency for Research on Cancer (Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer)

IFCPC: International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy

LEC: Legrado endocervical

LEEP: Loop electrosurgical excision procedure (gran escisión con asa de la zona de transformación)

LLETZ: Large loop excision of the transformation zone (gran escisión con asa de la zona de transformación)

LSIL: Low grade squamous intraepithelial lesion (lesión escamosa intraepitelial de bajo grado)

NS: No significación estadística

PCR: Polymerase Chain Reaction (Reacción en cadena de la polimerasa)

pRB o pRb: Proteína del retinoblastoma

SEAP: Sociedad Española de Anatomía Patológica

SEC: Sociedad Española de Citología

SEE: Sociedad Española de Epidemiología

SEGO: Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia

SIL: Squamous intraepithelial lesión (lesión intraepitelial escamosa)

SIL-AG: lesión intraepitelial escamosa de alto grado

SIL-BG: lesión intraepitelial escamosa de bajo grado

TGI: Tracto Genital Inferior

UEC: Unión escamocolumnar

VB: Vaginosis bacteriana

VHS: Virus del Herpes Simple

VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana

VPH: Virus del Papiloma Humano

VPH-AR: VPH de Alto Riesgo

VPH-BR: VPH de Bajo Riesgo

VPN: Valor predictivo negativo

VPP: Valor predictivo positivo

WHO: World Health Organization (OMS: Organización Mundial de la Salud)

ZT: Zona de transformación

ÍNDICES

ÍNDICE DE CONTENIDO

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
1.	CÁNCER DE CUELLO UTERINO	2
1.1.	Epidemiología	2
1.2.	Mortalidad.....	5
2.	VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO	7
2.1.	Estructura genómica del VPH	7
2.2.	Oncogénesis por VPH	12
2.3.	Clasificación de los VPH.....	15
2.4.	Prevalencia de la infección por VPH	19
2.5.	Transmisión de la infección por VPH	22
2.6.	Mecanismo de infección y regulación del ciclo celular	23
2.7.	Inmunidad de la infección por VPH: interacción virus-huésped.....	27
2.8.	Historia natural de la infección por VPH.....	29
3.	PROCESO DE CRIBADO POBLACIONAL	39
3.1.	Métodos de prevención secundaria: cribado poblacional	39
3.2.	Métodos de detección e identificación del VPH.....	49
3.3.	Evolución del proceso de cribado en España	54
4.	TRATAMIENTO DE LA NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL.....	58
4.1.	Conización	59
4.2.	Seguimiento postratamiento de la lesión escamosa de alto grado.....	60
II.	PLANTEAMIENTO DEL TEMA, HIPÓTESIS DE TRABAJO Y	
	OBJETIVOS.....	63
1.	OBJETIVO PRINCIPAL	65
2.	OBJETIVOS SECUNDARIOS.....	65

ÍNDICES

III. MATERIAL Y MÉTODOS.....	66
1. ÁMBITO DE TRABAJO: POBLACIÓN DE ESTUDIO	67
2. METODOLOGÍA DE TRABAJO	70
2.1.Criterios de inclusión	70
2.2.Criterios de exclusión	70
3. RECOGIDA DE MUESTRAS.....	71
4. ESTUDIO CITO-HISTOLÓGICO CONVENCIONAL	72
5. DETECCIÓN DEL ADN DEL VPH POR TÉCNICAS DE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR).....	73
6. DESCRIPCIÓN DE LOS PARÁMETROS ESTUDIADOS	74
7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS	78
7.1.Estadística Descriptiva	78
7.2.Estadística Analítica o Inferencial	78
IV. RESULTADOS.....	80
A. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA.....	81
1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LOS DATOS DEMOGRÁFICOS	81
1.1.Edad	81
1.2.Nacionalidad de las pacientes	83
1.3.Menopausia	84
2. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LOS COFACTORES DEL CÁNCER DE CUELLO UTERINO	84
2.1.Cofactores de adquisición de la infección por VPH	84
2.2.Cofactores implicados en la carcinogénesis cervical	87
3. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS	91
3.1.Diagnóstico citológico.....	91
3.2.Punch biopsia cervical dirigida por colposcopia	91
3.3.Diagnóstico molecular del VPH	92
3.4.Diagnóstico colposcópico	97
3.5.Diagnóstico anatomopatológico del cono	101

ÍNDICES

4. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LAS VARIABLES DE SEGUIMIENTO	103
4.1.Persistencia de la infección por VPH tras tratamiento	103
4.2.Tratamiento de la afectación de los márgenes quirúrgicos	109
4.3.Tiempo de seguimiento	110
B. ESTADÍSTICA ANALÍTICA.....	111
1. CORRELACIÓN DE LOS DATOS DEMOGRÁFICOS CON LA PERSISTENCIA DEL VPH-AR..	111
1.1.Edad.....	111
1.2.Menopausia	113
2. CORRELACIÓN DE LOS COFACTORES DEL CÁNCER DE CUELLO UTERINO CON LA PERSISTENCIA DEL VPH-AR.....	113
2.1.Cofactores de adquisición de la infección por VPH	113
2.2.Cofactores implicados en la carcinogénesis cervical	1116
3. CORRELACIÓN DE LAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS CON LA PERSISTENCIA DEL VPH-AR.	121
3.1.Citología diagnóstica y vaginosis bacteriana	121
3.2.Diagnóstico colposcópico	122
3.3.Diagnóstico anatomopatológico del cono	125
4. CORRELACIÓN DE LAS VARIABLES DE SEGUIMIENTO CON LA PERSISTENCIA DEL VPH-AR Y LOS GENOTIPOS.....	130
4.1.Persistencia de la infección por VPH tras tratamiento y genotipos	130
4.2.Tratamiento de la afectación de los márgenes quirúrgicos	137
V. DISCUSIÓN.....	140
1. CONSIDERACIONES SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO	141
1.1.Edad.....	141
1.2.Menopausia	141
2. CONSIDERACIONES SOBRE LOS COFACTORES DE ADQUISICIÓN DE LA INFECCIÓN POR VPH.....	142
2.1.Edad de inicio de las relaciones sexuales	142
2.2.Número de parejas sexuales	143

ÍNDICES

3. CONSIDERACIONES SOBRE LOS COFACTORES IMPLICADOS EN LA CARCINOGENÉISIS CERVICAL.....	143
3.1.Hábito tabáquico	143
3.2.Paridad.....	144
3.3.Anticonceptivos hormonales.....	144
3.4.Inmunosupresión.....	146
4. CONSIDERACIONES SOBRE LOS RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS	146
4.1.Citología diagnóstica y vaginosis bacteriana	146
4.2.Infección por VPH y genotipo viral	147
4.3.Colposcopia	150
4.4.Diagnóstico anatomopatológico del cono	151
5. CONSIDERACIONES SOBRE LA PERSISTENCIA DE LA INFECCIÓN POR VPH POSTRATAMIENTO	152
VI. CONCLUSIONES.....	158
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	160

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estimación de tasas estandarizadas por edad de incidencia y mortalidad de cáncer en el mundo en mujeres (Fuente: Globocan 2012)². 3

Figura 2. Tasas de incidencia de CCU estandarizadas por edad por 100.000 mujeres en el mundo (Fuente: GLOBOCAN 2012)². 4

Figura 3. Tasas de mortalidad por CCU estandarizadas por edad por 100.000 mujeres en el mundo (Fuente: GLOBOCAN 2012)². 6

Figura 4. Estructura genómica del VPH (Adaptada de Schwarz E)¹⁰ 8

Figura 5. Funciones de E6-E7..... 10

Figura 6. Expresión de los oncogenes virales..... 12

Figura 7. Clasificación taxonómica de los papilomavirus²¹. 16

Figura 8. Distribución de los tipos de VPH en mujeres con citología normal, LSIL, HSIL y cáncer de cérvix en España. Datos actualizados al 12 Diciembre 2014. 21

Figura 9. Ciclo vital de los VPH-AR en el epitelio cervical⁴⁴. 24

Figura 10. Historia natural de la infección VPH-AR⁴⁴. 30

Figura 11. Esquemas de expresión morfológica de CIN y CCU (Adaptado de Baldwin P)⁶⁷ 32

Figura 12. Historia natural infección VPH⁷³. 34

Figura 13. Citología cervical..... 40

Figura 14. Sistema de Clasificación Bethesda¹¹². 41

Figura 15. Terminología colposcópica del cuello uterino de IFCPC 2011¹²². 45

Figura 16. Terminología colposcópica del cuello uterino-apéndice de IFCPC 2011¹²². 46

Figura 17. Neoplasia Intraepitelial Cervical. 47

Figura 18. Clasificación de ensayos para determinación de VPH¹²⁵. 49

Figura 19. Recomendaciones de la SEGO 2010 para el cribado poblacional en mujeres no vacunadas⁸⁵. 55

Figura 20. Recomendaciones de la SEGO 2010 para el cribado poblacional en mujeres vacunadas⁸⁵. 56

Figura 21. Estrategias de cribado en función del subgrupo de edad. Guía de cribado del CCU 2014¹⁴⁶. 57



ÍNDICES

Figura 22. Algoritmo de actuación clínica en mujeres con prueba de detección del VPH positiva ¹⁴⁶	58
Figura 23. Conización con asa de diatermia.	59
Figura 24. Asa de Trucone. Figura 25. Asa de diatermia.	60
Figura 26. Algoritmo de seguimiento posttratamiento de CIN. Oncoguía SEGO 2014 ¹⁵¹	62
Figura 27. Esquema de visitas, procedimientos y resultados en el seguimiento de las pacientes en la Consulta de PTGI.....	69
Figura 28. Identificación del genotipo mediante PCR seguida de hibridación en membrana.	74
Figura 29. Distribución por edad (grupos etáreos).	82
Figura 30. Distribución de la nacionalidad de las pacientes.	83
Figura 31. Estado menopáusico de las pacientes.	84
Figura 32. Histograma de la edad de inicio de las relaciones sexuales.	85
Figura 33. Número de parejas sexuales.	86
Figura 34. Consumo de tabaco.....	87
Figura 35. Distribución del número de partos.	88
Figura 36. Utilización de anticoncepción hormonal.	89
Figura 37. Estado de inmunosupresión.	90
Figura 38. Vacunación frente al VPH.....	90
Figura 39. Genotipos del VPH preconización.	95
Figura 40. VPH en infecciones multigenómicas preconización.	96
Figura 41. Distribución de los hallazgos colposcópicos.....	98
Figura 42. Localización horaria de las lesiones colposcópicas.....	99
Figura 43. Localización por cuadrantes de las lesiones colposcópicas.	99
Figura 44. Lesión que alcanza endocérnix colposcópicamente.	100
Figura 45. Afectación de los bordes quirúrgicos.	101
Figura 46. Localización de la afectación de los bordes quirúrgicos.	101
Figura 47. Cirujano responsable de la conización.	102
Figura 48. Genotipos del VPH postconización.....	105
Figura 49. Persistencia de genotipos del VPH postconización por especie.....	107

ÍNDICES

Figura 50. Persistencia VPH postconización según especie.....	107
Figura 51. VPH en infecciones multigenómicas postconización.....	108
Figura 52. Ampliación del tratamiento quirúrgico.	109
Figura 53. Tiempo de seguimiento postconización.	110
Figura 54. Grupos de edad y persistencia VPH-AR.	112
Figura 55. "Coitarquia" (años) y persistencia de la infección viral.	115
Figura 56. Hábito tabáquico y persistencia VPH-AR.....	117
Figura 57. Vaginosis bacteriana y persistencia VPH-AR.....	121
Figura 58. Persistencia VPH-AR y colposcopia.....	122
Figura 59. Lesión colposcópica que alcanza OCE y persistencia VPH-AR.....	124
Figura 60. Persistencia VPH-AR y afectación de los márgenes quirúrgicos.....	126
Figura 61. Persistencia VPH-AR y localización del margen quirúrgico afectado.....	128
Figura 62. Persistencia VPH-AR y cirujano responsable de la conización.	129
Figura 63. Persistencia postconización según genotipos VPH.....	133
Figura 64. Persistencia postconización según genotipos VPH.....	133
Figura 65. Persistencia postconización según genotipos VPH.....	134
Figura 66. Persistencia postconización según genotipos VPH.....	134
Figura 67 . Infección VPH-BR postconización.	135
Figura 68. Tipo de infección VPH en los casos de tratamiento quirúrgico complementario tras la conización.	136
Figura 69. Persistencia VPH-AR y la ampliación del tratamiento quirúrgico.....	139

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Mecanismos de actuación de E6-E7 y cambios celulares que conllevan dichos mecanismos..... 14

Tabla 2. Clasificación epidemiológica de los papilomavirus²⁵ 18

Tabla 3. Cofactores de persistencia y progresión (carcinogénesis). 35

Tabla 4. Pruebas para la detección de VPH aprobadas por la FDA para su utilización en el cribado poblacional..... 50

Tabla 5. Parámetros descriptivos de la edad..... 81

Tabla 6. Grupos de edad (frecuencia absoluta y relativa)..... 82

Tabla 7. Nacionalidad de las pacientes. 83

Tabla 8. Parámetros descriptivos de la edad del primer coito. 84

Tabla 9. Parámetros descriptivos del número de parejas sexuales. 85

Tabla 10. Número de parejas sexuales..... 86

Tabla 11. Distribución de frecuencias del número de partos..... 88

Tabla 12. Diagnóstico citológico. 91

Tabla 13. Biopsia cervical dirigida por colposcopia..... 92

Tabla 14. Descriptores de infección por VPH 92

Tabla 15. Descriptores de tipo de infección VPH..... 93

Tabla 16. Genotipos del VPH preconización (frecuencia absoluta y relativa). 94

Tabla 17. Resultados del examen colposcópico. 97

Tabla 18 . Tamaño de la lesión colposcópica. 100

Tabla 19. Descriptores de infección por VPH postconización en los casos persistentes. 103

Tabla 20. Genotipos del VPH postconización (frecuencia absoluta y relativa). 104

Tabla 21. Descriptores de edad media de las pacientes por persistencia vírica..... 111

Tabla 22. Relación entre la edad (grupos etáreos) y persistencia VPH-AR. 112

Tabla 23. Relación entre persistencia VPH-AR y menopausia. 113

Tabla 24. Relación entre la edad de la primera relación sexual y persistencia vírica..... 114

Tabla 25. Relación entre persistencia VPH-AR y número de parejas sexuales..... 116



ÍNDICES

Tabla 26. Relación entre persistencia vírica y consumo de tabaco.....	117
Tabla 27. Relación entre persistencia VPH-AR y número de partos.....	118
Tabla 28. Relación entre persistencia VPH-AR y uso de anticoncepción hormonal.....	119
Tabla 29. Relación entre persistencia VPH-AR y estado inmunológico.....	120
Tabla 30. Relación entre vaginosis bacteriana y persistencia vírica.....	121
Tabla 31. Relación entre la persistencia vírica y los hallazgos colposcópicos.....	123
Tabla 32. Relación entre lesión colposcópica que alcanza endocérnix y persistencia vírica. ...	124
Tabla 33. Relación entre la persistencia vírica y la afectación de los márgenes quirúrgicos. ...	125
Tabla 34. Relación entre la persistencia vírica y la localización de la afectación de los márgenes quirúrgicos.	127
Tabla 35 . Relación entre persistencia VPH-AR y cirujano responsable de la conización.	129
Tabla 36. Persistencia de genotipos del VPH postratamiento en los casos persistentes y no persistentes.....	130
Tabla 37. Persistencia del VPH-AR y tipo de infección.....	137
Tabla 38. Relación entre la persistencia vírica y la ampliación del tratamiento quirúrgico.....	138

INTRODUCCIÓN

1. CÁNCER DE CUELLO UTERINO

Durante la década de 1990, aparecieron numerosos estudios epidemiológicos con apoyo en estudios moleculares que ponían de manifiesto el papel causal de algunos serotipos del Virus del Papiloma Humano (VPH) en el desarrollo del cáncer cervical y sus lesiones precursoras.

En 1995 la International Agency for Research on Cancer (IARC) catalogó los genotipos VPH 16 y 18 como carcinógenos humanos. Posteriormente, en 2003, nuevos estudios de la IARC incorporaron como carcinógenos a los tipos 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82, y como probablemente oncogénicos los tipos 26, 53 y 66.

Así, la evidencia científica acumulada a partir de estudios virológicos, moleculares, clínicos y epidemiológicos ha permitido demostrar y describir que el cáncer de cuello uterino (CCU) es en realidad una secuela a largo plazo de una infección de transmisión sexual no resuelta por genotipos oncogénicos de VPH¹.

Se propone de esta forma al VPH como la primera causa necesaria en un cáncer humano, es decir, que el CCU no se desarrolla sin la presencia persistente de ADN del VPH. Por tanto, uno de los descubrimientos más importantes en la investigación etiológica del cáncer de los últimos 25 años ha sido la demostración de la relación causal entre la infección persistente por ciertos genotipos de VPH y el posterior desarrollo de CCU.

El conocimiento sobre el origen viral del cáncer de cérvix hace que en los últimos tiempos la vacunación contra el VPH sea una de las estrategias a considerar en la prevención primaria de los cánceres y patologías causadas por el VPH.

1.1.Epidemiología

El CCU representa una de las neoplasias más frecuentes y letales en las mujeres. Es el séptimo cáncer más frecuente a nivel mundial y, en las mujeres entre 15 y 44 años, es el segundo cáncer más frecuente después del cáncer de mama. Además, es la tercera causa de mortalidad por cáncer entre las mujeres (Figura 1).

La incidencia de cáncer de cérvix en la población femenina en el año 2012 fue 527.624 y como causa de muerte se ha asociado a 265.672 mujeres².

INTRODUCCIÓN

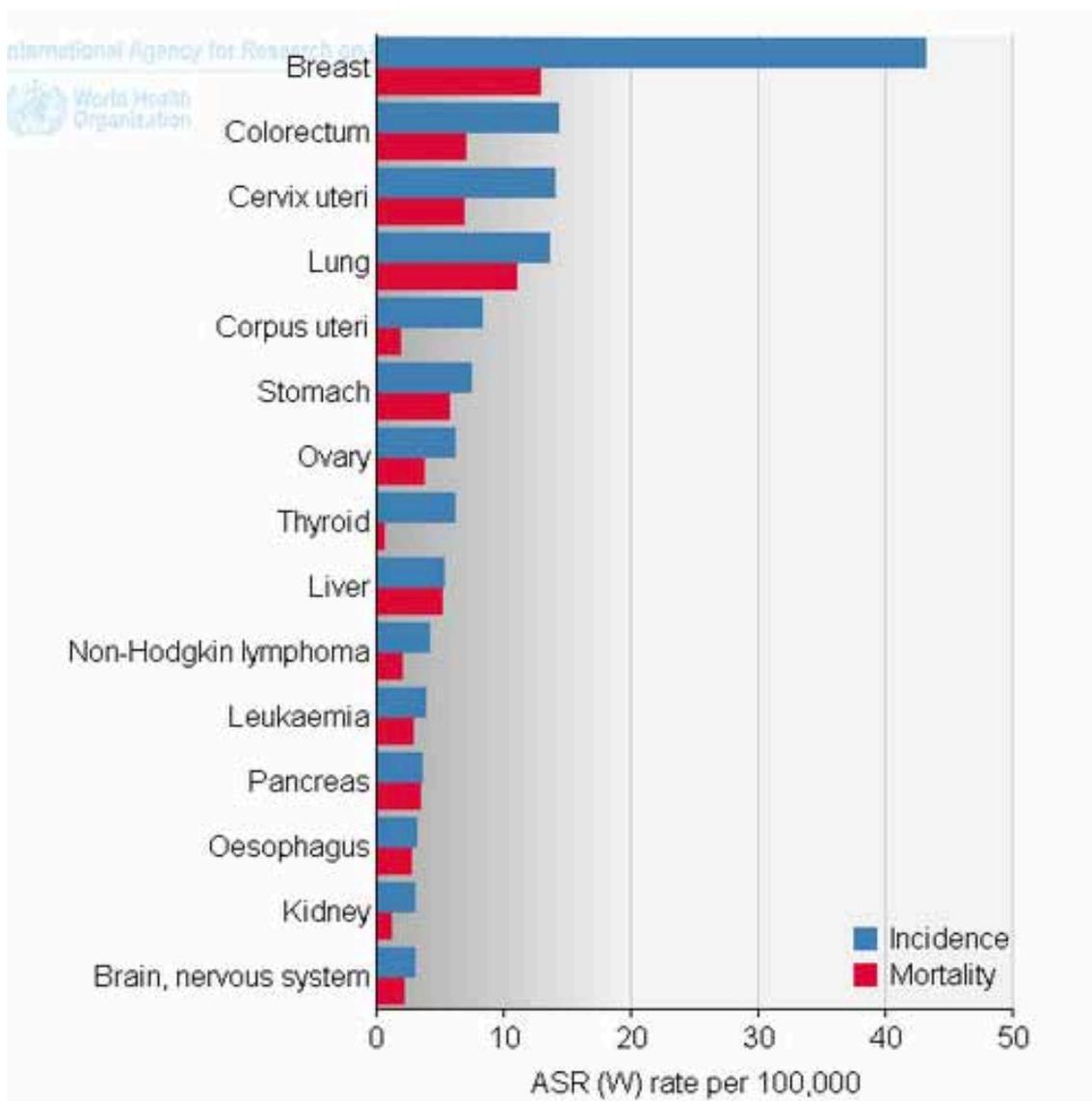


Figura 1. Estimación de tasas estandarizadas por edad de incidencia y mortalidad de cáncer en el mundo en mujeres (Fuente: Globocan 2012)².

Más del 85% de la carga mundial se produce en los países en desarrollo, donde representa casi el 12% de todos los cánceres femeninos. Las regiones de mayor riesgo, con una estimación de más de 30 casos por 100.000 habitantes, incluyen África Oriental (42,7 casos), Melanesia (33,3 casos), Sur de África (31,15 casos) y África Central (30,6 casos). Las tasas más bajas están en Australia/Nueva Zelanda (5,5 casos) y Asia Occidental (4,4 casos). El cáncer de cuello de útero sigue siendo el cáncer más común en las mujeres de África Oriental y Central (Figura 2).

INTRODUCCIÓN

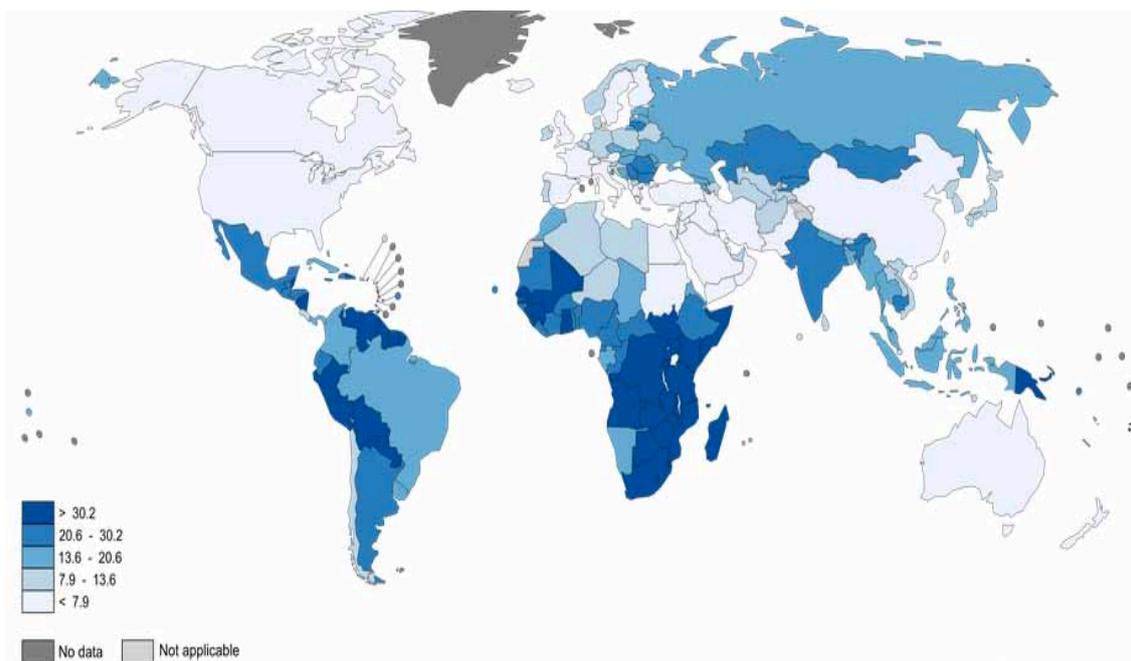


Figura 2. Tasas de incidencia de CCU estandarizadas por edad por 100.000 mujeres en el mundo (Fuente: GLOBOCAN 2012)².

Las tasas de incidencia son muy variables entre los distintos países de Europa, así pueden oscilar desde los 4.7 casos/100.000 mujeres en Finlandia y los 27.4 casos por 100.000 mujeres en Serbia y Montenegro³.

Las tasas más bajas se encuentran en los países del Norte de Europa, mientras que las más altas se observan en los países del Sur y Este de Europa, Serbia y Montenegro, Bosnia, Albania, Rumania y Bulgaria.

En España, el CCU invasor tiene una incidencia relativamente baja, con unas tasas ajustadas por edad a la población estándar mundial de entre 3,4 y 12,2 casos por 100.000 mujeres/año según los datos de los diferentes registros de cáncer de base poblacional. En concreto, la incidencia estimada es de unos 8.2 casos por 100.000 mujeres, siendo una de las menores dentro de la Unión Europea, después de Finlandia, Malta, Grecia, Holanda e Irlanda.

El total de tumores genitales en España representan alrededor del 16% de los cánceres de la mujer. Y dentro de éstos, el orden de frecuencia, coloca en primer lugar al cáncer de endometrio (6,7%) y según series actuales es seguido del cáncer de ovario (4.7%) y del CCU (4.5%).

INTRODUCCIÓN

La incidencia de CCU en España se halla en el segmento bajo europeo, con una tasa poblacional media de 7,6 por 100.000/año, según los datos comunicados por los registros de cáncer españoles a la IARC dependiente de la Organización Mundial de la Salud (OMS)^{4, 5}. La tasa más alta ha sido comunicada por el registro de Asturias (11.5 por 100.000 mujeres/año; tasa ajustada por edad: 7,1 por 100.000 mujeres/año) y la más baja por el de Zaragoza (6.5 por 100.00 mujeres/año; tasa ajustada por edad: 4.1 por 100.000 mujeres/año).

En Andalucía, sólo se dispone del registro de Granada, que ha comunicado a partir de datos obtenidos en el periodo comprendido entre 1998 y 2002 una incidencia de 8.1 por 100.000 mujeres/año (tasa ajustada por edad: 6.0 por 100.000 mujeres/año).

1.2. Mortalidad

Las tasas de mortalidad del CCU son inferiores a la incidencia. Se han estimado unas 266.000 muertes por cáncer de cuello de útero en todo el mundo en 2012, representando el 7,5% de todas las muertes por cáncer en mujeres².

Casi nueve de cada diez (87%) muertes por cáncer cervical se producen en las regiones menos desarrolladas del mundo. La mortalidad varía 18 veces entre las distintas regiones del mundo, con tasas que van desde menos de 2 casos por 100.000 en Asia Occidental, Europa Occidental y Australia/Nueva Zelanda a más de 20 casos por 100.000 en Melanesia, África Oriental y África Central (Figura 3).

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.

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.

INTRODUCCIÓN

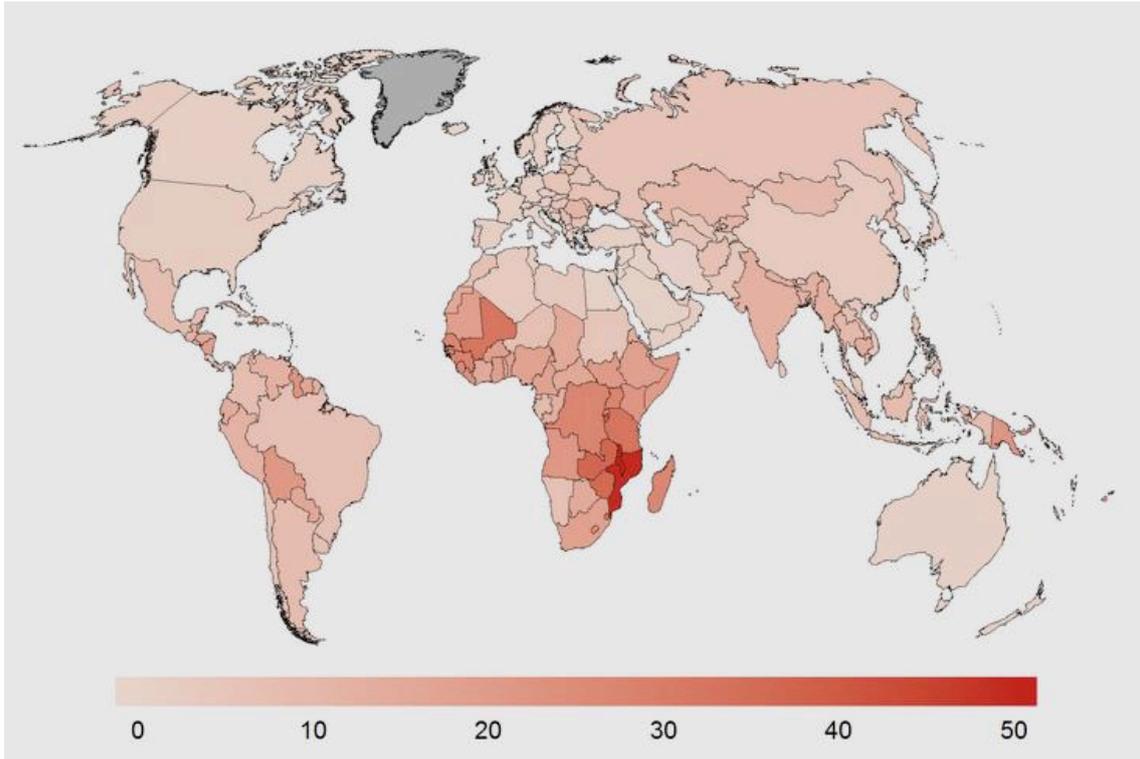


Figura 3. Tasas de mortalidad por CCU estandarizadas por edad por 100.000 mujeres en el mundo (Fuente: GLOBOCAN 2012)².

La mortalidad por CCU ajustada a la población europea en las provincias andaluzas es la siguiente: Granada (0.97/100.000 mujeres), Córdoba (1.13/100.000 mujeres), Cádiz (1.70/100.000 mujeres), Sevilla (1.70/100.000 mujeres), Málaga (1.76/100.000 mujeres), Almería (2.04/100.000 mujeres), Jaén (2.71/100.000 mujeres) y Huelva (4.49/100.000 mujeres)⁶.

A nivel mundial las tasas de supervivencia son muy variables. En Estados Unidos la tasa de supervivencia a los 5 años está en torno al 72%, en Europa en el 63% y en África la supervivencia a los 5 años supone sólo el 30.5%⁷.

A su vez, en Europa la supervivencia varía entre los diferentes países, siendo significativamente mayor en los países del Norte y por el contrario sensiblemente menor en países como Polonia, Portugal o España^{8,9}.

2. VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

Los estudios epidemiológicos y clínicos, apoyados por la biología molecular ponen de manifiesto la relación causal entre el VPH y el CCU, detectándose ADN del virus en el 99,7% de dichos tumores, por lo que se cuestiona su existencia en ausencia de infección viral, considerándose a este agente como causa necesaria para la aparición del CCU como ya se ha mencionado con anterioridad.

El riesgo relativo de la asociación entre infección por VPH y el CCU es de alta magnitud, en un rango de 20 a 70. Este rango es mayor que para la asociación entre tabaquismo y cáncer pulmonar, y es comparable solamente al de la asociación entre hepatitis B crónica y cáncer hepático, relaciones causales que son indiscutibles. Además, ciertos genotipos de VPH han demostrado la capacidad de transformar líneas celulares humanas en cultivo y causar anomalías en las mismas similares a las detectadas en las lesiones intraepiteliales de bajo grado (LSIL).

2.1. Estructura genómica del VPH

Los papilomavirus humanos forman un género dentro de la familia Papovaviridae. Son virus pequeños (55 nm de diámetro) de estructura icosaédrica con una cápside compuesta por 72 capsómeros que encierran un genoma de ADN circular de doble banda que contiene alrededor de 8000 pares de bases (Figura 4)¹⁰.

Su estructura genómica es compartida por los más de 100 tipos secuenciados hasta la fecha y esos genes que codifican las proteínas residen exclusivamente en una de las dos cadenas de ADN las cuales se constituyen en secuencias de lectura abierta (“Open Reading Frames”, ORF). A efectos funcionales puede dividirse el genoma en tres regiones que se detallan a continuación:

2.1.1. Genes de expresión temprana (“early”)

Son genes **E** (del inglés “early”) que codifican proteínas involucradas en la replicación de ADN viral, regulación transcripcional y transformación celular. Hay hasta ocho tipos diferentes (**E1-E8**) y representan el 45% del genoma. Tienen siete regiones de lectura abierta que codifican para proteínas no estructurales, cuya función es controlar la replicación del ADN e inducir la transformación maligna de la célula huésped.

VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO HPV

Estructura genómica y función de las proteínas virales

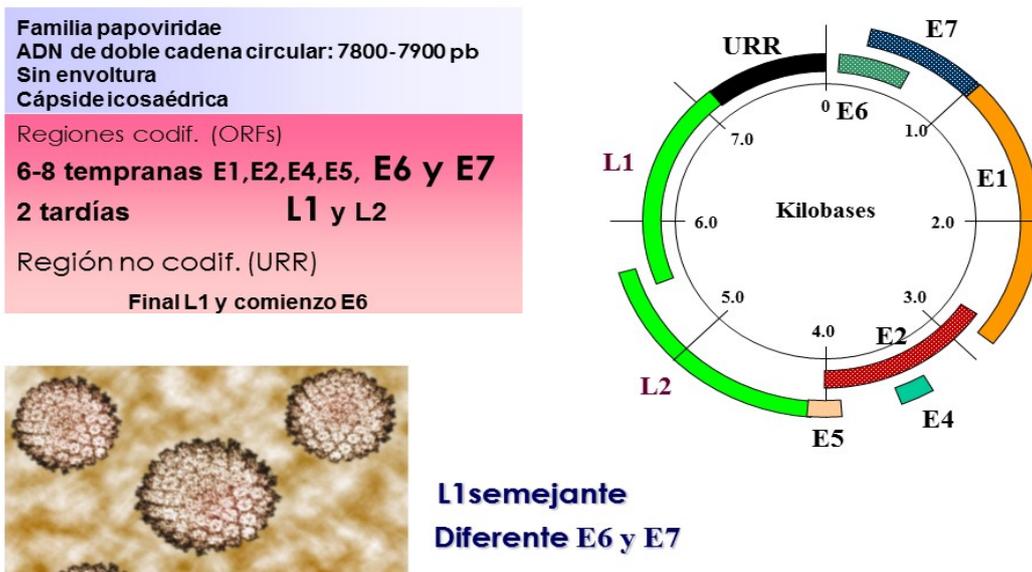


Figura 4. Estructura genómica del VPH (Adaptada de Schwarz E)¹⁰.

E1 y **E2** tienen acciones moduladoras muy importantes sobre la replicación del ADN viral ya que codifican proteínas que actúan sobre los promotores de la zona LCR (“Long Control Region”). **E1** es una proteína con actividad ATPasa y ADN helicasa. Es necesaria para la replicación del ADN viral y el control de la transcripción. Las funciones principales de **E2** incluyen la regulación de la replicación de ADN viral y la expresión de genes virales. La proteína E2 posee la capacidad de reprimir o activar los promotores virales. Codifica un factor represor de transcripción (E2-TR) que inhibe la transcripción del promotor P97, el cual dirige la síntesis de E6 y E7 por lo que E2 suprime la expresión de E6 y E7 en líneas celulares transformadas por VPH con la consiguiente detención del ciclo celular. Sin embargo, esta actividad de E2 depende de la estructura de la cromatina y el ADN. Así, E2 sólo es efectivo en el control de E6 y E7 cuando se encuentra integrado en el ADN celular y no en forma episomal.

E3 es una proteína cuya función no se conoce, solo está presente en algunos tipos de VPH.

E4 se expresa en gran cantidad en lesiones condilomatosas vulvares, codificando proteínas asociadas con el efecto citopático viral; las proteínas que codifican interactúan con proteínas (citoqueratinas) del citoesqueleto celular.

INTRODUCCIÓN

E5, E6 y E7 están relacionadas con la capacidad transformante y se consideran verdaderos oncogenes virales, capaces de causar por separado transformación in vitro. De hecho, el genoma del papilomavirus no codifica las enzimas necesarias para la replicación ni la transcripción de ADN viral, por lo que el papilomavirus debe sostener la proliferación celular del huésped para poder replicarse, y esto lo hace mediante sus tres proteínas de transformación: E5, E6, E7. Por ello, éstas son responsables de favorecer la replicación viral y la generación de virus maduros. La transformación neoplásica de infecciones pre-malignas es un accidente para el virus ya que una célula transformada no diferenciada no es capaz de sostener la producción del virión.

E6 codifica una proteína de 150 aminoácidos, cuya importancia en el cáncer parece residir en su efecto sobre el gen supresor tumoral celular p53. Las alteraciones en dicho gen, incluyendo las deleciones, inserciones y mutaciones puntuales, son los acontecimientos genéticos más frecuentes en numerosos tipos de carcinomas. La función normal del p53 incluye un incremento transitorio de su expresión cuando se produce una lesión del ADN, que lleva a detener el ciclo celular en la fase G1. Este paro permite la reparación del ADN; si ésta no es posible, la célula sufrirá apoptosis. La proteína E6 estimula también la degradación de p53 a través de una vía proteolítica selectiva dependiente de ubiquitina. Las proteínas E6 de los tipos de VPH de alto riesgo oncogénico, tienen una mayor afinidad por la p53, si se comparan con los tipos de bajo riesgo oncogénico.

La importancia de **E7** respecto al cáncer reside en su efecto sobre el producto del gen del Rb. E7 se une a la proteína Rb y disocia el complejo E2F-Rb, estimulando la transcripción de los genes celulares (Figura 5).

Sin embargo, ciertos experimentos han demostrado que la expresión basal de E6 y E7 en los VPH es muy baja, ya que la proteína E2, por medio de la región reguladora URR (“Upper Regulatory Region”), mantiene prácticamente silenciada la expresión de las mismas. Ante esto, parece claro que únicamente una infección con gran cantidad de virus sería capaz de producir las suficientes unidades de E6 y E7 como para iniciar este proceso. Sin embargo, se ha demostrado que ciertas infecciones persistentes con baja carga viral generan un fenotipo tumoral efectivo. En la mayoría de los casos, esto se debe a que una porción de los virus se fragmenta por E2, por lo que ésta pierde su capacidad de reprimir la expresión de E6 y E7.

INTRODUCCIÓN

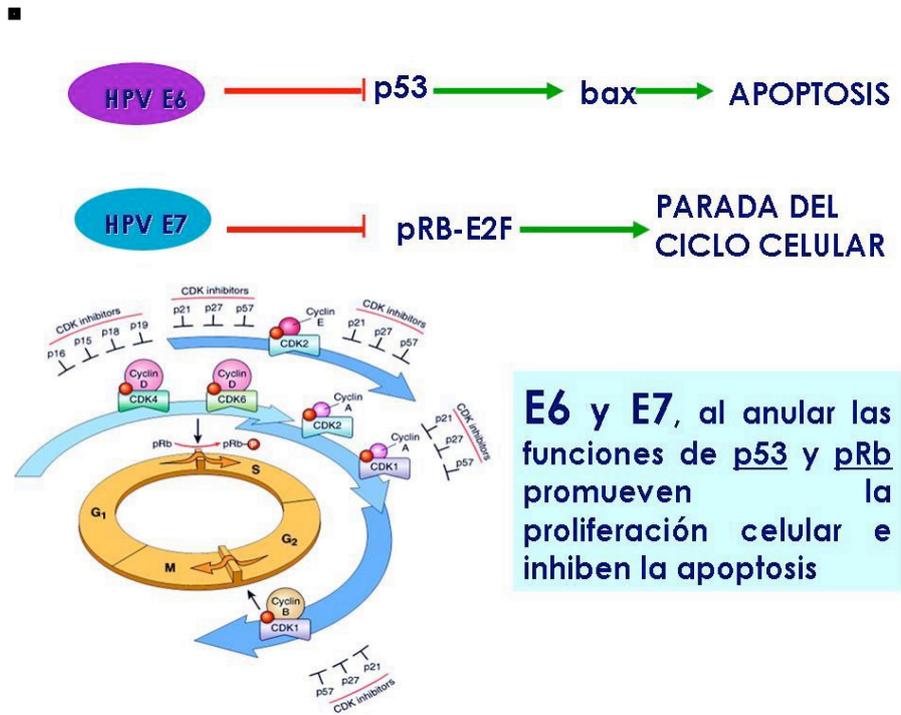


Figura 5. Funciones de E6-E7.

Hay que destacar que los genes **E6** y **E7** de los VPH 16/18 son considerados como potentes oncogenes virales ya que sus productos interactúan con numerosas proteínas celulares induciendo proliferación celular y transformación maligna de las células infectadas¹¹.

Una constante actividad de las oncoproteínas **E6** y **E7**, durante la infección viral, provoca una inestabilidad cromosómica severa, la acumulación de mutaciones en oncogenes, pérdida del control del crecimiento celular y finalmente cáncer¹².

E8-E2C codifica una proteína de reciente descripción que consta de la fusión del producto de un pequeño ORF E8 con parte de la proteína E2. Esta proteína de fusión es capaz de reprimir la replicación del ADN viral así como su transcripción, por ello se cree que juega el papel más importante en el mantenimiento de la latencia viral observada en las células basales del epitelio infectado¹³.

2.1.2. Genes de expresión tardía (“late”)

Son dos genes **L** (del inglés “late”) que codifican las proteínas de la cápside viral y consta de dos genes (**L1-L2**). Corresponde al 40% del genoma y su expresión genera las proteínas para el ensamblaje de la cubierta viral, la cápside.

L1 es la proteína mayor de la cápside viral, se autoensambla en capsómeros y cápside. Interactúa con **L2** y con receptores de la célula.

L2 es la proteína menor de la cápside viral, interactúa con el ADN. Se cree que facilita el ensamblaje del virión y puede interactuar con receptores de las células.

Tanto **L1** como **L2** se transcriben cuando los viriones completos se están ensamblando. Este proceso es regulado por factores de transcripción que únicamente se producen en las células epiteliales más diferenciadas de la capa más superficial del epitelio infectado.

Mientras que los genes de expresión temprana, (**E**), difieren notablemente en su secuencia entre los diferentes tipos de VPHs, los genes de expresión tardía, (**L**), presentan notables similitudes entre ellos.

Esta peculiaridad convertirá a estos genes, especialmente a **L1**, en la diana principal de la detección de ADNs virales por métodos de “consenso” al contrario de la detección “tipo específica” que utilizará genes con alta variabilidad entre tipos como **E6** y **E7**¹⁴.

2.1.3. Región control de genes reguladores (“long control region”)

Región **LCR** no codificadora donde se localizan los promotores que inician la replicación y muchos de los elementos de control de la transcripción y regulación. Así, será la encargada de controlar la expresión de los genes **E6** y **E7**.

2.2.Oncogénesis por VPH

La oncogénesis por VPH es un proceso de múltiples fases en las que se producen sucesivas alteraciones genéticas, desencadenadas por la desregulación del ciclo celular derivada de la infección por VPH de alto riesgo (VPH-AR).

La transformación tumoral de la célula tiene como base biológica la incapacidad de reparar los errores en la replicación del ADN mediante el bloqueo de proteínas del ciclo celular por los VPH-AR.

Una célula no infectada y competente en sus funciones tiene un estricto mecanismo de control que se encarga de iniciar el ciclo celular y reparar el ADN previamente a cada división celular, evitando que los errores genéticos se acumulen en el genoma celular durante el proceso de replicación. Dichos errores son favorecidos por determinados cofactores, como por ejemplo el tabaco. Cada cambio genético es reparado con la mediación de proteínas tales como p53 y Rb.

La presencia de secuencias genómicas de los VPHs de alto riesgo en el ADN de la célula es considerado por el sistema de control del ciclo celular como un evento irreparable y la célula infectada es conducida a la muerte celular por apoptosis. Las proteínas E6 y E7 de los VPH-AR bloquean y degradan a la proteínas del ciclo celular p53 y Rb, respectivamente (Figura 6).

□

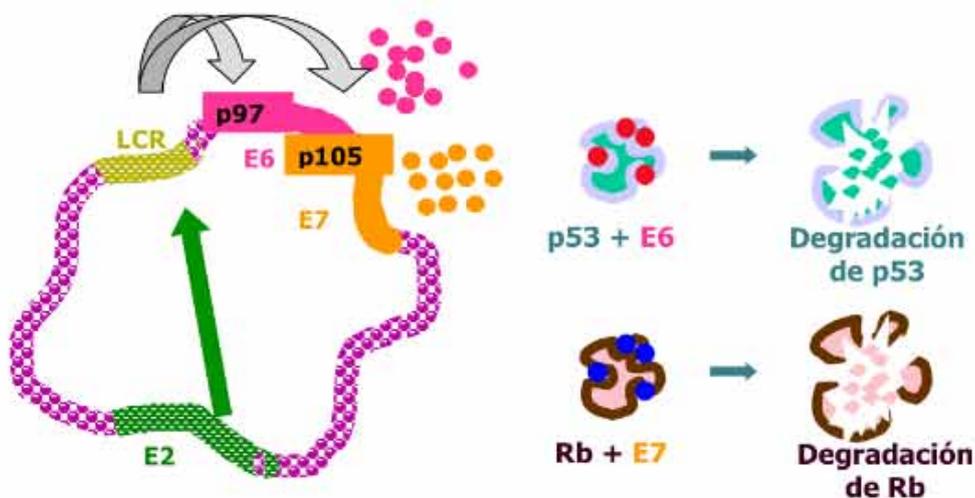


Figura 6. Expresión de los oncogenes virales.

INTRODUCCIÓN

Con estas proteínas degradadas, se produce un estado celular de susceptibilidad a la transformación neoplásica derivado de la incapacidad de la célula para reparar los errores genéticos derivados de su replicación o de conducir a la célula a la muerte por apoptosis.

De la capacidad de expresión de proteínas degradantes E6 y E7 de los VPHs dependerá su capacidad de bloqueo de p53 y Rb, y esta expresión a su vez se verá modificada por factores como la carga viral, la integración del genoma viral en el genoma celular o cofactores medioambientales.

Algunos experimentos han demostrado que la expresión basal de E6 y E7 en los VPH es muy baja comparado con la proteína E2, debido a la acción reguladora negativa de la región LCR, la cual mantiene prácticamente silenciada la expresión de estos genes. Por ello, en principio, el VPH no sería capaz de producir suficiente cantidad de E6 y E7 como para provocar el proceso de defensa o reparación celular.

Analizando la biología de la infección por VPH se ha podido demostrar que en ciertos casos y tras un proceso de integración viral en el genoma celular, generalmente por disrupción de la región E2, la región reguladora LCR se ve afectada e impide la represión de la transcripción de E6 y E7, con la consiguiente sobreexpresión de sus proteínas oncogénicas.

Así, una pequeña cantidad de virus podría producir grandes cantidades de proteínas E6 y E7, que bloquearían a p53 y Rb y se establecería el proceso de transformación neoplásica^{15, 16}.

Por su parte, la integración de secuencias genómicas del VPH en el ADN huésped se ha demostrado que no es un factor necesario para la inducción de la transformación celular, ya que en ausencia de esta integración es posible la transformación por mecanismos distintos de desregulación de la expresión de E6 y E7, e incluso la expresión basal de estas proteínas, en casos de elevadas cargas virales, puede ser suficiente para desencadenar el proceso de transformación neoplásica¹⁷.

Por tanto, sea por procesos de integración o por la intervención de rutas biológicas diferentes, la pérdida de E2, represor de la transcripción viral, da lugar a la expresión de los genes VPH E6 y E7, cuyas proteínas virales se expresan constantemente en los carcinomas cervicales¹⁸.

INTRODUCCIÓN

En los cánceres asociados a VPH-AR, los oncogenes E6 y E7 actúan sobre reguladores críticos de procesos celulares, y por tanto la expresión de estas oncoproteínas ocasiona múltiples cambios celulares oncogénicos¹⁹. Las oncoproteínas E6 y E7 contribuyen al desarrollo inicial y progresión del tumor.

La E7 bloquea la frenación del ciclo celular G1/S al degradar la proteína supresora retinoblastoma Rb y liberar el factor de transcripción E2F. Esto motiva un inicio aberrante del ciclo que, en condiciones normales, motivaría la activación de la proteína supresora p53 y causaría la muerte celular.

Contrariamente, a su vez la E6 degrada la p53 permitiendo que las células experimenten una persistencia de la proliferación aberrante. Para evitar la erosión de la telomerasa, que resultaría de la división celular continuada, la E6 activa asimismo la transcripción de hTERT (*human Telomerase Reverse Transcriptase*) que causa la inmortalización de las células.

Las oncoproteínas E6 y E7 actúan, además, como modificadores de las mitosis, aumentando la probabilidad de adquirir mutaciones celulares adicionales que contribuyen a la progresión carcinogénica durante la división celular. Estas proteínas también se han implicado en la desregulación de otros eventos asociados con la progresión maligna, como la transición del epitelio al estroma y la angiogénesis¹⁹.

Mecanismos de actuación	Cambios celulares
E7 -Modula la expresión génica. -Altera las modificaciones post-traslacionales -Modula la estabilidad proteínica. -Altera la localización subcelular	-Inducción de la síntesis del ADN -Alteraciones metabólicas -Inestabilización del genoma -Modulación de la muerte celular -Prolongación de la vida celular
E6 -Modula la expresión génica -Reprograma los enzimas celulares -Modula la estabilidad proteínica	-Bloqueo del control del ciclo celular -Resistencia a la apoptosis -Prolongación de la vida celular -Alteración del citoesqueleto y la polaridad celular

Tabla 1. Mecanismos de actuación de E6-E7 y cambios celulares que conllevan dichos mecanismos.

2.3. Clasificación de los VPH

La familia de los VPH cuenta con más de 118 tipos diferentes (aislados y secuenciados) de los cuáles, aproximadamente 40, se asocian a infecciones del tracto genital y 12 de ellos son clasificados como carcinogénicos²⁰.

Dado el rápido incremento en el número de VPH aislados que se ha demostrado de forma clara, se ha necesitado una clasificación taxonómica dentro de la familia *Papillomaviridae* la cual fue realizada por de Villiers²¹ en el año 2004. Esta clasificación intenta cubrir tres objetivos:

- Establecer una relación entre los distintos tipos de virus del papiloma.
- Poder comparar el término de tipo de papiloma virus contra el término taxonómico “especies” y “genero”, los cuáles se usan de forma sistemática por todos los organismos biológicos y frecuentemente se aplica en virología.
- Poder investigar entre la clasificación taxonómica y biológica y las propiedades patológicas del virus.

Es problemático correlacionar los grupos filogenéticos con la terminología taxonómica tradicional y las propiedades virales. De forma específica a veces hay coincidencia con las propiedades patológicas y biológicas, pero esto no ocurre siempre.

La evolución de los tipos se ha debatido de forma extensa por varios autores²²⁻²⁴. Los estudios comparativos se realizan usando la proteína E6, L1 o bien combinando E6-E7-L1 ORFs.

Mientras que los genes de expresión temprana, (E), difieren notablemente en su secuencia entre los diferentes tipos de VPHs, los genes de expresión tardía, (L), presentan notables similitudes entre ellos. Esta peculiaridad convertirá a estos genes, especialmente a L1, en la diana principal de la detección de ADNs virales por métodos de consenso al contrario de la detección “tipo específica” que utilizará genes con alta variabilidad entre tipos como E6 y E7.

Así, la comparación de las secuencias entre el genoma completo de los 118 VPH revela una gran diversidad entre virus, pero una distribución similar comparando las secuencias L1 y ORF, lo que ha dado tres niveles de clasificación taxonómica nombrándolos como género, especies y tipos.

INTRODUCCIÓN

Este grupo de trabajo utilizó la clasificación estándar del *International Committee on the Taxonomy of Viruses* (ICTV) que le condujo a una interpretación oficial de grupos filogenéticos como tipos de VP, “géneros” y “especies” respectivamente. Taxonómicamente se denominan géneros Alfa, Beta, Gamma, Delta, Épsilon, que corresponden a genotipos humanos del VPH (Figura 7).

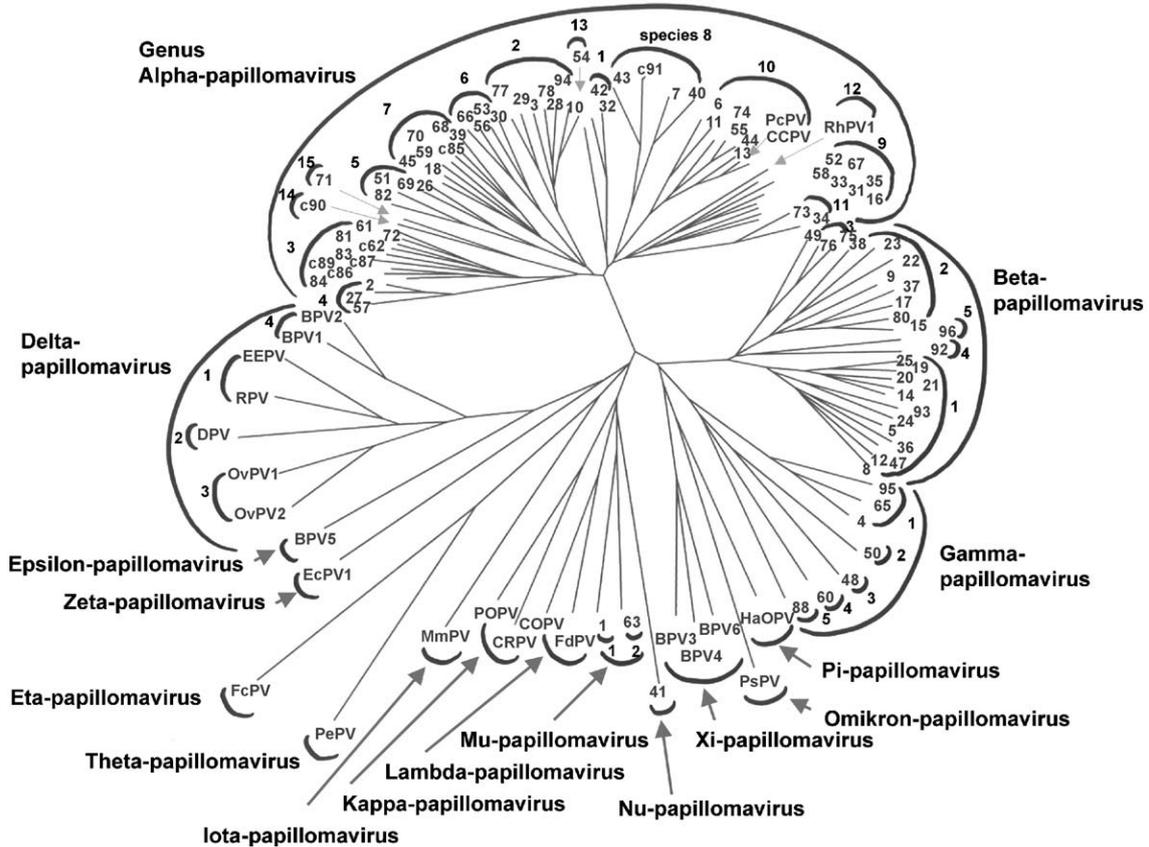


Figura 7. Clasificación taxonómica de los papilomavirus²¹.

Esta clasificación se establece comparando la extensa secuencia de los virus usando L1 y ORF de 96 tipos de papiloma virus humanos, y 22 papilomavirus animales, estableciendo la clasificación con los siguientes criterios:

- El grupo principal de tipos de VPH (por ejemplo los genitales), que previamente fueron denominados “supergrupos”. Para esta taxonomía se introduce el término “género”. La diferencia reside en que comparten menos del 60% de la secuencia identificada en L1 y ORF. Taxonómicamente se denominan: alfa, beta, gamma, delta, épsilon, que corresponden a genotipos humanos del virus del papiloma.

INTRODUCCIÓN

- Los grupos de orden menor de VPH (por ejemplo VPH 6, 11, 44, 55), llamados “grupos”, “subgrupos” o “agrupaciones menores”. En la nueva clasificación se denominan “especies”. Así cada especie dentro del género comparten entre 60% y 70% de identidad de nucleótidos.
- Los tradicionalmente denominados tipos de VPH están dentro de las especies que comparten entre 71% y 89% de identidad de nucleótidos.

Los tipos de papilomavirus, tanto humanos como animales, que se conocen hasta el momento, forman 16 géneros distintos, 5 de ellos están compuestos exclusivamente por VPH y papilomavirus identificados en monos, y los otros géneros contienen tipos encontrados en varios mamíferos.

El género clínicamente más importante es el conocido como Alfa-papilomavirus, el cual contiene todos los VPH asociados con lesiones mucosas y genitales que emergen de grupos originalmente llamados VPH “genitales” o “mucosos”. Los Beta-papilomavirus incluyen todos los tipos de VPH asociados con epidermoplastia verruciforme cutánea.

Filogenéticamente existe un nivel por debajo del género y por encima del tipo de VPH que es la **especie**. El término no es usado por los investigadores. Todos los VPHs del género Alfa-papilomavirus forman 15 especies.

Un ejemplo de especie es el número 9 que se agrupa con los tipos VPH 16, 31, 33, 35, 52, 58 y 67; de todos ellos el más estudiado es el 31 que comparte similitud biológica y propiedades clínicas con el VPH 16. En la especie 7 se ubica el VPH 18.

La clasificación epidemiológica realizada por Muñoz²⁵ en el año 2003 está basada en un trabajo sobre once estudios en el que participan 9 países, donde se analiza la prevalencia del VPH mediante la presencia de ADN viral por reacción en cadena de polimerasa (PCR) y comparando los genotipos entre casos-controles y pacientes. El resultado fue la identificación de 15 genotipos de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 82 y 73). Hay 3 genotipos (26, 53 y 66) que son considerados como probables alto riesgo. Doce genotipos (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 y CP6108) son considerados como bajo riesgo y 3 genotipos (34, 57 y 83) se asocian a riesgo indeterminado.

INTRODUCCIÓN

Cuando se compara con el grupo filogenético se observa una discrepancia entre dos genotipos de VPH: el VPH 70, clasificado filogenéticamente como alto riesgo, pero calificado en la clasificación epidemiológica como bajo riesgo; y el genotipo VPH 73, el cual fue clasificado como un bajo riesgo filogenéticamente pero genotipo de alto riesgo epidemiológicamente.

Esta clasificación epidemiológica tiene una importante implicación para la puesta en marcha de estrategias de cribado, mediante detección de ADN de VPH sobre todo para los genotipos de alto riesgo.

**Tabla 2. Clasificación epidemiológica de los papilomavirus²⁵
(en función de su riesgo de transformación neoplásica).**

Clasificación filogenética	Clasificación epidemiológica	
	Alto riesgo	Bajo riesgo
Alto riesgo	16,18, 31,33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 82, 26*, 53*, 66*	70
Bajo riesgo	73	6,11,40,42,43,44, 54,61,72,81, CP6108

*Probable Alto riesgo.

Otra clasificación es en función de su tropismo. Según el mismo se clasifican en cutáneos y mucosos. Los primeros se detectan en lesiones como verrugas cutáneas, en enfermos con epidermoplastia verruciforme y en algunos cánceres de piel no melanoma. En relación con su potencial oncogénico, los mucosos se clasifican de alto (VPH-AR) y de bajo riesgo (VPH-BR).

INTRODUCCIÓN

Datos procedentes de 11 estudios de casos y controles realizados en diferentes países han identificado genotipos virales de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73 y 82); y de bajo riesgo (6, 11, 26, 40, 42, 43, 44, 54, 55, 57, 61, 70, 72, 81 y 84)^{26, 27}. El 6 y 11 son responsables de verrugas genitales o condilomas acuminados. De los VPH-AR los más comunes son el 16, detectable en el 60% de todos los cánceres, siendo también el más persistente. De otro 10% son responsables el 18, 31 y 45, éste último principalmente responsable de los carcinomas invasivos de presentación temprana, sobre todo en mujeres jóvenes, y otros presentes en lesiones invasivas como son el 33, 35, 52 y 58²⁰.

2.4. Prevalencia de la infección por VPH

La infección por el VPH constituye una de las infecciones de transmisión sexual más frecuentes. Aunque resulta complicado establecer el volumen de mujeres portadoras de infecciones ocultas por VPH, se estima que en mujeres asintomáticas de la población general, la prevalencia de infección por VPH es muy variable y oscila entre un 2% y un 44%²⁸.

Su prevalencia es muy elevada en varones y en mujeres jóvenes sexualmente activos. En la segunda década de la vida se estima una prevalencia del 20-25%, pero en algunos grupos de adolescentes o de mujeres jóvenes la infección llega a afectar hasta un 70% de individuos²⁹. En la tercera década la prevalencia disminuye, y a partir de los 35 años se mantiene estable en unos valores próximos al 5%³⁰.

En general, la infección tiende a disminuir con la edad, sin embargo, se ha observado sobre todo en América Latina un pico en cuanto a la adquisición de la infección por VPH en torno a los 55 años, alrededor de la menopausia, probablemente debido al cambio en los hábitos sexuales en estas mujeres (separaciones, nuevos compañeros sexuales, infecciones latentes que se reactivan por una pérdida gradual de la inmunidad o infecciones nuevas que ocurren en el periodo perimenopáusico, etc.).

La mayoría de las infecciones ocurren al inicio de la actividad sexual y son transitorias resolviéndose espontáneamente. En un 10-20% de las mujeres la infección se vuelve crónica y estas infecciones son las que más tarde tienen un alto riesgo de evolucionar hacia CCU.

INTRODUCCIÓN

La detección de los tipos de VPH mediante técnicas de PCR presenta una gran variabilidad en la población general, según la edad y la situación geográfica, tal y como se ha puesto de manifiesto en un análisis combinado llevado a cabo por la IARC³¹, y en un meta-análisis de diferentes estudios publicados³².

Un meta-análisis reciente con datos obtenidos a partir de los publicados en 78 estudios diferentes, ha estimado la prevalencia del VPH en mujeres con resultados normales en la citología de Papanicolaou. Dicha prevalencia total ajustada se estima en un 10.41%, con una variabilidad regional considerable que varía desde un 8.08% en Europa hasta un 22.12% en África. Se calcula que alrededor de 105 millones de estas infecciones se deben a los tipos 16 o 18.

El análisis combinado de la IARC³¹ utilizó el mismo método de PCR para evaluar muestras recogidas sistemáticamente en todo el mundo y sus resultados corroboran, en general, estas observaciones.

En otro meta-análisis se ponen de manifiesto resultados en los que la prevalencia es máxima en mujeres jóvenes y disminuye en los grupos de mediana edad³³.

Un estudio de prevalencia de infección por VPH en mujeres con resultados citológicos normales, realizado en 5 continentes³⁴, destaca una prevalencia global estimada del 11.7%.

Se estima que el 70% de casos de CCU en todo el mundo se asocian a los tipos 16 y 18. La prevalencia relativa del VPH 18 es más importante en el adenocarcinoma que en el carcinoma escamoso de cérvix³⁵.

En el estudio CLEOPATRE³⁶, diseñado para medir la prevalencia de la infección por VPH, con una muestra de 3.200 mujeres españolas entre 18 y 65 años, se obtuvo una prevalencia global en este grupo de edad del 14%. Si se calcula este porcentaje para el grupo de edad entre 19 y 25 años el valor aumenta a un 25-30%.

En Málaga, la prevalencia del VPH en mujeres climatéricas de más de 50 años con citología normal es del 11.43%³⁷⁻³⁹. El genotipo más frecuente fue el VPH 16 seguido del VPH 58, 51 y 18. Este pico de infección en mujeres alrededor de la menopausia puede ser debido a una reactivación de infecciones latentes, causadas por

INTRODUCCIÓN

una pérdida gradual de la inmunidad o por infecciones nuevas que ocurren en el período perimenopáusico.

La Figura 8 muestra la distribución de los tipos de VPH en mujeres con citología normal, LSIL, HSIL y CCU en España, según el estudio publicado por el ICO *HPV Information Centre*⁴⁰ en Marzo de 2015.

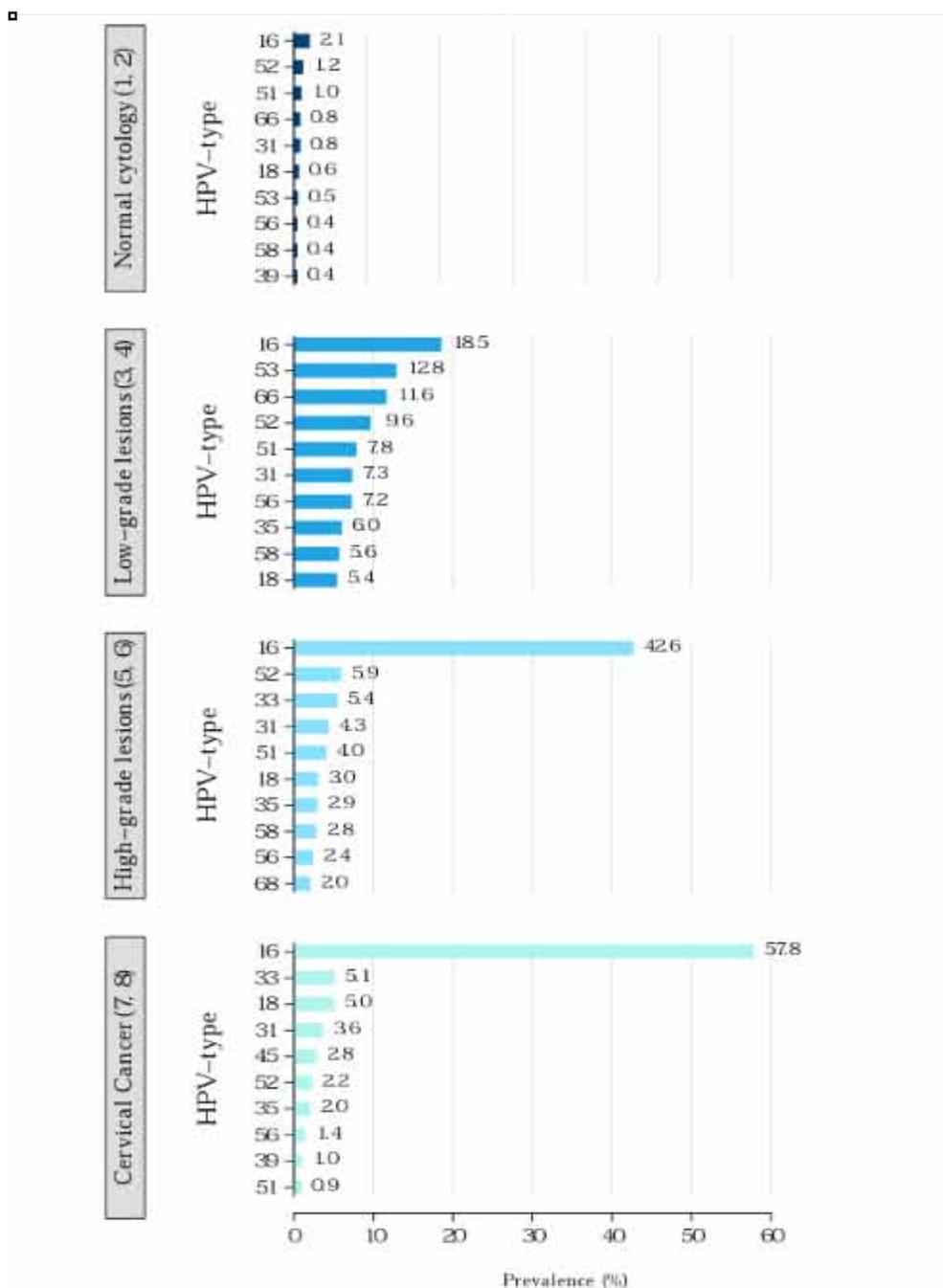


Figura 8. Distribución de los tipos de VPH en mujeres con citología normal, LSIL, HSIL y cáncer de cérvix en España. Datos actualizados al 12 Diciembre 2014.

High-grade lesions: CIN-2, CIN-3, CIS o HSIL; Low-grade lesions: LSIL o CIN-1.

2.5. Transmisión de la infección por VPH

La infección por VPH se transmite fundamentalmente de persona a persona por contacto sexual, a través de erosiones mínimas de la piel y mucosas. El cuello uterino es especialmente vulnerable al contagio por la presencia en la unión escamoso-cilíndrica de células epiteliales metaplásicas las cuales son fácilmente accesibles por los virus (zona de transformación, ZT). La transmisión de dicha infección aumenta conforme lo hacen el número de parejas sexuales, sobre todo parejas recientes, ya que, en general, se trata de una infección transitoria.

Aunque las vías de transmisión genital del VPH distintas al coito son posibles, son menos comunes. En las mujeres con relaciones homosexuales⁴¹ se han presentado infecciones del área anogenital y una extensión a partir de ésta, por autoinoculación, a otra localización del epitelio del tracto genital, como el cuello uterino. Es probable que sea el contacto sexual el que explique las vías de exposición a una infección por el VPH por contacto y entrada a la zona de transformación⁴².

Por tanto, a pesar de que la infección oral y digital de tipos del VPH genitales es un hecho establecido, el riesgo de transmisión por contacto digital- genital u oral-genital parece ser mínimo y la diseminación genital y oral estará asociada al comportamiento sexual del individuo y de la colectividad. Así, la infección por VPH se transmite por vía genital-genital, oro-genital no siendo necesaria la penetración para la transmisión del virus.

De modo similar, la infección por el VPH mediante transmisión perinatal o en niños también ocurre, ya que se ha detectado ADN del VPH y anticuerpos séricos en bebés y niños. Los datos disponibles sugieren que se trata de casos poco frecuentes y con pocas probabilidades de desencadenar una infección persistente (la transmisión sería ascendente y vertical)³³.

Por otra parte, la transmisión por fómites no está demostrada aunque en teoría podría ser posible si se tienen en cuenta los hallazgos de ADN de VPH en instrumental ginecológico y en prendas íntimas.

2.6. Mecanismo de infección y regulación del ciclo celular

El proceso oncogénico, por razones desconocidas, se suele iniciar en las áreas denominadas “zonas de transformación” (ZT) que corresponden a la zona de transición del epitelio escamoso del exocérnix a epitelio glandular endocervical. La situación anatómica de la ZT es dinámica respecto a la posición que ocupa en el canal endocervical, varía según la edad. Las ZT son áreas de epitelio glandular, expuestas a la región exocervical que es de epitelio escamoso y no es el medio habitual. Así, un tipo de epitelio entra en contacto con otro y lo sustituye progresivamente, realizando esta adaptación mediante un proceso de transformación denominado metaplasia. El cuello uterino, el ano y las amígdalas son ejemplos de ZT susceptibles de carcinogénesis.

Por su parte, el VPH como ya hemos mencionado anteriormente, se introduce en el epitelio a través de varios mecanismos: micro-trauma durante la relación sexual o mediante contacto directo con piel u objetos infectados. Durante el embarazo y en el período perinatal es posible el paso del VPH de forma ascendente y vertical.

El VPH infecta a células del estrato basal, algunos virus tienen un estado latente, donde hay poca replicación viral, manteniendo el genoma en estado silente o con poca expresión génica. Posteriormente, aprovechan la maduración del epitelio y el virus se replica de manera masiva (de 50 a 100 copias)⁴³.

El ciclo vital de los VPH se encuentra estrechamente ligado al programa de diferenciación de su célula huésped. El epitelio escamoso está formado por 20 o 30 capas de células, de las cuales solamente la capa basal más interna se divide de forma activa.

Los VPHs al igual que otros virus, aprovechan la dinámica celular para replicarse, y en el cérvix se benefician de la maduración del epitelio metaplásico para poder expresar sus genes de forma secuencial. En primer lugar en las capas basales se expresan los genes tempranos (de E1 a E7) y después en las capas superficiales más diferenciadas se expresan sus proteínas tardías (L1 y L2) las cuales forman la cápside y permiten el ensamblaje de nuevas partículas virales que se liberan y así repiten el ciclo infeccioso. En las capas intermedias, tanto células como virus se replican en tándem, sin haber amplificación de las copias del virus y con poca expresión de los genes anteriores.

INTRODUCCIÓN

Tras la infección, el virus se establece en las células basales, en forma de episomas (DNA no integrado), con algunas decenas de copias de genoma viral por célula que se replican coordinadamente con la replicación celular. Cuando las células emigran hacia estratos superiores y se diferencian, la replicación celular cesa, pero en algunas formas de infección, el genoma viral se amplifica en las células escamosas superficiales hasta llegar a varios miles de copias por célula (hasta mil copias de genoma viral por célula). Al llegar a estos estratos altos, y sólo en ellos, se activan los genes estructurales tardíos (L1 y L2) así como el gen de la proteína E4 dando lugar al ensamblaje de la cápside del virus y en consecuencia la aparición de viriones completos (Figura 9)⁴⁴.

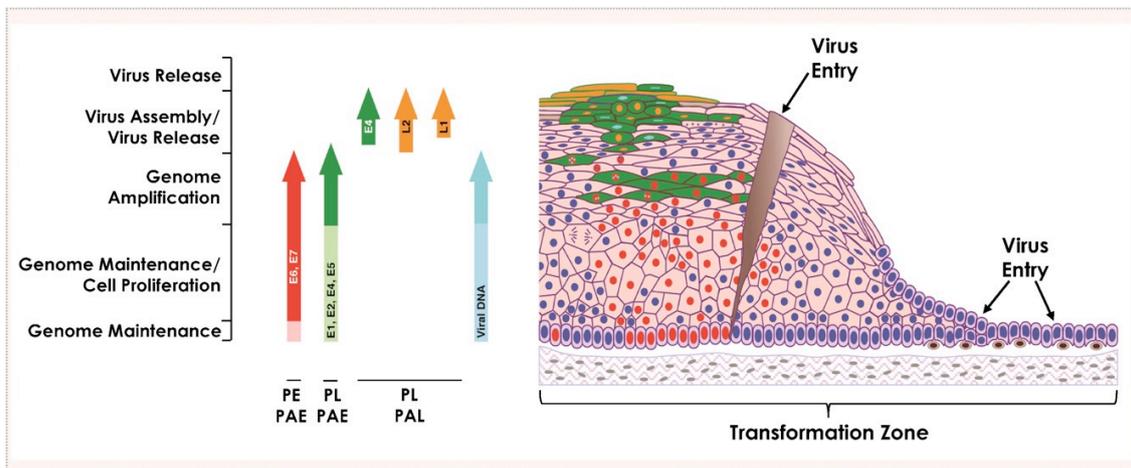


Figura 9. Ciclo vital de los VPH-AR en el epitelio cervical⁴⁴.

Las células superficiales en las que se acumulan numerosos viriones completos muestran características morfológicas peculiares y reciben el nombre de coilocitos.

Como hemos mencionado, se admite que el virus puede permanecer latente en las células basales del epitelio⁴⁵. El virus infecta la célula, produciendo lesiones en un período de tiempo que puede durar de semanas a meses, induciendo una replicación viral sin viremia detectable, ya que las células dianas finales son los queratinocitos diferenciados⁴⁶. Estas células están destinadas a descamarse en el estrato superficial del epitelio donde no se producen señales de peligro obvias que alerten al sistema inmune, por lo que las lesiones no van acompañadas de inflamación.

Tras la infección, se pueden detectar anticuerpos circulantes contra la proteína viral de la cápside L1, con tendencia decreciente en las 2-3 semanas siguientes,

INTRODUCCIÓN

manteniéndose niveles bajos de anticuerpos estables y detectables a lo largo del tiempo. La seroconversión confiere inmunidad tipo-específica frente a futuras infecciones, habiéndose descrito cierto grado de inmunidad cruzada entre distintos genotipos virales⁴⁷.

En el tracto genital inferior (TGI), el VPH se transmite por contacto piel con piel, o mucosa con mucosa, teniendo ciertos genotipos especial tropismo tanto en mujeres como en hombres. Ello da lugar a infecciones subclínicas de la piel en la región genital, las cuales pueden ser detectadas por técnicas que identifiquen la presencia/ausencia de ADN del virus.

Una pequeña proporción de estas infecciones pueden manifestarse como enfermedad benigna o maligna. En el TGI femenino, puede causar condilomas acuminados, lesiones precancerosas o lesiones cancerosas. El VPH se implica también en la etiología del cáncer anal, vulvar, vaginal, y carcinomas de cabeza y cuello. De hecho, como se ha expresado en apartados anteriores, de los más de 100 genotipos de VPH asociado a infecciones, aproximadamente 40 se asocian a infecciones del TGI femenino^{21, 48}.

La inmunidad celular contra la infección viral es crítica en el control y aclaramiento del VPH y por tanto, en el desarrollo, persistencia y/o progresión de las lesiones displásicas⁴⁹. Las células de Langerhans son las encargadas de presentar los antígenos virales a los queratinocitos, produciéndose una respuesta inmune contra la infección⁵⁰. Este aspecto se amplía a continuación en el apartado “Inmunidad de la infección VPH: interacción virus-huésped”.

2.6.1. Cofactores de adquisición del VPH

El riesgo de infectarse por el VPH está relacionado con el comportamiento sexual: edad del primer coito, número de compañeros sexuales y relaciones sexuales con compañeros que tienen o han tenido múltiples parejas sexuales.

- **EDAD DEL PRIMER COITO:** las características histológicas de la ZT escamoso-cilíndrica en el exocérvix de las mujeres jóvenes, pueden explicar el mayor riesgo de infección entre las mujeres que inician tempranamente la actividad sexual⁵¹.

INTRODUCCIÓN

La inmadurez cervical, las deficiencias de flujo cervical protector y la ectopia cervical aumentada pueden conducir a una mayor susceptibilidad para la adquisición de una infección por el VPH en mujeres adolescentes y adultas jóvenes.

- **NÚMERO DE COMPAÑEROS SEXUALES:** la asociación entre el número de parejas sexuales y la probabilidad de detectar ADN del VPH en el TGI es consistente. El tiempo que transcurre entre una pareja y otra, es otro factor influyente, ya que existe más riesgo de infección si el intervalo de tiempo entre una pareja y otra es corto⁵².
- **OTRAS INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL** como Chlamydias, herpes, VIH actúan como cofactores en el desarrollo de lesiones preneoplásicas y CCU. El VIH se asocia tanto a la prevalencia, como a la progresión de infecciones por VPH a lesiones neoplásicas del TGI y del canal anal. Las pacientes portadoras de VIH tienen más riesgo de infección por el VPH (RR: 17) y 9 veces más riesgo de desarrollar CCU. Todo ello se debe a las modificaciones que se producen en la inmunidad general y local de estas pacientes.
- La **CIRCUNCISIÓN MASCULINA** actúa como factor protector frente a la infección. Se asocia con un menor riesgo de infección por VPH y así como menor riesgo de transmisión y progresión a CCU en sus compañeras sexuales⁵³.
- El uso del **PRESERVATIVO** durante el contacto sexual es una barrera que disminuye la posibilidad de contagio, pero no se previene por completo la transmisión del VPH⁵⁴.
- **CONTACTO SEXUAL CON INDIVIDUOS DE RIESGO:** prostitutas, parejas que tienen a su vez múltiples compañeras/os sexuales.

2.7. Inmunidad de la infección por VPH: interacción virus-huésped

En la mayoría de las ocasiones, las partículas virales de la superficie del epitelio cervical o del TGI que, como se conoce, proceden del contacto sexual con una pareja infectada, son eliminadas de forma mecánica arrastradas durante la descamación propia del epitelio estratificado, o bien por los agentes de la inmunidad inespecífica como los macrófagos. En ambos casos, dichas partículas virales pasan desapercibidas a los agentes de la vigilancia inmune específica y no provocan efecto citopático ni respuesta inmunológica alguna.

El VPH, por ser un patógeno intracelular estricto, requiere internalizarse en la célula huésped para que se considere una infección verdadera.

La interrelación entre VPH y huésped es compleja y variada. En el caso del VPH no se ha encontrado un receptor celular específico que permita atajar la infección por bloqueo del mismo. Además, diferentes estudios han demostrado que la molécula de superficie que sirve de unión a los VPH está muy conservada y parece tener otra serie de funciones celulares vitales que hace imposible su utilización como diana para el bloqueo de la infección. Al contrario de lo que ocurre en otras especies virales, no parece que los receptores de superficie estén implicados en la especificidad de tejido y especie ni en el tropismo de los VPH.

Tanto el reconocimiento de la infección viral por la célula huésped como el tropismo específico de cada subtipo viral van a determinar los efectos citopáticos en los tejidos específicos.

2.7.1. Inmunidad celular e inmunidad humoral

La inmunidad celular está representada principalmente por los linfocitos T que actúan a nivel del tejido local mediante íntimo contacto célula a célula. La respuesta humoral, por el contrario, viene mediada por las células B bajo la inducción de las células T *helper*. Los productos biológicamente activos de las células B son los anticuerpos (Ac), quienes serán los efectores de la respuesta inmune. Tanto las células T como los Ac tienen en común su actividad frente a los focos donde un antígeno extraño está presente, las diferencias radican en que, mientras las células T reconocen ese

INTRODUCCIÓN

antígeno asociado a moléculas de la superficie celular, HLA (*human leukocyte antigen*), los Ac lo hacen tanto frente a antígenos presentados en superficie como frente a antígenos en forma soluble, en este último caso con mayor especificidad. A nivel molecular, los receptores de las células T, TCR (*T-Cell Receptor*) reconocen secuencias específicas de pequeños péptidos asociados o presentados por el propio complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), mientras que los Ac no reconocen secuencias peptídicas sino estructuras estéricas, tridimensionales, con una conformación determinada⁵⁵.

En términos generales, tras la primera infección de las células del epitelio cervical por VPH se desencadenan una serie de respuestas inespecíficas acompañadas de procesos inflamatorios, quimio-atracción de neutrófilos, activación de macrófagos, intervención de células *natural killer* (NK), de anticuerpos naturales, e incluso del sistema del complemento, que formarán una primera barrera defensiva de inmunidad inespecífica. La prolongación de la respuesta en el tiempo y la protección frente a futuras infecciones requiere mecanismos de inmunidad adaptativa o específica.

En el epitelio cervical existen células específicas con capacidad de actuar como presentadoras de antígenos, son las células dendríticas de Langerhans, aunque algunos queratinocitos también desarrollan esta capacidad. Estas células fagocitan las partículas virales para digerirlas en endosomas y comenzar un proceso de activación que incluye la presentación en superficie de cadenas polipeptídicas del antígeno junto con HLA de clase II, CD40 y B7, así como la migración a los ganglios linfáticos locales.

Estas células activadas serán reconocidas por linfocitos T CD4+, que serán activados, únicamente, si existe reconocimiento de todas y cada una de las moléculas de superficie implicadas: HLA de clase II a través del propio CD4, el polipéptido viral mediante el TCR, CD40 a través de CD40-ligando y B7 mediante CD28.

Los linfocitos T CD4+ activados, evolucionarán hacia linfocitos *helper* (Th) en el contexto local de expresión de ciertas interleuquinas (IL), de modo que, si predomina la de tipo IL-12, se promoverá la diferenciación hacia una vía Th1 que inducirá la activación y proliferación de los linfocitos T CD8+ citotóxicos específicos (CTL+8) y la producción de IL-2 e Interferón- γ fundamentalmente; por el contrario si en el contexto local no se expresa IL-12, se promoverá la vía Th2 que inducirá la activación y expansión de linfocitos B, los cuales evolucionarán, diferenciándose, hacia células

INTRODUCCIÓN

plasmáticas productoras de Ac frente a las proteínas virales; por otra parte, se inducirá expresión de interleuquinas del tipo IL4, IL5, IL6, IL10...

Una vez activados, los linfocitos T citotóxicos deberán reconocer a las células infectadas, esta vez en el contexto del HLA de clase I, de lo contrario no se producirá el proceso de expansión clonal necesario para la elaboración de una respuesta inmunológica eficaz.

Los CTL+8 tendrán la capacidad de actuar frente a la infección viral establecida mientras que las células B plasmáticas producirán anticuerpos que actuarán frente a los antígenos virales de origen externo que sean expuestos durante ésta y las sucesivas infecciones por VPH^{56,57}.

La infección y el crecimiento viral vegetativo son completamente dependientes del ciclo de diferenciación del queratinocito. Evidencias clínicas han demostrado que la expresión génica viral está confinada al queratinocito o a células con potencial para la maduración escamosa. El tiempo para desarrollar una infección por el virus suele ser de tres semanas, tiempo requerido para que los queratinocitos basales completen la diferenciación y descamación. El periodo entre infección y aparición de lesiones es altamente variable y puede desarrollarse desde semanas a meses. En estas infecciones no suele producirse muerte citopática o citolisis como consecuencia de la replicación viral, ensamblaje o liberación de partículas virales porque los queratinocitos son células destinadas a morir y descamarse lejos de los lugares de vigilancia inmune. Los queratinocitos cargados de virus tienden a morir por “causas naturales”, por ello estas infecciones no se acompañan de inflamación y no hay señales obvias de daño celular o alerta del sistema inmune por la presencia del virus^{58,59}.

2.8. Historia natural de la infección por VPH

La historia natural de una enfermedad puede definirse como el curso clínico de la misma cuando no sufre alteraciones por intervenciones terapéuticas. Al igual que la mayor parte de los virus, las infecciones por VPH pueden manifestarse de tres maneras: clínica, subclínica y latente.

- La manifestación **clínica** habitual de la infección son las verrugas genitales y los condilomas acuminados. El estudio histológico muestra acantosis, elongación de las papilas dérmicas y coilocitos (células vacuoladas con núcleos densos y

INTRODUCCIÓN

arrugados y con cuerpos de inclusión basófilos compuestos por partículas virales e inclusiones eosinofílicas de queratina anormal en las capas superficiales de la epidermis).

- La infección **subclínica** por VPH es de gran importancia, ya que al no ser aparentes las lesiones, se facilita el contagio. Al no observarse a simple vista las lesiones, es necesario la realización de un estudio colposcópico del cérvix, pene, vagina, vulva o ano tras la aplicación de ácido acético para objetivarlas. Pueden ser diagnosticadas citológicamente mediante frotis cérvicovaginales o en biopsia.
- La infección **latente**, sin evidencia clínica ni histológica, sólo es posible detectarla con técnicas moleculares (métodos de determinación de ADN viral...). Se desconoce el tiempo y las condiciones para que una infección latente evolucione a clínica o subclínica, pero parece que ser que la inmunidad juega un papel fundamental.

La duración exacta de la infección es difícil de determinar ya que puede variar si es de adquisición reciente (infección incidente) o bien si no se conoce el momento de la adquisición (infección prevalente), añadiendo además posibles reinfecciones (Figura 10)⁴⁴. La duración de la infección es mayor en los VPH-AR que en los VPH-BR⁶⁰.

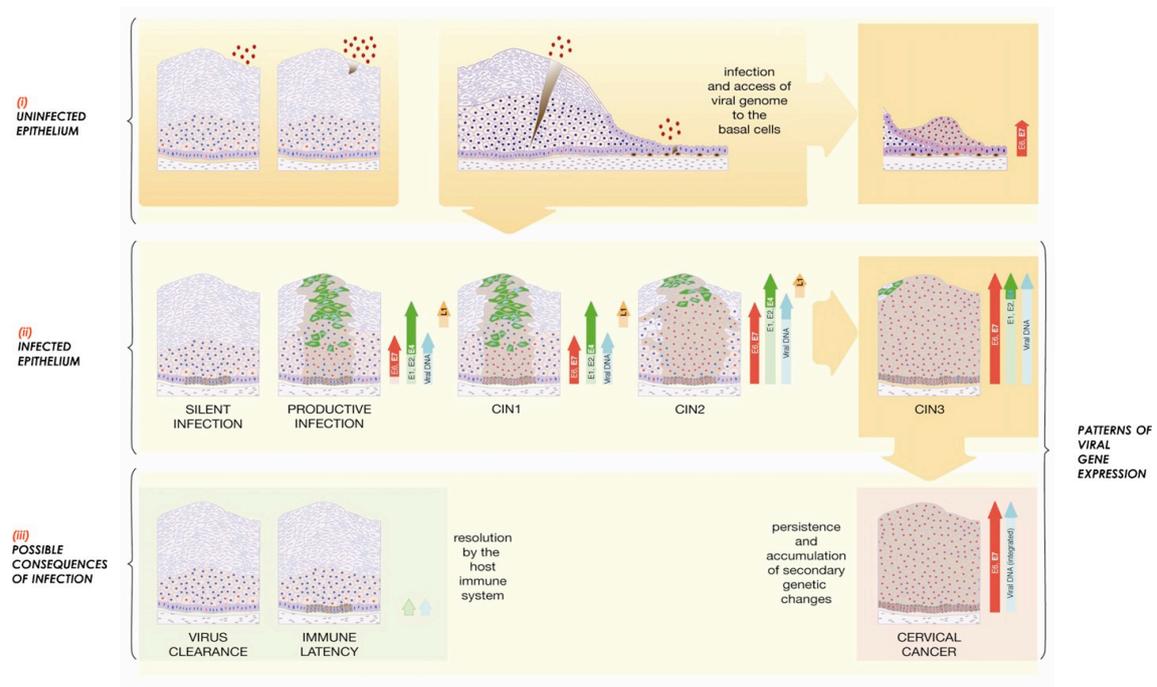


Figura 10. Historia natural de la infección VPH-AR⁴⁴.

INTRODUCCIÓN

La duración media de la infección por el VPH varía según los distintos estudios entre 6-12 meses⁶¹ y 2 años⁶².

El tiempo medio hasta la regresión de dicha infección oscila desde 4-6 meses hasta 1-2 años en distintos estudios, dependiendo de las estrategias de seguimiento y de las definiciones empleadas. No obstante, la mayor parte de infecciones por VPH son transitorias y en 1-2 años son indetectables incluso mediante técnicas de detección de ADN viral como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Probablemente estas infecciones son resueltas mediante la inmunidad celular del huésped.

La persistencia se puede definir de modo general, como la detección del mismo tipo del VPH en dos o más ocasiones dándose un intervalo de tiempo determinado entre las exploraciones que oscila entre 1 y 2 años. La persistencia de la infección es mucho menos frecuente que su aclaramiento. En términos generales, menos de la mitad de las mujeres infectadas por VPH con citología normal, tienen una persistencia de la infección durante más de seis meses y sólo el 7% después de 5 años^{61, 63}. El factor de riesgo más significativo para predecir la persistencia de la infección es la presencia del ADN del VPH en las células del epitelio cérvico-vaginal⁴⁶.

Numerosos estudios epidemiológicos y moleculares han evidenciado que la persistencia de la infección por tipos de VPH-AR es imprescindible para el desarrollo de HSIL y cáncer invasivo^{64, 65}.

La transformación tumoral requiere la evasión de la respuesta inmune, lo que conduce a la persistencia de la infección. Si el sistema inmune es incapaz de resolver la infección en un plazo de tiempo corto o medio, generalmente menor de dos años, aumenta las posibilidades de que exista un daño celular continuado y como consecuencia un proceso de susceptibilidad a la neoplasia. La persistencia de la infección por encima de este plazo constituye un factor de riesgo demostrado y necesario para dicha transformación tumoral de la célula^{45, 66}.

La persistencia de infección cervical por un VPH oncogénico durante un año multiplica por 3 el riesgo relativo de desarrollar una HSIL.

Cuando se detecta una reaparición del mismo genotipo VPH, no está claro si se trata de infecciones nuevas o de una reactivación de un estado latente mal definido⁴⁴.

INTRODUCCIÓN

A modo de resumen, el curso habitual de la infección por el VPH tiende hacia la curación espontánea. En los casos en los que la infección inicial no se resuelve y se hace persistente puede iniciarse un proceso de oncogénesis que puede inducir lesiones escamosas intraepiteliales (CIN) de varios grados (CIN1, CIN2, CIN3/carcinoma “in situ” (CIS)), muchas de ellas reversibles, y a más largo plazo la aparición del CCU invasor (Figura 10)⁴⁴.

Las fases preinvasivas del carcinoma escamoso se clasifican en dos o tres grados según el sistema de clasificación citológico o biopsico. Richart fue uno de los primeros en afirmar en la década de los sesenta que el CCU era consecuencia de la evolución de lesiones premalignas no invasoras a las que denominó neoplasias cervicales intraepiteliales (CIN). Este modelo morfológico de carcinogénesis progresiva por etapas desde normal a CIN 1, progresando a CIN 2, luego a CIN 3 y por último a carcinoma invasor, fue adoptado por la comunidad científica desde los estudios realizados por este autor. El modelo morfológico de carcinogénesis progresiva ha dado paso a un nuevo modelo con un papel fundamental por parte del VPH en cuatro estadios: infección por VPH, persistencia versus resolución de la infección por VPH, progresión a precáncer y finalmente invasión (Figura 11)⁶⁷.

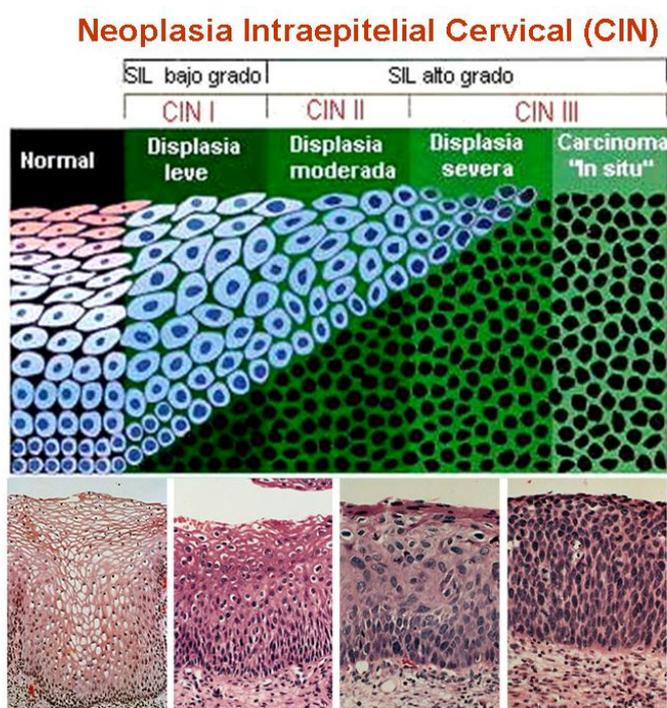


Figura 11. Esquemas de expresión morfológica de CIN y CCU (Adaptado de Baldwin P)⁶⁷.

INTRODUCCIÓN

El CCU invasivo aparece cuando una lesión intraepitelial o un adenocarcinoma in situ invade la membrana basal del epitelio y las células tumorales colonizan el estroma subyacente. En la clasificación por estadios de la FIGO se incluye el concepto de carcinoma microinvasor (estadio Ia-1, Ia-2) basándose en el hecho de que sería posible un tratamiento individualizado y más conservador del mismo. Se define como microinvasión la existencia de una infiltración del estroma igual o menor de 5 mm en profundidad e igual o menor de 7 mm en superficie. La infiltración de los espacios vasculares y/o linfáticos no modifica la estadificación, aunque se ha referido que puede empeorar el pronóstico de la enfermedad.

El riesgo de desarrollar un CCU invasor se eleva conforme aumenta la severidad de la CIN. Los análisis virológicos parecen evidenciar que el aclaramiento de la infección por el VPH precede a la remisión de los cambios citológicos. La tasa de aclaramiento disminuye con la mayor gravedad de la lesión intraepitelial.

Al año, la tasa acumulada de aclaramiento de la infección por VPH-AR en las mujeres con CIN 1 fue del 29%, lo que permitió predecir la regresión de los cambios morfológicos a la normalidad en la citología convencional⁶⁸. Todas las que aclararon la infección por el VPH-AR lo hicieron a los 40 meses de seguimiento. Estos datos indican que podría evitarse el sobretratamiento de las pacientes con citología de LSIL mediante un período de seguimiento que permita el aclaramiento de la infección por el VPH-AR y la remisión de la lesión.

Se sabe pues que el CCU escamoso puede ser detectado en fases precoces debido a que evoluciona lentamente desde unos estadios preinvasivos que pueden ser distinguidos morfológicamente mediante estudios citológicos y/o biopsicos.

Es importante destacar que las tasas de regresión de las lesiones CIN son muy elevadas; así, el 80% de las mujeres en estadios iniciales (LSIL, CIN1) durante el primer año y hasta el 90% de forma acumulada al final del segundo año, consiguen eliminar la infección y normalizar el epitelio cervical. Sólo el 20% de las lesiones CIN2/3 y CIS regresan a la normalidad.

Un 25% de las mujeres con infecciones transitorias por VPH muestran cambios citopáticos propios de las lesiones intraepiteliales de bajo grado (LSIL, cambios por VPH, CIN 1) detectables en la citología⁶⁹.

INTRODUCCIÓN

Se ha observado que la CIN 1 remite con particular frecuencia, en especial en adolescentes y mujeres jóvenes, en las que a los 12 meses han remitido el 61% de las lesiones y a los 36 meses la remisión es del 91%⁷⁰. La probabilidad de remisión es menor en edades más avanzadas⁷¹.

En una revisión de la literatura médica sobre la historia natural de la CIN se muestra que las lesiones de CIN 1 remiten espontáneamente en el 60% de los casos, persisten en el 30%, progresan a CIN 3 en el 10%, y a invasión en el 1%⁷².

En definitiva, el curso habitual de la infección tiende hacia la curación espontánea y lo habitual es que el virus se elimine en 1 ó 2 años. Así, será la persistencia de la infección, por un VPH-AR, junto a otros cofactores, lo que dará lugar a la formación de lesiones precancerosas (CIN 2-3) y finalmente el CCU invasor. Sin embargo, un 75% de lesiones de bajo grado en adultos y un 90% en jóvenes se resuelven sin tratamiento (Figura 12)⁷³.

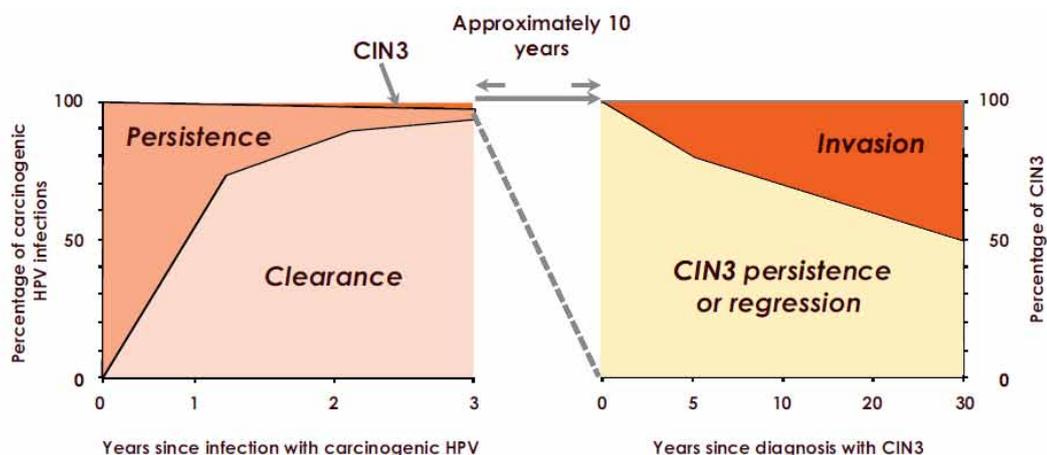


Figura 12. Historia natural infección VPH⁷³.

Por tanto, ya que la infección por el VPH-AR se considera una causa necesaria, pero no suficiente del CCU y por su parte la infección por VPH es muy frecuente en la población donde la mayoría la aclaran y no progresan a CCU, son necesarios otros cofactores que intervengan en el proceso de carcinogénesis cervical y que modulen el riesgo de progresión de dicha infección por VPH-AR a CCU⁵².

Las características de la actividad sexual se vinculan con la probabilidad de contraer la infección por el VPH, pero no se consideran relacionadas con la progresión a CCU.

2.8.1. Cofactores de progresión del VPH

Los **COFACTORES DE PROGRESIÓN**, favorecedores de la persistencia de la infección por el VPH se clasifican en medioambientales, virales y del huésped (Tabla 3).

Tabla 3. Cofactores de persistencia y progresión (carcinogénesis).

EXÓGENOS O MEDIOAMBIENTALES	VIRALES	HUÉSPED
Hábito tabáquico	Genotipo	Inmunosupresión
Anticonceptivos hormonales	Variantes del VPH	Hormonas endógenas
Alta paridad	Carga viral	Factores genéticos
Otras ITS	Integridad viral	
Factores nutricionales	Coinfección	

- **COFACTORES MEDIOAMBIENTALES O EXÓGENOS:**
 - **HÁBITO TABÁQUICO:** en mujeres infectadas por el VPH, el tabaco es el cofactor más importante de progresión, con un aumento del riesgo de 2-4 veces de padecer lesiones precancerosas y CCU⁷⁴⁻⁷⁷, frente a las no fumadoras. Este aumento de riesgo se ha identificado también en las fumadoras pasivas⁷⁸. Este hecho puede deberse al aumento de sustancias carcinogénicas derivadas de la nicotina en el moco cervical que se ha encontrado en mujeres fumadoras⁷⁹, y a la alteración en la inmunidad local del cuello uterino. Se ha descrito una disminución de las células de Langerhans, de CD8 y de linfocitos totales en las mujeres que reducen el número de cigarrillos/día⁸⁰. Además, se ha observado que en las fumadoras hay mayor expresión del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF-C)⁸¹, lo que se traduce en una mayor persistencia de la infección por el VPH.

INTRODUCCIÓN

- **ANTICONCEPTIVOS HORMONALES:** hay evidencias importantes que indican que las mujeres VPH positivas que toman anticonceptivos durante 5 años o más, tienen un aumento significativo del riesgo de padecer CIN 3 y CCU. El riesgo aumenta casi 3 veces en aquellas que lo han tomado entre 5 y 9 años, y más de 4 veces en aquellas que lo tomaron más de 10 años⁸². El riesgo disminuye 8 años después de haberlos suspendido. Se postula que las hormonas podrían influenciar en la progresión de las lesiones promoviendo la integración del ADN del VPH en el genoma del huésped, lo que provocaría la desregulación de la expresión de E6 y E7.

En un meta-análisis⁸³ con más de 20.000 mujeres de diversos países, se ha concluido que el uso del **DIU** se asocia con un riesgo significativamente menor de CCU, reduciendo la probabilidad de desarrollar carcinoma de células escamosas en un 44% y adenocarcinoma o carcinoma adenoescamoso en un 54%. Entre las posibles explicaciones de este efecto protector del DIU, los autores señalan que el proceso de inserción o de retirada del dispositivo destruye las lesiones precancerosas, o que el dispositivo induce una inflamación crónica de la mucosa y una respuesta inmune de larga duración, reduciendo así la probabilidad de progresión del VPH.

- **ALTA PARIDAD:** estudios caso-control relacionan la alta paridad con CIN 3 y CCU. Las mujeres con 3 o 4 embarazos tienen un riesgo 2.6 veces más alto de presentar CCU que las nulíparas, y las mujeres con 7 o más partos tienen un riesgo 3.8 veces mayor⁸⁴.

Los factores hormonales asociados con el embarazo, el traumatismo cervical en el parto y la mayor persistencia de la ZT exocervical podrían explicar esta asociación.

- **OTRAS INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL:** los agentes de transmisión sexual más estudiados y para los que se ha demostrado alguna asociación con el CCU son *Chlamydia trachomatis*⁸⁵⁻⁸⁸, virus de Herpes simple tipo 2 (VHS-2)⁸⁹ y VIH. Es probable que el aumento del riesgo de cáncer asociado al VHS-2 y a *Chlamydia* se deba, al menos en parte, a la respuesta inflamatoria asociada a la generación de radicales libres y el desarrollo de inestabilidad genética. En el adenocarcinoma invasor de cérvix

INTRODUCCIÓN

(AIS) no se ha encontrado coinfección de VPH y Chlamydia, por lo que posiblemente solo sea un cofactor en las células escamosas⁹⁰. En el caso del VIH, el estado de inmunodeficiencia asociado, confirman la importancia de los cofactores inmunológicos del huésped en la carcinogénesis por el VPH.

- **FACTORES NUTRICIONALES:** aunque la evidencia es muy limitada para establecer conclusiones firmes, se considera que la ingestión de alimentos antioxidantes, como frutas y vegetales se relacionan con la disminución del riesgo de padecer CCU. La asociación es más consistente sobre todo con la ingestión de vitaminas C, E, A y carotenos. La ingestión en la dieta de folatos, vitamina B6 y B12 puede estar también implicada en la carcinogénesis cervical. No obstante no existen conclusiones definitivas que relacionen la dieta con el VPH y el riesgo de CCU^{91, 92}.
- **COFACTORES VIRALES:**
 - **GENOTIPO VIRAL:** es el factor de riesgo más importante de persistencia viral y de progresión hacia una lesión preneoplásica, siendo los genotipos 16 y 18 los que presentan un mayor riesgo de progresión⁶³. Las infecciones por VPH 16 progresan a CIN 3 en el 17.2% y los VPH 18 lo hacen en el 13.6%, mientras que las infecciones por otros VPH-AR progresan en el 3% y las VPH negativas desarrollan CIN 3 en el 0,8%⁹³. Los genotipos 16, 18 y 45, tienen una integración más efectiva en el genoma celular, por lo que pueden desarrollar de forma más rápida una progresión a lesiones de alto grado⁹⁴.
 - **VARIANTES DEL VPH:** las variantes del VPH 16 muestran diferencias geográficas que se han relacionado con distintos riesgos de cáncer, y las variantes no europeas están asociadas con un mayor riesgo⁹⁵. Se sugiere que las variantes pueden influir en la historia natural de la infección por dos mecanismos: diferencias en su capacidad funcional o evasión del sistema inmunitario del huésped. Dadas las diferencias geográficas, es posible que su papel en la persistencia y progresión esté relacionado con polimorfismos inmunogenéticos⁹⁶.
 - **CARGA VIRAL:** la carga viral es un marcador de infección persistente. Se ha sugerido que una carga viral elevada indica una mayor posibilidad de

INTRODUCCIÓN

integración del ADN viral en el genoma del huésped. Sin embargo, es discutible la utilidad de medir la carga viral para pronosticar la progresión a cáncer. En mujeres con infección por el VPH 16 o 18 y citología normal, una carga viral elevada, determinada por PCR en tiempo real, se asocia con mayor riesgo de progresión a CIN y CCU^{97, 98}. La carga viral medida mediante HC2 muestra un incremento progresivo paralelo a la gravedad de la lesión⁹⁹. La presencia de cifras superiores a 100 URL se asocia con una lesión cervical en más del 90% de los casos, y esta asociación es prácticamente constante para cifras superiores a 1.000 URL. Por el contrario, un elevado porcentaje de casos con determinaciones inferiores a 10 URL no presentan lesión cervical. Sin embargo, la presencia de una baja carga viral no debe ser excluyente de una lesión grave¹⁰⁰.

- **INTEGRACIÓN VIRAL:** la integración del ADN viral en el ADN de la célula huésped parece ser crucial en la transformación maligna. El riesgo de que ocurra aumenta con una elevada carga viral. Sin embargo, algunos autores apoyan la idea de que el VPH 16 es capaz de inducir la transformación maligna sin que haya integración, lo que indica que seguramente intervienen otros factores para que ocurra la transformación¹⁰¹.
- **COINFECCIÓN:** es discutible si la coinfección con varios tipos virales aumenta el riesgo de progresión⁶⁸. Algunos autores han evidenciado que la tasa de aclaramiento es independiente de la coinfección con otros tipos virales, al menos en mujeres inmunocompetentes⁶⁰. La evidencia más reciente apunta a que los genotipos que coinfectan el cérvix actúan de forma independiente en el desarrollo de las lesiones cervicales.
- **COFACTORES DEL HUÉSPED:**
 - **INMUNOSUPRESIÓN:** las mujeres con inmunosupresión secundaria a la infección por VIH o trasplantadas con tratamiento inmunosupresor, tienen mayor riesgo de desarrollar carcinomas anogenitales asociados a VPH¹⁰²⁻¹⁰⁶. En estas pacientes se ha comprobado a nivel cervical una disminución de linfocitos CD4, así como de células *natural killer*, lo que facilitaría la integración de ADN viral del VPH⁵⁸.

INTRODUCCIÓN

- **HORMONAS ENDÓGENAS**
- **FACTORES GENÉTICOS:** las variaciones genéticas individuales de los genes relacionados con la respuesta inmunitaria innata, humoral y celular pueden influir en la persistencia de la infección por el VPH y su progresión a CCU. Algunos estudios sugieren un efecto protector para HLA DRB1*1301⁹⁵.

Con respecto a los **COFACTORES DE INVASIÓN**, la progresión de CIN a CCU invasivo requiere la expresión de factores angiogénicos que estimulan la proliferación de nuevos vasos. La angiogénesis, inducida por el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) y otras proteínas, como la angiogenina (ANG), es fundamental para el crecimiento del tumor, la invasión del estroma y las metástasis¹⁰⁷.

3. PROCESO DE CRIBADO POBLACIONAL

3.1. Métodos de prevención secundaria: cribado poblacional

La medicina preventiva establece la prevención secundaria de una enfermedad como su detección precoz o cribado (en inglés: screening), dirigida a identificarla en una fase subclínica y tratarla para evitar su progresión.

El cribado del CCU tiene por objetivo disminuir la incidencia y la mortalidad de este cáncer mediante la detección de lesiones precancerosas CIN2-3 y la infección por VPH- AR.

En Europa se han unificado los criterios para el cribado del cáncer, que se recopilaron en unas Recomendaciones del Consejo de la Unión Europea¹⁰⁸. Sólo tres neoplasias reúnen los criterios aceptados: cáncer de cérvix (citología), cáncer de mama (mamografía) y cáncer colo-rectal (sangre oculta en heces-colonoscopía).

El test de cribado no está diseñado para realizar un diagnóstico, sino para clasificar a una población asintomática como “probable” o “no probable” de tener o poder desarrollar un cáncer. El test ideal debe reunir las siguientes características: sencillo, inocuo, fácil de usar, económico y validado clínicamente.

3.1.1. Citología

La prevención secundaria del CCU mediante la citología de Papanicolaou se inició a mediados del siglo pasado con la implementación del cribado citológico periódico. El cribado tiene como objetivo detectar lesiones precursoras en el epitelio cervical que serían el antecedente del cáncer invasor. La larga duración de las lesiones que lo preceden y el hecho de que puedan detectarse mediante la citología y ser tratadas de forma adecuada permiten la prevención del carcinoma invasor.

La **citología de Papanicolaou** consiste en la toma, observación e interpretación de una muestra de células del cérvix (Figura 13). Es fundamental que la toma sea correcta, obteniendo el material directamente del endocérnix y del exocérnix. Esta prueba detecta cambios inflamatorios, infecciosos o la presencia de células anormales y neoplásicas. De la citología cervical no debe esperarse un diagnóstico sino un resultado, normal o anormal. Las citologías anormales detectan mujeres potencialmente afectas de lesiones cervicales.

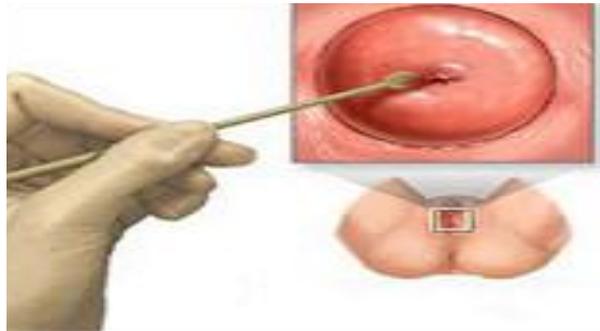


Figura 13. Citología cervical.

Los programas organizados de cribado poblacional mediante la citología han demostrado su efectividad al disminuir la incidencia y mortalidad por CCU en los países donde se han aplicado de forma masiva. En los últimos 50 años el cribado citológico ha reducido la morbi-mortalidad por CCU en un 75-80%, en los países donde se ha aplicado con una estrategia poblacional con cobertura suficiente y continuada¹⁰⁹.

La Unión Europea, la *American Cancer Society* (ACS)¹¹⁰ y el *American College of Obstetrician and Gynecologist* (ACOG)¹¹¹ recomiendan la citología como técnica de cribado para el CCU, siendo su principal limitación su baja sensibilidad.

INTRODUCCIÓN

Tipo de Muestra: Indicar frotis convencional (Pap convencional) vs. en base líquida vs. otro
Calidad de la muestra

- Satisfactoria para evaluación (describir presencia o ausencia de componentes de zonas de transformación/endocervical y cualquier otro indicador de calidad, por ej., parcialmente teñido por sangre, inflamación, etc.)
- No satisfactoria para evaluación ... (especificar razón)
 - Muestra rechazada/no procesada (especificar razón)
 - Muestra procesada y examinada, pero no satisfactoria para evaluación de anomalía epitelial por ... (especificar razón)

Categorización General (opcional)

- Negativo para lesión intraepitelial o malignidad
- Anormalidad de células epiteliales: Ver interpretación/Resultado (especificar 'escamoso' o 'glandular' como apropiado)
- Otro: Ver interpretación/Resultado (por ej. células endometriales en una mujer \geq 40 años de edad)

Lectura Automatizada

Si fue examinado por un aparato automatizado, especificar aparato y resultado.

Pruebas Auxiliares

Breve descripción de los métodos e informe de resultados para que sea fácilmente comprensible para el clínico.

Interpretación/Resultados

Negativo para Lesión Intraepitelial o Malignidad (cuando no exista evidencia de neoplasia, independientemente de si se observan o no microorganismos u otros hallazgos no neoplásicos)

Microorganismos:

- Trichomonas vaginalis
- Organismos micóticos morfológicamente compatibles con Candida
- Cambio en la flora sugestivo de vaginosis bacteriana
- Bacterias morfológicamente compatibles con Actinomyces
- Cambios celulares compatibles con Herpes simplex virus

Otros Hallazgos No Neoplásicos (Opcional para el informe):

- Cambios celulares reactivos asociado con
 - Inflamación (incluye reparación típica)
 - Radiación
 - Dispositivo intrauterino (DIU)
 - Estado de células glandulares post histerectomía
 - Atrofia

Anormalías de Células Epiteliales

Células Escamosas

- Células escamosas atípicas (ASC)
 - de significado indeterminado (ASC-US)
 - no puede excluirse HSIL (ASC-H)
- Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (LSIL)
comprendiendo: HPV/displasia leve/CIN 1
- Lesión intraepitelial escamosa de alto grado (HSIL)
comprendiendo: displasia moderada y severa, carcinoma in situ (CIS)/CIN 2 y CIN 3
 - con características sugestivas de invasión (si la invasión se sospecha)
- Carcinoma de células escamosas

Células glandulares

- Células glandulares atípicas (AGC)
 - células endocervicales (no específico - NOS o especificar en comentarios)
 - células endometriales (NOS o especificar en comentarios)
 - células glandulares (NOS o especificar en comentarios)
- Atípicas, sugestivas de neoplasia
 - células endocervicales
 - células glandulares
- Adenocarcinoma endocervical in situ (AIS)
- Adenocarcinoma
 - endocervical
 - endometrial
 - extrauterino
 - no especificado (NOS)
- Otras Neoplasias Malignas (especificar)

Otros Células endometriales (en una mujer \geq 40 años de edad)

Recomendaciones (opcional)

Figura 14. Sistema de Clasificación Bethesda¹¹².

INTRODUCCIÓN

Las citologías deben ser interpretadas y por lo tanto están sujetas a error. Para hacer más homogénea la lectura, se han propuesto varios sistemas de clasificación. En la actualidad el más usado es la clasificación de Bethesda (Figura 14)¹¹², elaborado en el año 2001 “The Bethesda System-2001” en la que no sólo se clasifican los hallazgos sino que se requiere la valoración de la muestra, es decir, si es o no adecuada.

La verdadera innovación de esta clasificación consiste en considerar a las alteraciones celulares por VPH como lesiones intraepiteliales de bajo grado (LSIL), displasia leve o CIN1, además de unificar bajo el término de lesiones intraepiteliales de alto grado (HSIL) a las displasias moderadas y severas, CIN2 y CIN3 o carcinoma in situ.

Sabemos que la sensibilidad de la citología para la detección de CIN2+ se sitúa alrededor del 50%, no superando el 80% en las mejores condiciones de calidad. Esta sensibilidad es alrededor de un 40% inferior a la de las pruebas clínicamente validadas para la detección del VPH¹¹³. Esta sensibilidad relativamente baja se debe a la variabilidad del material obtenido en la toma, a la calidad de la extensión citológica y a la preservación de la muestra, así como a la distinta capacidad de detección e interpretación de las características microscópicas por parte de los profesionales.

La baja sensibilidad de una única citología ha sido compensada en muchos programas con el aumento de frecuencia de realización de la prueba, facilitado por el relativo bajo coste de la misma. Por otra parte, la especificidad de la citología es elevada, dado que el diagnóstico citológico es un diagnóstico morfológico de la lesión y no de una infección subclínica que puede no comportar alteraciones celulares a la larga. Sin embargo, esta especificidad puede verse afectada en función de la cantidad de diagnósticos indefinidos (atipias de significado indeterminado/ASC-US) que emita cada laboratorio¹¹⁴.

- **Citología en medio líquido**

Recientemente se han desarrollado técnicas que permiten obtener preparaciones en una sola capa celular (**citología en monocapa, capa fina o en medio líquido**). El material obtenido es conservado en un medio líquido, normalmente de base alcohólica, que permite su almacenaje y transporte, y la extensión se realiza en el laboratorio. Su

INTRODUCCIÓN

principal ventaja es que el material remanente conservado permite realizar técnicas adicionales, como la determinación de VPH o de inmunocitoquímica¹¹⁵.

Se ha descrito un discreto incremento de la sensibilidad con este tipo de citología, pero especialmente disminuye los casos inadecuados para diagnóstico. La citología en medio líquido supone un incremento del tiempo de procesamiento técnico, pero una disminución del tiempo de estudio microscópico ya que la interpretación de la morfología celular es más sencilla (menos artefactos como sangre, inflamación, defecto de fijación)¹¹⁶. La mejor calidad de extensión ha permitido la aplicación de nuevos métodos de lectura automatizada de la citología mediante el uso de sistemas basados en análisis de imagen.

En definitiva, la mayoría de países industrializados han incorporado la citología en medio líquido en sus laboratorios¹¹⁷ basándose en que: disminuye el número de muestras insatisfactorias, requiere menor tiempo de estudio microscópico, permite realizar pruebas complementarias y permite la lectura automatizada.

- **Citología con sistemas de lectura automatizada**

Aplica el análisis de imagen y la morfometría para la medición de la densidad óptica de los núcleos o la relación núcleo/citoplasma, con tal de agilizar y estandarizar el primer cribado de las preparaciones citológicas que realizan los citotécnicos.

Actualmente, existen dos sistemas de lectura aprobados por la *Food and Drug Administration* (FDA) estadounidense, el BD Focal Point® de Becton Dickinson y el ThinPrep Imager® de Hologic.

Estos sistemas localizan las células atípicas durante el proceso de cribado lo que permite centrar la atención en un número limitado de campos microscópicos a estudiar. Se ha destacado una mejor eficiencia pero no hay acuerdo sobre una mayor sensibilidad y especificidad en la detección de lesiones precursoras^{118, 119}.

3.1.2. Colposcopia

La colposcopia es una técnica basada en la visualización del cérvix, la vagina y la vulva mediante un microscopio binocular con una potente fuente de luz centrada sobre el campo de exploración. El colposcopio fue introducido por Hinselman en 1925.

La observación magnificada del epitelio se realiza tras la aplicación de solución salina, de ácido acético diluido al 3-5% y la solución yodoyodurada de lugol (test de Schiller) en pasos sucesivos.

Permite identificar la topografía y extensión de las lesiones precancerosas, localizar las áreas más sospechosas donde practicar la toma de biopsia y planificar un tratamiento efectivo. Requiere una buena formación y experiencia del especialista.

Es un prueba muy sensible para la detección de lesiones precursoras del cáncer de cérvix, sin embargo es poco específica, ya que las imágenes colposcópicas anormales no siempre corresponden a lesiones intraepiteliales. La sensibilidad de la colposcopia para diferenciar el epitelio normal de aquel que presenta cualquier lesión es del 96% y la especificidad del 48%¹²⁰. La colposcopia no tiene utilidad como test de cribado primario ni como sustituto del estudio histológico¹²¹.

Los hallazgos colposcópicos se clasifican según la nomenclatura de la *International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy* (IFCPC) aceptada en el Congreso de Río de Janeiro en Julio de 2011 (Figuras 15 y 16)¹²².

INTRODUCCIÓN

Nomenclatura IFCCP 2011¹ Aceptada en el Congreso Mundial de Río, 5 de Julio, 2011

Terminología colposcópica del cuello uterino de IFCCP 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 sobrelevado.
	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, Anomalía congénita, Anomalías post tratamiento, Endometriosis

Figura 15. Terminología colposcópica del cuello uterino de IFCCP 2011¹²².

Terminología colposcópica del cuello uterino – apéndice de IFPCPC 2011¹	
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 16. Terminología colposcópica del cuello uterino-apéndice de IFPCPC 2011¹²².

3.1.3. Estudio histológico

- **Biopsia**

La combinación de la biopsia del exocérnix con una pinza sacabocados, dirigida por colposcopia, se considera el “gold standard” para el diagnóstico de la neoplasia intraepitelial y el CCU¹²³.

- **Estudio del endocérnix**

El estudio endocervical se realiza mediante microlegrado o mediante un cepillo endocervical para hacer un frotis citológico. La localización exclusivamente endocervical de las lesiones intraepiteliales, fuera del alcance de la visión, es la causa más frecuente de falsos negativos de la colposcopia o de las discordancias diagnósticas entre las diversas técnicas. Por ello, en ocasiones se recurre al estudio del canal cervical por histeroscopia.

- **Conización**

La conización es una técnica diagnóstica que puede ser terapéutica. El empleo del asa diatérmica ha facilitado su uso ambulatorio generalizado.

Histopatología de las lesiones intraepiteliales cervicales

La Clasificación de Richart hace constar que la neoplasia cervical intraepitelial tiene tres grados, según sea la afectación del espesor del epitelio escamoso (Figura 28):

- **CIN1 (Grado 1):** representa una displasia leve y es considerada una lesión escamosa intraepitelial de bajo grado. La lesión se limita al tercio basal del epitelio cervical.
- **CIN2 (Grado 2):** es considerada una lesión escamosa intraepitelial de alto grado. La lesión está confinada a los 2/3 basales del epitelio cervical, antes se denominaba displasia moderada.
- **CIN3 (Grado 3):** también es una lesión escamosa de alto grado y la displasia es severa. Ocupa más de 2/3 del epitelio cervical, en algunos casos incluyendo todo el grosor del revestimiento cervical. Dicha lesión se considera como un carcinoma “in situ”.

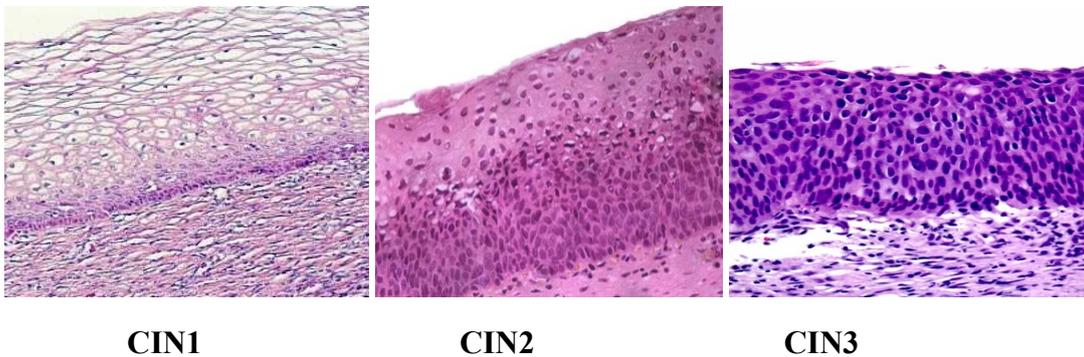


Figura 17. Neoplasia Intraepitelial Cervical.

El Colegio Americano de Patólogos (CAP) y la Sociedad Americana de Colposcopia y Patología Cervical (ASCCP) han establecido una nueva terminología histopatológica denominada “LAST” (Lower Anogenital Squamous Terminology), que incluye los conocimientos actuales sobre la infección VPH, incorpora el uso de biomarcadores y facilita la comunicación entre profesionales¹²⁴. Esta terminología ha sido recogida en la última clasificación de la OMS para las neoplasias del tracto genital femenino publicada en 2014.

INTRODUCCIÓN

La terminología LAST clasifica las SIL histológicas asociadas al VPH en dos grados, lesiones de bajo grado (LSIL) y lesiones de alto grado (HSIL). La clasificación utiliza, por tanto, la misma terminología empleada para el resultado citológico en el sistema de Bethesda y emplea criterios semejantes. Los criterios histopatológicos que las define son:

- **LSIL:** proliferación de células escamosas o metaplásicas con características nucleares anormales (aumento de tamaño nuclear, membrana nuclear irregular y aumento de la relación núcleo/citoplásmica). Hay poca maduración del citoplasma en el tercio inferior del epitelio, pero la maduración comienza en el tercio medio y es relativamente normal en el tercio superior. Las figuras mitóticas están presentes sólo en la parte inferior del epitelio. Puede observarse coilocitosis, caracterizada por multinucleación, agrandamiento nuclear y pleomorfismo acompañado por halos perinucleares, sin las características de una lesión de alto grado. Bajo este término se incluyen las lesiones de CIN1 de la clasificación de Richart/OMS 2004.

- **HSIL:** proliferación de células escamosas o metaplásicas con características nucleares anormales (aumento de tamaño nuclear, membrana nuclear irregular y aumento de la relación núcleo/citoplásmica, acompañada de figuras de mitosis). Hay poca o nula diferenciación citoplasmática en los tercios medio y superficial del epitelio. Las figuras mitóticas no se limitan al tercio inferior del epitelio y se pueden encontrar en la parte media y/o superficial. Bajo este término se incluyen las lesiones de CIN2 y CIN3 de la clasificación de Richart/OMS 2004.

Se acepta que las LSIL/CIN1 son la expresión histológica de una infección productiva y autolimitada por VPH que comparte su misma historia natural y la mayoría de veces regresa espontáneamente. El seguimiento estricto de estas mujeres minimiza el riesgo que supone la falta de detección inicial de lesiones de alto grado. Por otro lado, las HSIL/CIN3 se consideran auténticas neoplasias intraepiteliales con elevado potencial de progresión y constituyen la lesión precursora necesaria del cáncer de cérvix. Contrariamente, el significado biológico de las lesiones de HSIL/CIN2 está mal definido ya que, en su evolución, tanto pueden regresar como progresar.

La determinación inmunohistoquímica de p16 permite una mejor categorización de las lesiones frontera entre bajo y alto grado, fundamentalmente clasificadas histológicamente hasta ahora como CIN2 mediante criterios exclusivamente

INTRODUCCIÓN

morfológicos. Las lesiones CIN2 p16-positivas se incluyen en la categoría HSIL dado su mayor riesgo de progresión, y las CIN2 p16-negativas se reclasifican como LSIL dado su comportamiento benigno y su bajo riesgo de progresión. La aplicación del marcador p16 para aclarar el significado de una CIN2 se ha estimado que sería necesario aplicarlo en menos del 10% de todas las biopsias.

3.2. Métodos de detección e identificación del VPH

La presencia de VPH se puede deducir de hallazgos morfológicos, serológicos y clínicos. Sin embargo, el diagnóstico de VPH se basa en técnicas de biología molecular que permiten su detección y tipificación. La detección de VPH tiene una elevada sensibilidad en la detección de lesiones intraepiteliales cervicales de alto grado y un elevado valor predictivo negativo (VPN).

Existe una gran variedad de ensayos que permiten la detección del VPH. En función de la metodología en la que se basan pueden clasificarse en 3 grupos (Figura 18)¹²⁵: ensayos basados en hibridación de ácidos nucleico, en amplificación de la señal y en amplificación de ácidos nucleicos.

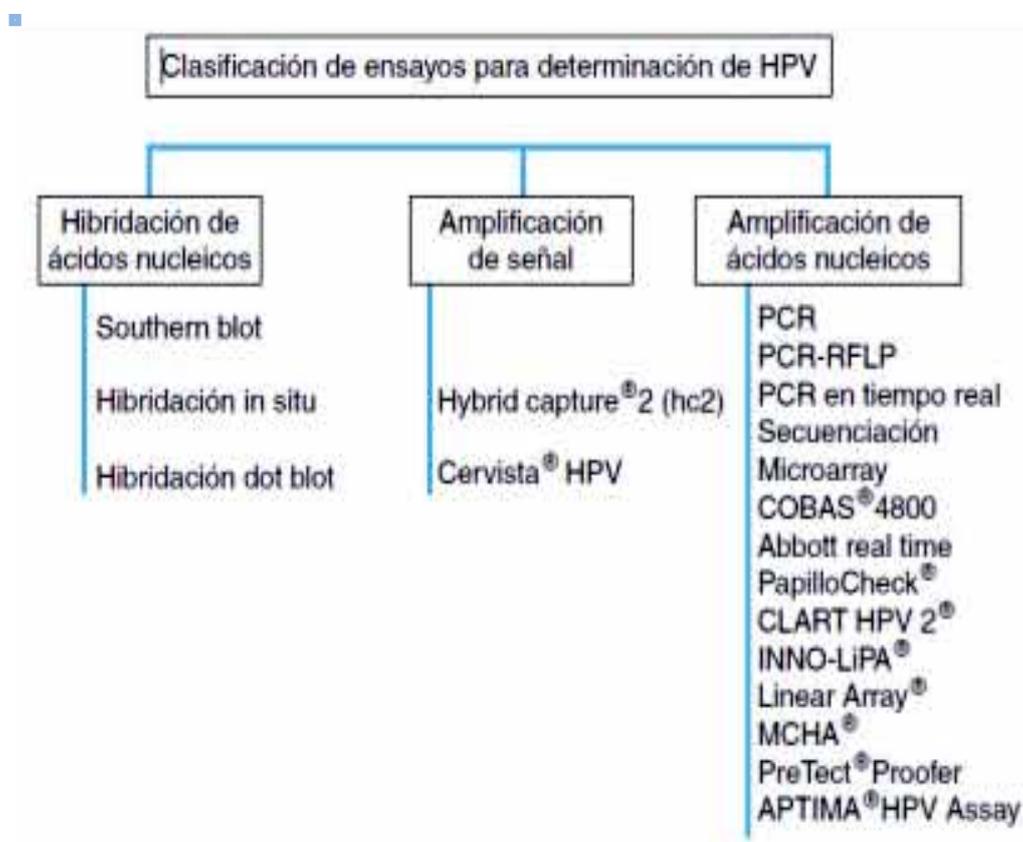


Figura 18. Clasificación de ensayos para determinación de VPH¹²⁵.

INTRODUCCIÓN

La variabilidad observada en cuanto a sensibilidad y reproducibilidad de la citología ha dado lugar a que en los últimos años se haya analizado el papel de la prueba de detección y amplificación del VPH¹²⁶ en la prevención secundaria del CCU^{127, 128}, ya sea asociado a la citología¹²⁹ (co-test) o como técnica inicial de cribado.

Múltiples ensayos randomizados demuestran que la prueba VPH es más sensible para la detección de CIN 3, si bien la especificidad y por tanto el valor predictivo positivo (VPP) demostrado son menores, sobre todo en mujeres jóvenes menores de 30 años, donde la prevalencia de infección transitoria es alta.

Una revisión sistemática llevada a cabo recientemente en la que se actualizan los datos disponibles¹³⁰, objetiva cómo realizando co-test como técnica de cribado se incrementa ligeramente la sensibilidad a expensas de una pérdida en especificidad cuando cualquier prueba es positiva y se remite a la paciente a colposcopia en comparación con la realización de la prueba VPH únicamente. La diferencia en el riesgo acumulado de CIN3+ o CCU utilizando co-test versus prueba VPH sola es baja.

Por tanto, la evidencia disponible pone de manifiesto que si la prueba VPH-AR se realiza con una técnica clínicamente validada es más eficaz que la citología en el cribado primario en mujeres mayores de 30 años, y que en los casos en los que la prueba es negativa, el intervalo de cribado se puede extender con seguridad a 5 años. En los casos en los que la prueba es positiva se puede utilizar para la selección bien la citología o bien el genotipado para VPH16/18.

A continuación se describen más detalladamente los métodos de detección de VPH aprobados por la FDA (Tabla 4) como métodos de cribado del CCU junto con la citología¹³¹⁻¹³³.

Tabla 4. Pruebas para la detección de VPH aprobadas por la FDA para su utilización en el cribado poblacional.

Hybrid Capture® 2 (HC2) HPV DNA Test (QIAGEN Inc., Gaithersburg, MD; USA) US FDA (2003)

Cervista® HPV HR Test (Hologic, Madison, WI, USA) US FDA (2009)

Cobas® 4800 HPV Test (Roche Molecular Systems Inc., Alameda, CA, USA) US FDA (2011)

APTIMA® HPV Test (Gen-Probe Inc., San Diego, CA, USA) US FDA (2011)

3.2.1. Métodos en los que no se realiza amplificación

- **CAPTURA DE HÍBRIDOS**

La Captura de Híbridos (Hibryd Capture® 2 o HC2) es una técnica de hibridación que utiliza una secuencia complementaria de ARN, en lugar de ADN, lo que le confiere una alta sensibilidad. Este método sólo se aplica sobre células en suspensión no permitiendo su uso en muestras tisulares.

Se trata de un método no automatizado que permite detectar la presencia de 5 tipos de VPH-BR (6, 11, 42, 43, 44) y 13 tipos de VPH-AR (16,18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68) sin indicar el genotipo específico.

El marcaje de los híbridos se realiza mediante un producto luminiscente, por lo que para la lectura se utiliza un luminómetro. El resultado es por tanto cualitativo (positividad o negatividad para VPH-AR) y también semicuantivo (intensidad de la reacción medida en unidades relativas de luz o URL) lo que significa una estimación de la carga viral o cantidad de virus presente en una muestra determinada⁹⁹.

Este método es muy adecuado para el cribado por su alta sensibilidad clínica. Debido a que es la técnica más contrastada, muchos autores recomiendan utilizar el HC2 como estándar de oro para realizar estudios comparativos de los nuevos métodos de cribado¹³¹. Sin embargo, es un método relativamente poco reproducible en la llamada “zona gris”, que afecta a los resultados alrededor del punto de corte (positivo/negativo). Parece que esto se debe, al menos en parte, a un número no despreciable de reacciones cruzadas con VPH-BR¹³⁴ que dan lugar a un pequeño número de falsos positivos. No obstante, este aspecto parece ser poco importante desde la perspectiva del cribado poblacional^{134, 135}.

- **CERVISTA®**

Es una técnica automatizada de detección del VPH basada en la hibridación, que únicamente permite analizar muestras de citología líquida, de modo que no puede utilizarse en muestras tisulares. Detecta la presencia de 14 tipos de VPH-AR en tres grupos diferentes (Mix 1: 51, 56, 66; Mix 2: 18, 39, 45, 59, 68, y Mix 3: 16, 31, 33, 35, 52, 58).

INTRODUCCIÓN

Tras la extracción del ADN se aplica el test de Cervista®, que realiza la lectura mediante un método denominado *invader*, basado en una reacción luminiscente. El resultado informa de la positividad o negatividad para VPH-AR pero no informa de la carga viral. Es muy sensible y adecuado para el cribado. No existe experiencia en lo referente a la llamada zona gris, pero no se conocen reacciones cruzadas con VPH-BR. Para tipificar los VPH presentes debe procederse a una segunda prueba¹³⁴.

3.2.2. Métodos basados en la amplificación: reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Estos métodos se basan en la amplificación del ADN del virus¹³⁶ mediante la aplicación de unos cebadores (*primers* en inglés) complementarios de secuencias del ADN vírico que, en ciclos de altas y bajas temperaturas y gracias a la acción de polimerasas del ADN, permiten obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN particular, partiendo de un mínimo. Estas técnicas pueden utilizarse en cualquier tipo de muestra, células en suspensión, células sobre portaobjetos o cortes de muestras histológicas¹³⁷.

Estos métodos son extraordinariamente sensibles, pero pueden tener problemas de especificidad, dado que ocasionalmente se detectan secuencias similares pero no exactas al ADN problema (falsos positivos). El método más utilizado es la **PCR consenso**, en la cual se amplifica una región con secuencia muy similar entre todos los VPH para, posteriormente, por métodos de hibridación específica, enzimáticos o de secuenciación de ADN, realizar el genotipado específico del virus. El primer cebador que se popularizó fue el que usa como diana de amplificación la región común L1, utilizando los *primers* MY09 y MY11¹³⁷. El amplificado generado es de aproximadamente 450 pares de bases. Después se han diseñado variantes como PGMY09/11, GP5/GP6 o su variante GP5+/GP6+, y SPF10. A menor región para amplificar, mayor es la sensibilidad para detectar la presencia del VPH.

Un método no reconocido por la FDA para screening es el **sistema CLART HPV2**¹³⁸, que consiste en un método semiautomatizado de genotipado viral basado en la amplificación de oligonucleótidos (*primers*) por acción de la polimerasa, detectando 35 genotipos (20 de alto riesgo y 15 de bajo riesgo).

- **COBAS® 4800**

Se trata de un método comercializado de detección del VPH basado en la **PCR en tiempo real** y disponible para material conservado mediante citología en medio líquido, no pudiendo utilizarse material histológico procesado en parafina. Es un método automatizado que informa si la muestra es positiva o negativa para VPH-AR y, en casos positivos, indica si está presente el VPH16, el VPH18 u otro de los siguientes VPH-AR (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68). La técnica proporciona información sobre carga viral. En los resultados positivos no se han observado reacciones cruzadas con VPH-BR¹³⁹. Muestra una elevada sensibilidad clínica, por lo que es adecuada para su utilización en el cribado poblacional.

3.2.3. Métodos basados en la detección de ARN-VPH

- **APTIMA®**

Aptima® es un sistema automatizado que permite la detección de 14 tipos de VPH-AR mediante análisis del ARN mensajero viral de las oncoproteínas E6 y E7 en citología en medio líquido. En los estudios publicados el método ha demostrado ser tan sensible como HC2, Cervista® y Cobas® 4800, pero algo más específico. Está aprobado por la FDA y validado en la plataforma Panther como co-test y para la selección de las citologías ASC-US¹¹³.

3.2.4. Marcadores moleculares de proteínas del ciclo celular

Actualmente se están investigando y desarrollando otras estrategias que permitan identificar a aquellas pacientes que realmente presentan un alto riesgo de sufrir transformaciones carcinogénicas y desarrollar un cáncer invasivo. Uno de los mejores indicadores de esa capacidad de transformación neoplásica en las muestras cervicales sería la detección de los niveles de proteínas oncogénicas producidas por el VPH.

Por eso, se están evaluando biomarcadores que intervengan en las vías distintas moleculares de la carcinogénesis¹⁴⁰⁻¹⁴³:

- Marcadores de regulación del ciclo celular: p53, p21, bax, pRb, p16^{INK4a}, p27, MCM2 y TOP II α (ProExTM C)¹⁴⁴, ciclina D1, ciclina A, ciclina E.
- Marcadores de proliferación celular: PCNA, c-myc, Ki-67 (MIB-1).

INTRODUCCIÓN

- Marcadores de apoptosis: telomerasa, survivina.
- Marcadores de transcripción: Skn-1, Oct-1, AP-2, NFkappaB.
- Marcadores de vías celulares de señalización.
- Marcadores de infección VPH: proteína L1 de la cápside.

Recientemente se ha evidenciado que algunos biomarcadores pueden ser detectados por métodos inmunohistoquímicos¹⁴⁵ y, por tanto, pueden ser evaluados en un examen cito-histológico.

La **tinción dual p16/Ki-67** ha demostrado ser particularmente útil en la selección de las pacientes con citología de ASC-US y LSIL, y en casos con prueba de VPH positiva y citología negativa^{146, 147}. Actúa como herramienta de seguridad en el diagnóstico histológico rutinario. Pone de manifiesto focos de lesión de pequeño tamaño, lesiones artefactadas u ocultas que pueden pasar desapercibidas con las técnicas de rutina.

Además, facilita el diagnóstico diferencial entre los simuladores de lesión cervical (metaplasia escamosa inmadura, cambios celulares asociados a atrofia e inflamación) y las verdaderas lesiones intraepiteliales de alto grado.

La alta sensibilidad y especificidad se observa especialmente en mujeres mayores de 30 años, pero también por debajo de esta edad (a pesar de la elevada frecuencia de infecciones VPH transitorias en este colectivo). Un estudio destaca que la valoración de criterios morfológicos e inmunohistoquímicos incrementa de forma notable la especificidad de la técnica, lo que puede ser especialmente útil en mujeres jóvenes¹⁴⁸.

3.3.Evolución del proceso de cribado en España

En España, en el año 2006, se alcanzó el consenso para el cribado del CCU a través de la **GUÍA DE CRIBADO DEL CÁNCER DE CUELLO DE ÚTERO EN ESPAÑA**. En dicho consenso participaron las Sociedades Españolas de Ginecología y Obstetricia (SEGO), de Citología (SEC), de Anatomía Patológica (SEAP), y la Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia (AEPCC)⁶³. No obstante, en el año 2010 este protocolo fue modificado⁸⁵ (Figuras 19 y 20).

INTRODUCCIÓN

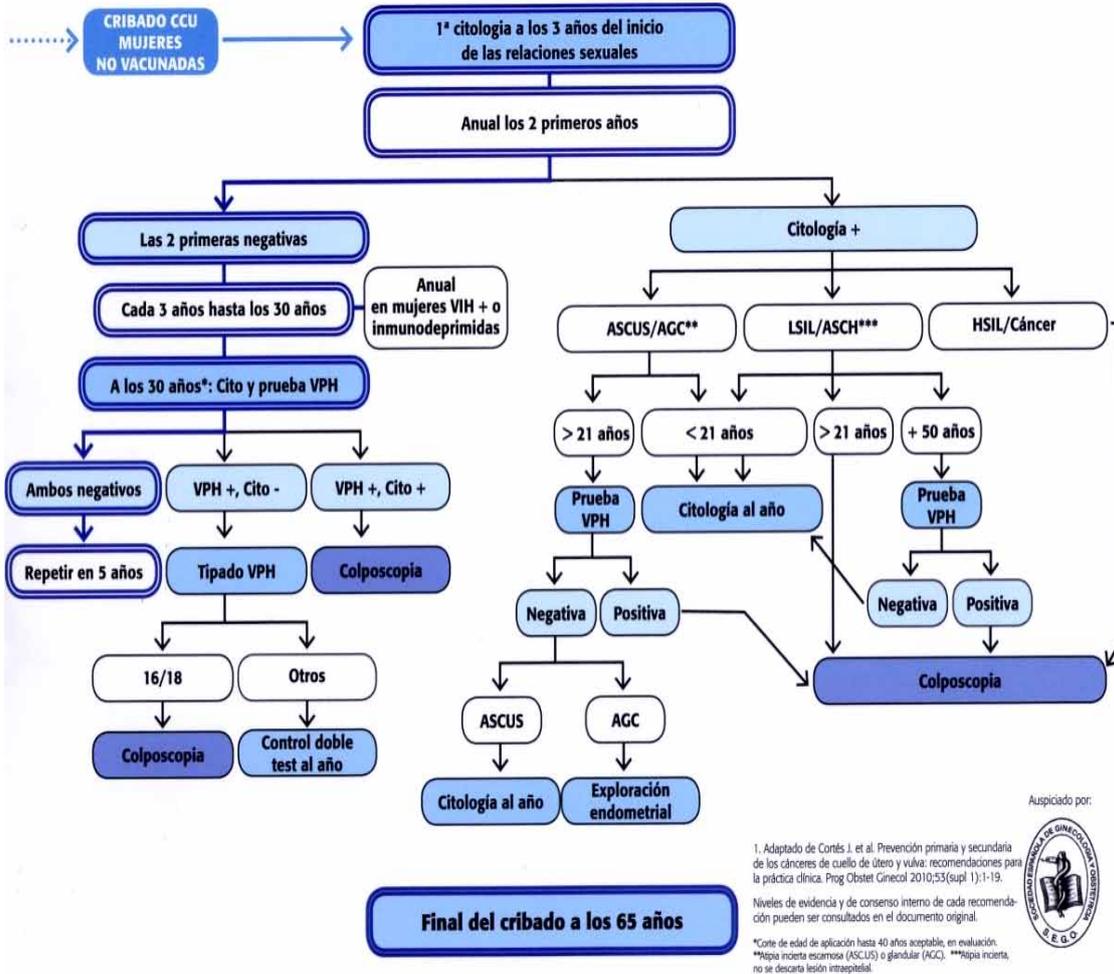


Figura 19. Recomendaciones de la SEGO 2010 para el cribado poblacional en mujeres no vacunadas⁸⁵.

Estas modificaciones en el cribado se basan fundamentalmente en:

- A partir de los 30 años de edad el cribado del CCU se realiza con la citología y con el test VPH. Debido a la baja especificidad del test VPH para CIN2+ en las mujeres jóvenes no debe hacerse antes de los 30 años. Sin embargo, a partir de dicha edad, el test VPH se ha mostrado más específico y esto permite disminuir el número de colposcopias y el seguimiento clínico¹⁴⁹.
- En pacientes menores de 21 años con diagnóstico citológico de ASC-US, ASC-H o LSIL se repite la citología al año, dada la alta prevalencia de infección transitoria por VPH en los primeros años de vida sexual.

INTRODUCCIÓN

DOS PREGUNTAS CLAVES PARA UNA PREVENCIÓN INTEGRAL DEL CÁNCER DE CUELLO DE ÚTERO

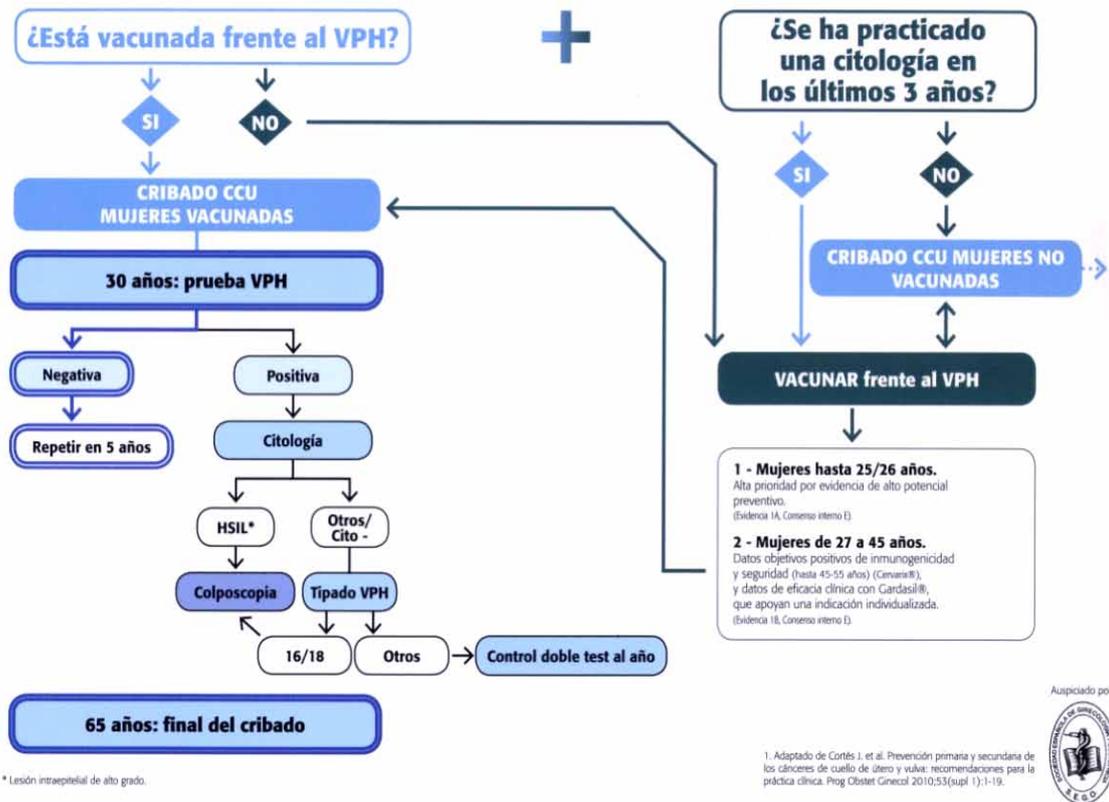


Figura 20. Recomendaciones de la SEGO 2010 para el cribado poblacional en mujeres vacunadas⁸⁵.

Estas mismas sociedades, después de la última publicación de la **GUÍA DE CRIBADO DEL CÁNCER DE CUELLO DE ÚTERO 2014**¹⁴⁶ y tras la implementación del programa de vacunación contra el VPH, recomiendan las siguientes actitudes (Figura 21):

- *Aunque la citología cervical exclusiva en el cribado primario continúa vigente, siempre que se cumplan los controles de calidad preceptivos, la transición a cribado con prueba VPH debería ser un objetivo alcanzable en el plazo de 3-5 años para todos los ámbitos del cribado primario de CCU. Esta recomendación se justifica en base a la ganancia en calidad y validez del cribado.
- **La Sociedad Española de Epidemiología (SEE) considera aceptable comenzar la prueba VPH en el intervalo entre 30 y 35 años.

INTRODUCCIÓN

- ***Globalmente, el co-test no añade mayor rendimiento y eficacia a la prueba de VPH-AR como método único y conlleva un mayor gasto de recursos. La elección del co-test debe tener una finalidad transitoria mientras se incorpora e implementa la tecnología para la detección del VPH. La SEE no favorece el co-test como opción aceptable de cribado.

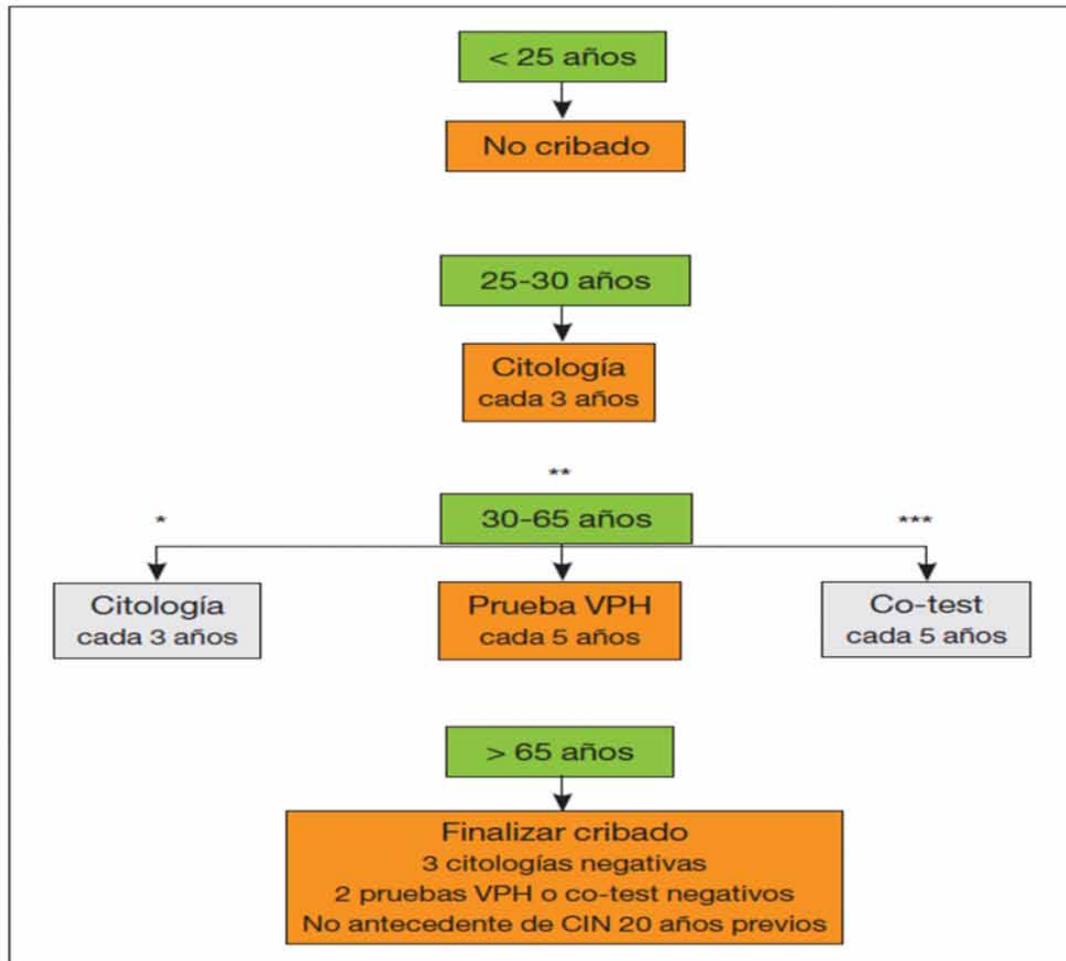


Figura 21. Estrategias de cribado en función del subgrupo de edad. Guía de cribado del CCU 2014¹⁴⁶.

Por otra parte, teniendo en cuenta los nuevos marcadores de regulación del ciclo celular como por ejemplo la tinción dual p16/Ki-67, en la Guía de cribado del CCU de 2014 se describen las estrategias de actuación clínica en mujeres con prueba de detección del VPH positiva y citología negativa, que incluye dicha tinción dual (Figura 22)¹⁴⁶.

INTRODUCCIÓN

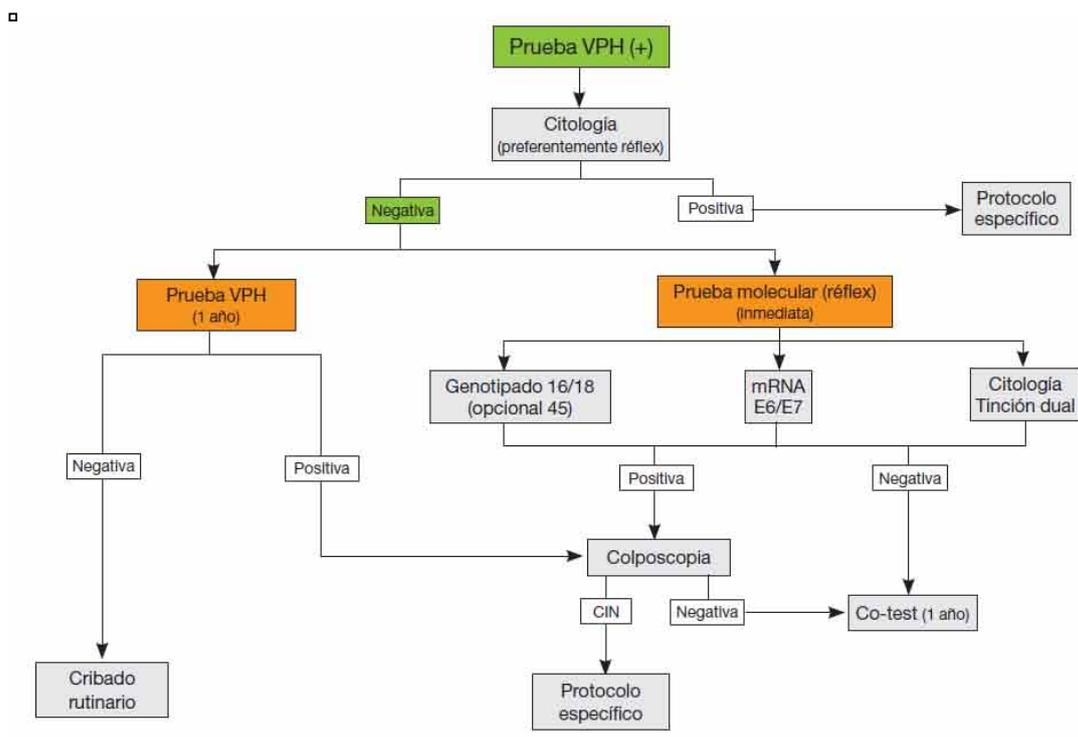


Figura 22. Algoritmo de actuación clínica en mujeres con prueba de detección del VPH positiva¹⁴⁶.

4. TRATAMIENTO DE LA NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL

Los tipos de tratamientos que existen se pueden clasificar en:

- **Destructivos:** producen una destrucción física de la lesión y, por tanto, no obtienen tejido para estudio histológico. Son la termocoagulación, electrocoagulación, criocoagulación y vaporización con láser de CO₂.
- **Escisionales:** extirpan la lesión, por ello puede realizarse el estudio histológico, que permitirá descartar la presencia de microinvasión o invasión, que está presente en un 6-12% y un 2% respectivamente. Son la conización y la histerectomía.

4.1. Conización

Es una técnica de tratamiento escisional de la CIN que consiste en la exéresis de toda la ZT, incluyendo la lesión. Puede realizarse con bisturí frío o láser CO2 aunque la forma más extendida en la actualidad es la exéresis con asa de diatermia considerándose un método seguro y eficaz.

La escisión con asa diatérmica fue introducida por Cartier en 1984 para la toma de biopsias con fines diagnósticos. En 1989 Prendiville¹⁵⁰ propuso la técnica con finalidad terapéutica al incorporar asas de mayor tamaño que permiten la exéresis de toda la zona de transformación. En Europa la técnica se conoce como **LLETZ** (*Large Loop Excision of the Transformation Zone*) y en Estados Unidos se emplean las siglas **LEEP** (*Loop Electrical Excision Procedure*) (Figura 23).

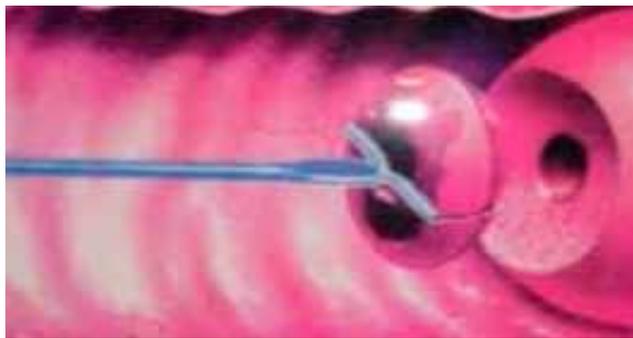


Figura 23. Conización con asa de diatermia.

En general, la escisión debe adaptarse al tamaño y características de la lesión. Se distinguen 3 tipos de escisión^{122, 151} según la presencia de componente endocervical de la lesión:

- **Escisión tipo 1:** aplicable en casos con ZT tipo 1, en los que el asa diatérmica no debe incluir canal endocervical ni superar los 8 mm de profundidad.
- **Escisión tipo 2:** indicada en ZT tipo 2, implica reseca una pequeña parte de canal endocervical visible mediante colposcopia.
- **Escisión tipo 3:** indicada en ZT tipo 3, incluye parte de epitelio endocervical.

INTRODUCCIÓN

Un estudio reciente¹⁵² compara la efectividad de la conización en lesiones cervicales intraepiteliales de alto grado mediante electroescisión quirúrgica con Asa de Trucone (Figura 24), y con asa diatérmica (Figura 25). Concluyen que ambas asas fueron efectivas, aunque se encontraron diferencias significativas a favor del asa de Trucone en cuanto a menor tiempo quirúrgico, menor compromiso de los bordes y menor frecuencia de recidivas.



Figura 24. Asa de Trucone.



Figura 25. Asa de diatermia.

4.2. Seguimiento postratamiento de la lesión escamosa de alto grado

Aunque los porcentajes de éxito de los tratamientos actuales son superiores al 95%, el seguimiento postratamiento es necesario. Las mujeres tratadas por CIN presentan un riesgo de desarrollar un CCU invasor 5 veces mayor que el de la población general, y éste puede aparecer en un periodo de 10 a 20 años después del tratamiento¹⁵³.

El riesgo de recurrencia es aproximadamente un 15% (5-25%), y aunque el riesgo está incrementado en las dos siguientes décadas¹⁵⁴, la mayoría de las recurrencias se dan en los dos primeros años postratamiento^{155, 156}.

La enfermedad **residual** es aquella lesión que se pone de manifiesto en cualquiera de los controles realizados en el curso de los 12 primeros meses después del tratamiento. La enfermedad **recurrente** es la que se presenta después del primer año de seguimiento, durante el cual tanto la citología como la colposcopia han sido negativas.

INTRODUCCIÓN

Se han propuesto diferentes protocolos de seguimiento postratamiento. Se recomienda citología y colposcopia cada 6 meses y determinación del test de VPH a los 6-12 meses. Si dos citologías consecutivas son negativas o el test viral es negativo la paciente puede volver al cribado normal durante un mínimo de 20 años¹⁵⁷.

La sensibilidad del test de VPH para detectar lesión persistente o recurrente¹⁵⁸⁻¹⁶² alcanza el 90% a los 6 meses del tratamiento y se mantiene así hasta los 24 meses¹⁵⁸.

Los factores que se han asociado a un mayor riesgo de persistencia o recurrencia son:

- Tamaño lesional.
- Estado inmunológico
- Edad de la paciente (50 años)
- Persistencia de infección por VPH postratamiento
- Afectación de los márgenes quirúrgicos

Las pacientes con persistencia del VPH (especialmente el VPH 16) después de la conización tienen un riesgo del 40% de CIN 2+ en los dos años siguientes¹⁵⁹.

La afectación de los márgenes quirúrgicos no es sinónimo de enfermedad residual, ya que la mayoría de las pacientes con márgenes positivos no presentan fallos del tratamiento, y los márgenes libres de enfermedad no garantizan el éxito del tratamiento tampoco. Los márgenes afectos pueden ser consecuencia de la respuesta inflamatoria de la herida o por el efecto de la temperatura durante el procedimiento escisional del asa de diatermia¹⁶⁰.

La conducta ante márgenes afectos, normalmente, es el seguimiento con controles citológicos, colposcópicos y test de VPH. En caso de persistencia o de recidiva está indicada una segunda conización. En mujeres mayores de 50 años con afectación del margen endocervical, se acepta un tratamiento inmediato, la reconización o la histerectomía, ya que son un grupo de alto riesgo de recurrencia.

Las pautas para el seguimiento postratamiento de la CIN descritas en la Oncogüía SEGO de 2014¹⁵¹ se muestran en la Figura 26.

INTRODUCCIÓN

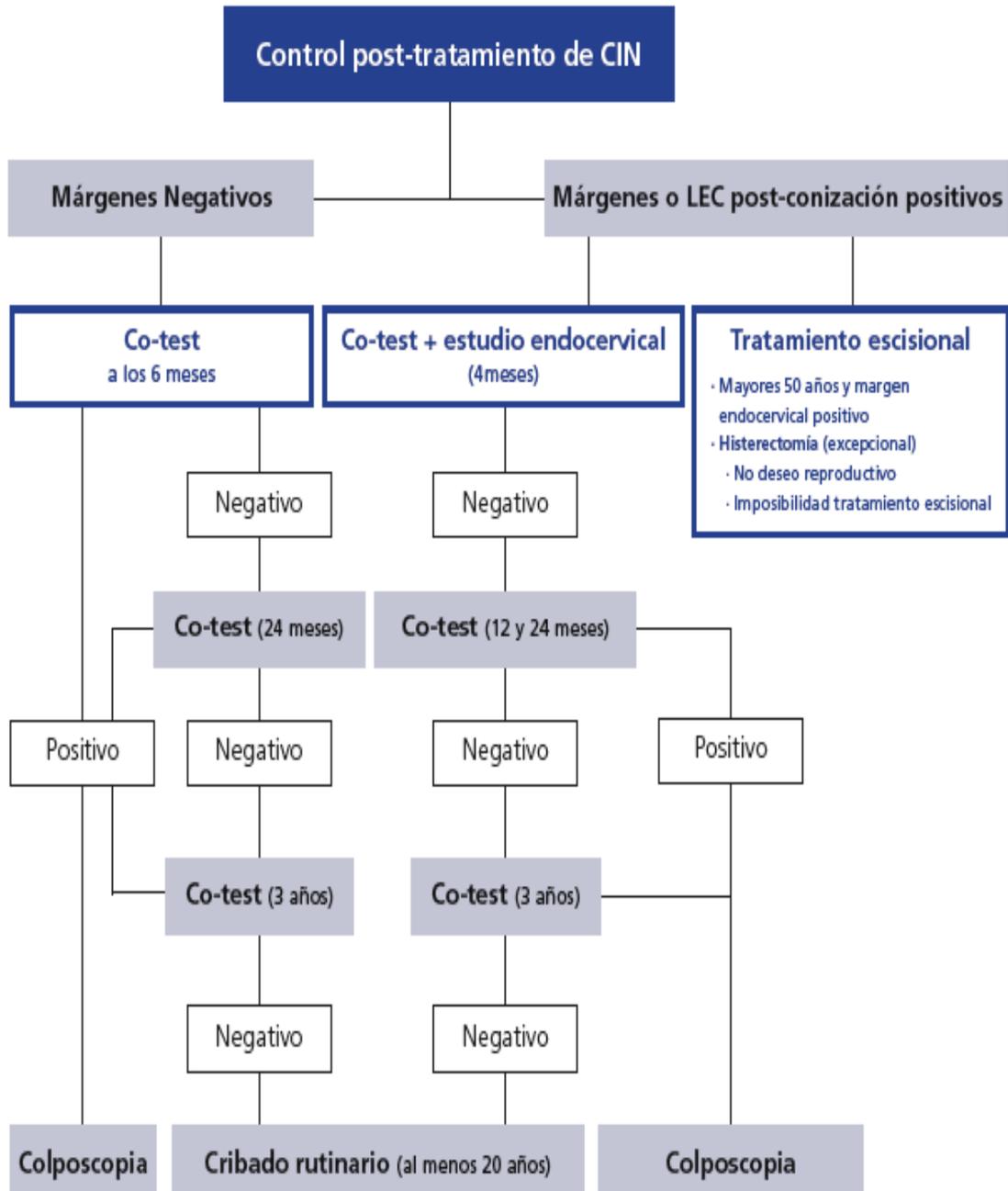


Figura 26. Algoritmo de seguimiento postratamiento de CIN. Oncogúa SEGO 2014¹⁵¹.

PLANTEAMIENTO DEL TEMA, HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS

La persistencia de la infección por VPH-AR se considera un factor asociado a recidiva junto a otros cofactores de progresión de lesión^{52, 66, 73}.

Actualmente, existen evidencias de que la infección por alguno de los tipos de VPH-AR, no es solo necesaria para el desarrollo de lesiones de alto grado, sino también para el desarrollo de las segundas lesiones tras el tratamiento¹⁶³⁻¹⁶⁶. Además, es sabido que, en la mayoría de las pacientes, un tratamiento efectivo elimina tanto la lesión pre-maligna como el VPH-AR causante^{167, 168}. No obstante, hay un porcentaje no menospreciable de mujeres que desarrollan infección persistente por VPH-AR tras el tratamiento de la lesión y con ello mayor riesgo de recidiva y/o progresión de la lesión.

En este trabajo de investigación, nos planteamos la siguiente **hipótesis de trabajo**: ¿es realmente preciso, que mujeres, con infecciones VPH mantenidas en el tiempo, causadas por genotipos concretos asociados a determinados cofactores, deban ser objeto de seguimiento más estricto debido a la posibilidad de aparición de una nueva lesión y/o persistencia de la misma tras el tratamiento y por consiguiente, mayor probabilidad de progresión a cáncer de cérvix?.

Para contrastar esta hipótesis se ha diseñado un estudio retrospectivo de pacientes a las que se les realizó una conización en la Unidad de Gestión Clínica (UGC) de Obstetricia y Ginecología del Hospital Universitario “Virgen de la Victoria” (HUVV) de Málaga, en un periodo ininterrumpido de 5 años y valorar si la persistencia de VPH-AR tras el tratamiento mediante conización, por lesiones de alto grado, se asocia a algunos genotipos concretos de una forma más frecuente así como a ciertos cofactores de progresión que influyan en la evolución del proceso y por tanto poder definir perfiles determinados de pacientes para seguimiento más estricto o bien más prolongado en el tiempo. Asimismo, se ha considerado importante establecer la diferencia entre el genotipo concreto de VPH-AR que presentaba la paciente antes y después del tratamiento de la lesión, y relacionarlo con la localización, extensión y características de la lesión escamosa.

Con todo lo anteriormente expuesto planteamos los siguientes objetivos:

1. OBJETIVO PRINCIPAL

En pacientes sometidas a tratamiento escisional y/o ablativo cervical por lesiones escamosas de alto grado (SIL-AG/CIN2+), entre julio 2008 y julio 2013, en el HUVV de Málaga, evaluar la persistencia y frecuencia de genotipos de VPH implicados.

2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Analizar los cofactores relacionados con la persistencia y adquisición del VPH (tabaco, edad de inicio de las relaciones sexuales o coitarquia, número de parejas sexuales hasta el diagnóstico, menopausia, anticonceptivos hormonales, paridad, inmunosupresión) tras el tratamiento escisional y/o ablativo.
- Estudiar la asociación de VPH-BR con dicha persistencia vírica.
- Valorar si existe relación entre persistencia VPH postconización y el tipo de infección (simple o multigenómica).
- Describir la existencia de un perfil de paciente más frecuente asociado a persistencia vírica.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. ÁMBITO DE TRABAJO: POBLACIÓN DE ESTUDIO

Este estudio se ha realizado con mujeres de Málaga atendidas, en el HUVV y el Centro de Especialidades San José Obrero incluyendo los distritos sanitarios de Málaga Centro-Área metropolitana de Málaga, Málaga Oeste, Torremolinos-Churriana y Coín-Valle del Guadalhorce. Además, el Servicio de Ginecología del HUVV es unidad de referencia en patología del TGI del municipio de Benalmádena. Dicha población está integrada por 7 Zonas Básicas, con 33 Centros de Salud y 16 Consultorios Rurales.

En cifras absolutas de población atendida es de 155.877 mujeres en edades comprendidas entre los 20 y los 65 años¹⁶⁹, a las que se les ha practicado un cribado mixto (poblacional y oportunista) mediante citología convencional (triple toma de Wied) desde el 1 de Julio del 2008 hasta el 1 de Julio de 2013 (cinco años completos e ininterrumpidos).

En nuestra Comunidad Autónoma de Andalucía se está aplicando la siguiente estrategia de cribado: Proceso Asistencial Integrado (PAI) de Cáncer de cérvix-Cáncer de útero de la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía, aprobado en el HUVV en noviembre de 2006 e implantado desde enero de 2008, y del cual se ha efectuado una revisión en diciembre del año 2010⁶. Consiste en:

-Programa de cribado: oportunista, aunque existen iniciativas para mejorar la captación y adherencia al cribado por parte de los médicos de Atención Primaria.

-Población diana: mujeres no histerectomizadas a partir de los 3 años de inicio de las relaciones sexuales y hasta los 65 años.

-Prueba e intervalo de cribado: citología trienal después de dos citologías realizadas con intervalo de 1 año, con resultado valorable y negativo.

-Aquellas mujeres con 65 años que no se han realizado ninguna citología en los últimos 5 años requieren 2 citologías normales, de intervalo anual, para finalizar el programa de cribado.

En nuestro estudio se analizan las citologías de cribado tanto del área de salud asignada a la Unidad de Patología del TGI hospitalaria como de las consultas ginecológicas hospitalarias, y también del Centro de Especialidades San José Obrero.

MATERIAL Y MÉTODOS

La población femenina asignada es fundamentalmente urbana, ya que la mitad corresponde al municipio de Málaga y la otra mitad a la zona peri-urbana o municipios de la Costa de Sol.

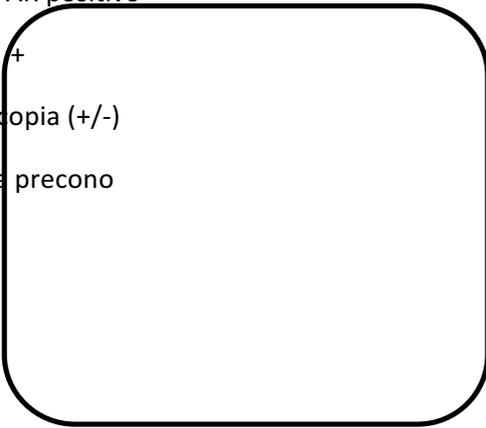
Del total de dicha población, el estudio lo centramos en las mujeres que fueron diagnosticadas de uno o varios genotipos de VPH-AR en la Consulta de Patología del TGI y posteriormente de SIL-AG en la biopsia de la conización y tras el seguimiento en la Consulta de Patología del TGI presentaron persistencia de VPH-AR. A esto le sumamos el estudio de determinados cofactores así como los VPH-BR si los presentaron.

De las 480 conizaciones realizadas en los 5 años del periodo de estudio, la muestra está constituida por 108 casos de mujeres conizadas con el diagnóstico de SIL-AG en la biopsia de la conización y con persistencia de al menos 6 meses de uno o varios genotipos de VPH-AR.

A todas estas mujeres, previa a la conización se les realizó citología, colposcopia, estudio molecular para la determinación de ADN-VPH y biopsia dirigida bajo control colposcópico en la Consulta de Patología del TGI del HUVV (Figura 27).

En todos los casos el diagnóstico fue realizado por el mismo equipo de profesionales que integran la Sección de Citodiagnóstico de la UGC de Anatomía Patológica, y la Unidad de Patología del TGI de la UGC de Obstetricia y Ginecología, del mismo centro hospitalario.

PCR HPV AR positivo

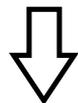


Primera visita

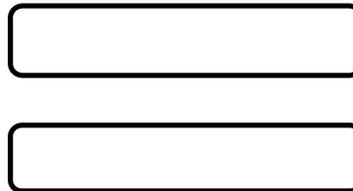
Segunda visita



Quirófano



Distinto genotipo



Persistencia



Tercera visita y posteriores para seguimiento

Figura 27. Esquema de visitas, procedimientos y resultados en el seguimiento de las pacientes en la Consulta de PTGI.

2. METODOLOGÍA DE TRABAJO

Se ha realizado un estudio poblacional, de corte transversal, de tipo observacional y descriptivo (retrospectivo).

2.1. Criterios de inclusión

- Mujeres que tras conización cervical, con resultado SIL-AG/CIN2+, durante los cinco años de estudio (1 julio 2008 a 1 julio 2013) y con hallazgo previo a la conización de VPH-AR mediante determinación de ADN-VPH (con PCR) en consulta y confirmada la persistencia del VPH en el primer control posterior a la conización (mínimo 6 meses después de la misma).
- Todas las mujeres previamente a la conización, que tuviesen estudio citológico, una colposcopia, una determinación de ADN-VPH con resultado de VPH-AR, así como una biopsia dirigida.

2.2. Criterios de exclusión

- Mujeres conizadas con resultado histológico de lesión inferior a SIL-AG/CIN2+.
- Mujeres con sospecha histológica de microinvasión del estroma.
- Pacientes en las que el estudio histológico definitivo del cono fue negativo (cono “en blanco”).
- Pacientes con biopsia de SIL-AG/CIN2+ pero sin persistencia de VPH demostrada a través de PCR en el control postconización.

3. RECOGIDA DE MUESTRAS

La recogida de muestras se realizó a partir de las historias clínicas de las pacientes obteniendo los datos registrados desde la Consulta del TGI de la UGC de Obstetricia y Ginecología del HUVV y a través del número de biopsia correspondiente así como los resultados de las pruebas de ADN-VPH previas y posteriores a la conización registrados por la UGC de Anatomía Patológica del HUVV. El esquema que se había seguido con las pacientes se presenta en la Figura 26.

El estudio se adaptó estrictamente y en todo momento a las leyes de protección de datos y de protección de los derechos de las pacientes.

Todos los datos que pudieran afectar a la intimidad de las pacientes se recogieron en una base de datos protegida. No se hizo referencia alguna a sus nombres ni se les identificó en ningún informe o publicación. El análisis de la información se hizo siempre de forma agregada y nunca individual. Los datos personales se desvincularon permanentemente de los datos clínicos con el fin de proteger la identidad de las participantes (método de “anonomización” de datos). La base de datos del estudio se encontraba protegida electrónicamente con una clave para limitar el acceso únicamente a los investigadores.

4. ESTUDIO CITO-HISTOLÓGICO CONVENCIONAL

El diagnóstico se realizó mediante cuatro pruebas básicas:

- **Citología cervicovaginal**, mediante la triple toma de Wied: exocérvix, fondo de saco vaginal y endocérvix, ésta última con cepillo de Stormby endocervical. Si la paciente ya presentaba una citología anormal, sólo se repitió la citología en el caso en que el intervalo era de tres meses como mínimo (lo contrario sólo aumenta el número de falsos negativos).
- **Colposcopia**. Con ella llevamos a cabo la localización de la lesión, su extensión tanto en el exocérvix como en la vagina, y si se introduce por el canal endocervical o no.
- **Biopsia dirigida por colposcopia**. Si la zona de transformación no es visible porque esté situada en el canal cervical, algunas veces, optamos por realizar una cervico-histeroscopia que permite su visualización, o bien en su defecto, realizamos un legrado endocervical, teniendo en cuenta que el material aquí obtenido suele ser escaso y sin relación con el estroma, por lo que el resultado, en muchos casos, será valorado con reservas¹⁷⁰.
- Técnica de reacción en cadena de la polimerasa (**PCR**) para la detección del ADN del VPH.

Estudio cito-histológico convencional

Las extensiones cervico-vaginales remitidas en portas fijados desde las consultas de Atención Primaria y de Atención Especializada, fueron registradas en la UGC de Anatomía Patológica según datos de filiación (nombre y apellidos, edad, N° de Seguridad Social, NUSSA,...). Tras ello se inició el procedimiento de tinción clásica de Papanicolaou en equipo automatizado Leica® y tras el montaje se realizó el screening por dos citotécnicos, con confirmación posterior del patólogo.

El informe anatomopatológico de la citología cervicovaginal se realizó siguiendo la clasificación Bethesda para interpretación de citología cervicovaginal (Figura 14)¹¹².

Las piezas de biopsia y conización cervical fueron manejadas de la forma convencional para su estudio histopatológico. Se recibieron fijadas en formol marcadas

MATERIAL Y MÉTODOS

las conizaciones con un hilo de sutura a las 12 horas y tras ser seccionadas por dicho punto en sentido cráneo-caudal, se realizaron cortes seriados en sentido horario y fueron divididas en cuadrantes, comprendidos entre las 0 y 3 horas, entre las 3 y 6, entre las 6 y las 9, y finalmente entre las 9 y las 12 horas.

Cada cuadrante fue seccionado en cortes convencionales de un grosor de 2 a 3 mm. Se obtuvieron de 3 a 4 cortes de tejido por cada cuadrante, en total de 12 a 16 cortes por cada cono. Los cortes de tejido fueron procesados y teñidos con Hematoxilina y Eosina (HE) para su estudio histopatológico rutinario.

Los cortes de tejido al microscopio mostraban una superficie recubierta por epitelio escamoso exocervical en uno de sus extremos y en el opuesto epitelio endocervical con invaginaciones glandulares, presentando en la zona central el área de lesión o CIN.

5. DETECCIÓN DEL ADN DEL VPH POR TÉCNICAS DE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

Extracción de ADN genómico

- A partir de tomas citológicas. Se coloca la torunda en 1,5 ml de solución salina (PBS). Se agita la torunda dentro del tubo para que las células pasen al líquido. Se centrifuga a media potencia durante 5 min para que las células decanten al fondo del tubo. Se retira el sobrenadante.
- Se realizaron de 1-4 cortes de 10 micras de cada muestra tumoral (según la cantidad de material presente en cada sección).

La extracción del ADN se realiza en ambos casos de manera automatizada y siguiendo las instrucciones del Maxwell 16 FFPE Tissue LEV DNA Purification kit (Promega®).

Reacción de amplificación e identificación del genotipo

El ADN extraído y purificado se utilizó como molde para detectar la presencia de ADN del HPV mediante amplificación por PCR usando cebadores Gp5-6 específicos de la región consenso L1.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la identificación del tipo de virus se empleó el kit VPH-GenoArray, Master Diagnostica® S.L. Granada, que permite la detección de 17 tipos específicos de VPH de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66/68, 73, 82) y 16 de bajo riesgo (6, 11, 40/61, 42, 43/44, 54/55, 70, 57/71, 72, 81, 84/26). Esta identificación se realiza mediante amplificación por PCR de un fragmento de 450 pb de la región consenso L1 e hibridación reversa con sondas específicas para cada tipo (Figura 28).

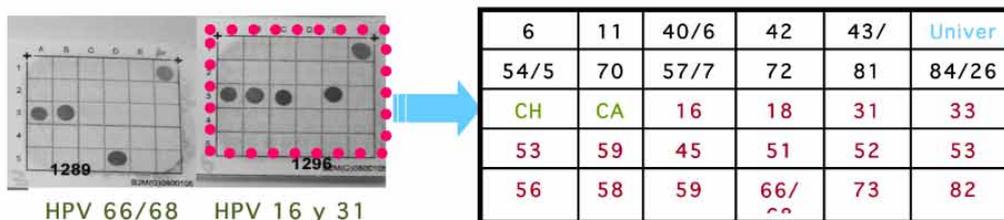


Figura 28. Identificación del genotipo mediante PCR seguida de hibridación en membrana.

6. DESCRIPCIÓN DE LOS PARÁMETROS ESTUDIADOS

Las variables analizadas han sido recogidas de las historias clínicas de las pacientes depositadas en el Servicio de Documentación Clínica del HUVV.

Atendiendo a la naturaleza de la variable, así como su posible relación con nuestra variable principal (persistencia VPH), éstas pueden clasificarse en los siguientes grupos:

A. VARIABLES DEMOGRÁFICAS

- **EDAD:** expresada en años, en el momento de la práctica de la conización cervical, y que aparecía registrada en la historia clínica de la paciente.
- **NACIONALIDAD:** haciendo distinción entre pacientes españolas, procedentes de otros países europeos, América del Sur, y del resto de continentes.
- **MENOPAUSIA:** sí/no. Si la paciente era menopáusica o no en el momento de la cirugía.

B. VARIABLES RELACIONADAS CON LOS COFACTORES DEL CÁNCER DE CUELLO UTERINO

- EDAD DE LA PRIMERA RELACIÓN SEXUAL: expresada en años. En la expresión de los resultados se agrupó: ≤ 15 años, 16 - 20 años, 21-29 años y ≥ 30 años.
- NÚMERO DE PAREJAS SEXUALES: hasta el diagnóstico de la lesión intraepitelial y según confesaba la paciente en el momento de la realización de la anamnesis.
- HÁBITO TABÁQUICO: según estuviese recogido en la historia clínica de la consulta del TGI. No fue posible determinar el número medio de cigarrillos/día, por lo que nos limitamos a recoger: fumadora sí/no; ex fumadora (más de 1 año).
- PARIDAD: número de partos y abortos que constaban en la historia obstétrica en el momento de la intervención quirúrgica.
- ANTICONCEPCIÓN HORMONAL: se han incluido anticonceptivos orales, el parche y el anillo vaginal. Se especificó el tiempo de utilización de los mismos (\geq de 3 años y $<$ de 3 años) que constaba en la historia clínica.
- ESTADO INMUNOLÓGICO: Se han incluido los procesos intercurrentes que más menoscaban las defensas inmunológicas, como infección por VIH, paciente trasplantada en tratamiento con ciclosporina, enfermedades autoinmunes en tratamiento con corticoides, y otros.
- VACUNACIÓN FRENTE AL VPH: si la mujer estaba vacunada o no.

C. VARIABLES DIAGNÓSTICAS

- DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO: basándonos en la clasificación Bethesda. Se registraron los casos con vaginosis bacteriana (VB) asociada.
- BIOPSIA CERVICAL: los resultados de la biopsia cervical dirigida por colposcopia.
- PARÁMETROS DERIVADOS DEL ESTUDIO MOLECULAR DEL VPH: en la base de datos se incluyeron los genotipos obtenidos para cada caso positivo. Los resultados los clasificamos en:

MATERIAL Y MÉTODOS

- VPH positivo o negativo.
- Genotipo VPH-AR y VPH-BR.
- Patrón de infección VPH:
 - Infección simple, cuando la muestra mostró infección por un único genotipo de alto riesgo.
 - Infección múltiple, en los casos en los que se observó más de un genotipo de alto riesgo.

➤ RESULTADOS COLPOSCÓPICOS: se evaluó, en primer lugar, si la colposcopia era adecuada o no. En los casos en los que la colposcopia fue adecuada, se estudió el tipo de ZT, siguiendo la Clasificación de Río de Janeiro de 2011. Los hallazgos colposcópicos anormales se catalogaron como Grado 1 (cambios menores) y Grado 2 (cambios mayores). También se recogieron las imágenes sugestivas de carcinoma invasor.

A continuación localizamos la lesión siguiendo su distribución horaria y describimos el tamaño de la misma (número de cuadrantes). Así como si se introducía o no por el orificio cervical externo (la lesión alcanzaba el canal endocervical).

➤ FECHA DE LA INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA: desde el 1-7-2008 hasta el 1-7-2013.

➤ DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO DEFINITIVO: de las lesiones intraepiteliales cervicales, siguiendo la Clasificación de Richart.

Así como el diagnóstico de la estirpe del tumor: si es una lesión escamosa, glandular, o ambas; y si había o no afectación glandular.

En este trabajo los hallazgos encontrados en el estudio anatomopatológico son todos **SIL-AG**: lesión intraepitelial escamosa de alto grado que agrupa las HSIL/CIN2, CIN3 y carcinoma “in situ”.

➤ VARIABLES RELACIONADAS CON EL OPERADOR- CIRUJANO: MIR, adjunto novel (experiencia < 10 años) o bien adjunto experto (\geq 10 años).

D. VARIABLES DE SEGUIMIENTO

➤ **INFECCIÓN PERSISTENTE POR VPH-AR EN EL CONTROL POSTOPERATORIO:** se estableció dicho control de ADN-VPH a los 6 meses de la conización, y a los 12 meses (si persistía positivo), mediante la técnica de PCR. Si este último PCR continúa positivo, se repite a los 24 meses de la intervención quirúrgica.

En nuestro estudio la determinación de ADN-VPH con resultado VPH-AR ha sido agrupada en dos categorías para el análisis estadístico:

- **Persistencia VPH-AR**
- **No persistencia VPH-AR**

Las pacientes que desarrollaron persistencia VPH-AR postconización se compararon con una muestra de 86 mujeres, seleccionadas de forma aleatoria del total de las 372 mujeres sin persistencia vírica, a las que se les practicó una conización cervical en nuestra Unidad de Patología del TGI y no desarrollaron persistencia VPH-AR posterior a la misma.

➤ **ANÁLISIS DE LOS TRATAMIENTOS QUIRÚRGICOS COMPLEMENTARIOS:** si la paciente los recibió o no, en función del diagnóstico histológico definitivo del cono y de otros parámetros clínicos o los cofactores. Estos tratamientos fueron: reconización, histerectomía total, simple o ampliada. También se registró el diagnóstico de la estirpe tumoral: escamoso, glandular o ambos, o si la biopsia definitiva fue negativa.

➤ **SEGUIMIENTO CLÍNICO:** expresado en meses, en nuestra Unidad de Patología del TGI, desde la realización de la conización hasta el cierre del trabajo de investigación, el 1 de Julio de 2015.

7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

La valoración de los resultados se ha realizado mediante pruebas estadísticas descriptivas y analíticas o inferenciales. La información se procesó mediante el programa informático para bases de datos Microsoft Excel®, y para el análisis de datos se ha empleado el programa estadístico Statistical Package for the Social Sciences® (SPSS, versión 22.0) para Windows.

7.1. Estadística Descriptiva

Nuestra memoria es un estudio poblacional, de tipo observacional (de corte transversal) para evaluar en primer lugar la prevalencia de persistencia VPH tras conizaciones por lesiones SIL-AG/CIN2+, y en segundo lugar, estudiar los cofactores con posible asociación a la misma, en mujeres que previamente fueron al médico de familia o al ginecólogo a someterse a una citología para el cribado de cáncer de cérvix, en Málaga, y que resultó patológica. Posteriormente, tras la realización de estudio colposcópico y biopsia los resultados obligaron a la práctica de una conización. Por ello, los resultados que obtengamos del análisis estadístico de esta muestra, no serán extrapolables a la población general.

Hemos realizado, en primer lugar y con intención de obtener una valoración global de nuestra serie, un análisis descriptivo del total de variables, en el que se ha procedido de la siguiente manera:

- **Variables cualitativas:** para este conjunto de parámetros se han calculado las tablas de frecuencia con las respectivas frecuencias absolutas y porcentajes.
- **Variables cuantitativas:** para el conjunto de naturaleza numérica se han determinado los estadísticos de tendencia central y dispersión usuales (media, desviación típica, rango, etc.).

7.2. Estadística Analítica o Inferencial

Para contrastar las posibles asociaciones entre dos o más variables y la intensidad de esa asociación se ha utilizado el siguiente criterio:

MATERIAL Y MÉTODOS

- Para el análisis comparativo de una variable numérica entre dos grupos independientes que siguen una distribución normal, se ha utilizado el test t-Student. En todos los casos se ha contemplado la homocedasticidad (igualdad de varianzas).
- Cuando hemos tratado de comparar más de dos grupos de una variable cuantitativa, el análisis se ha realizado utilizando el Análisis de la Varianza (ANOVA), en los casos en que la variable ha seguido una distribución normal. En las situaciones en las que las condiciones de normalidad y/u homocedasticidad (igualdad de la varianza) hayan sido violadas, se ha utilizado el test no paramétrico Kruskal-Wallis.
- Para el estudio de las relaciones entre variables cualitativas se ha utilizado las tablas de contingencia para su descripción, y el test Chi-cuadrado como test de independencia/homogeneidad.

En todos los casos se ha considerado la existencia de significación estadística a aquella con $p \leq 0.05$, y el intervalo de confianza se estableció en el 95%.

RESULTADOS

A. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

De las 480 conizaciones practicadas en la UGC de Obstetricia y Ginecología del HUVV de Málaga, durante el período analizado (2008-2013), consta en las historias clínicas que se practicó la determinación de ADN-VPH (mediante PCR) a los 6 meses de la intervención a todas las pacientes del estudio. Del total de éstas, persistían positivos 108 casos (22,5%) y se compararon con una muestra de 86 mujeres, seleccionadas de forma aleatoria del total de las 372 mujeres sin persistencia vírica.

1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LOS DATOS DEMOGRÁFICOS

1.1. Edad

La edad media de las pacientes con persistencia VPH-AR tras conización por SIL-AG fue de 36,88 años, con un rango entre 20 y 66 años (Tabla 5).

Tabla 5. Parámetros descriptivos de la edad.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Edad (años)	108	20	66	36,88	10,56

Hemos agrupado a las pacientes de nuestro estudio en grupos de edad de la siguiente forma:

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

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 6.

RESULTADOS

Tabla 6. Grupos de edad (frecuencia absoluta y relativa).

Edad (años)	N	Porcentaje (%)
20-30	35	32,4
31-40	39	36,1
41-50	22	20,4
>50	12	11,1
Total	108	100,0

Analizando dichas edades de la muestra, destaca el aumento de la frecuencia a partir de los 30 años. El 56,5% de las mujeres pertenecen al grupo de edad que comprende desde los 31 a los 50 años. Así se aprecia una disminución acusada de la misma a partir de los 50 años de edad (Figura 29).

□

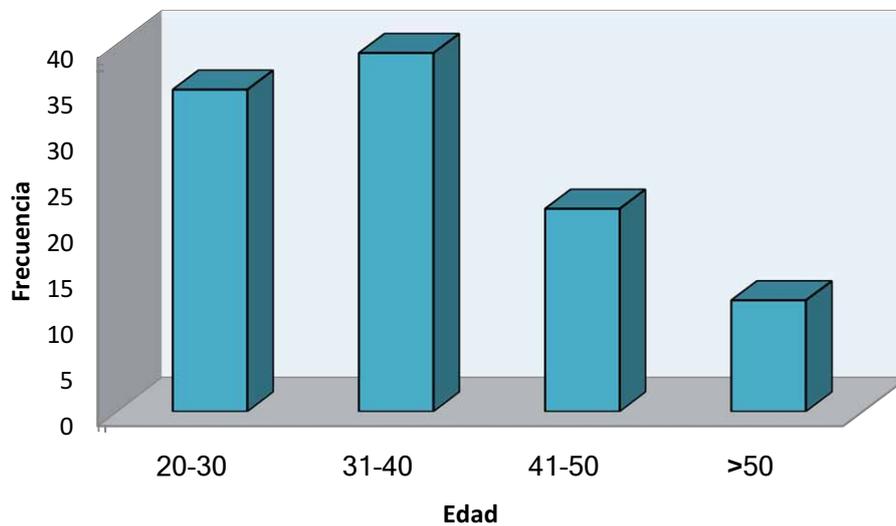


Figura 29. Distribución por edad (grupos etáreos).

1.2.Nacionalidad de las pacientes

Analizando la procedencia de nuestras pacientes, obtenemos que la mayoría, concretamente el 87% (n= 94) son de nacionalidad española (Tabla 7). El segundo grupo mayoritario son las pacientes procedentes de América del Sur (6,5 %).

Tabla 7. Nacionalidad de las pacientes.

NACIONALIDAD	N	Porcentaje (%)
ESPAÑOLA	94	87,0
AMÉRICA DEL SUR	7	6,5
RESTO DE EUROPA	4	3,7
RESTO DE CONTINENTES	3	2,8
Total	108	100,0

En el siguiente gráfico se puede observar la distribución de las pacientes en función de su procedencia (Figura 30):

▫

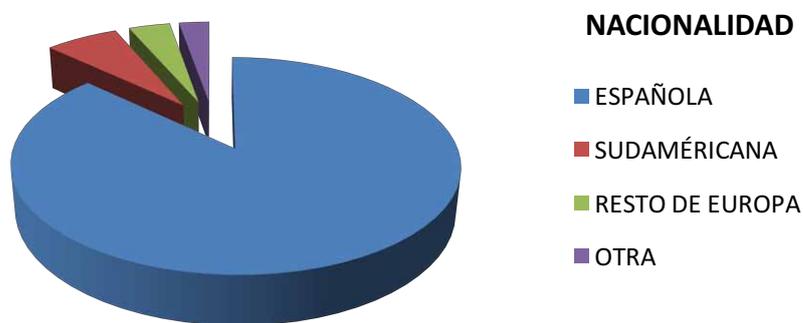


Figura 30. Distribución de la nacionalidad de las pacientes.

RESULTADOS

1.3. Menopausia

Del total de las 108 mujeres, 15 pacientes (13,9%) eran menopáusicas en el momento del diagnóstico, frente a 93 (86,1%) que no lo eran (Figura 31).

□

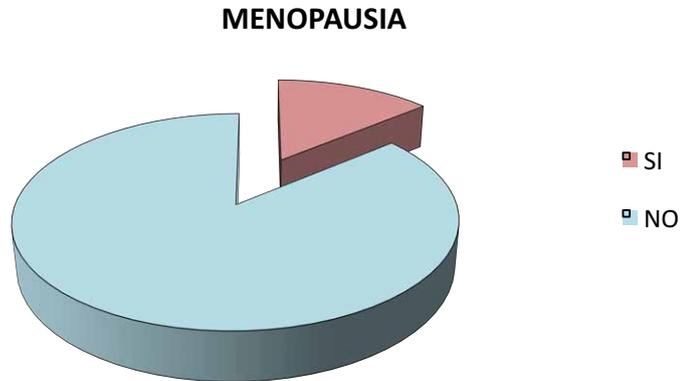


Figura 31. Estado menopáusico de las pacientes.

2. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LOS COFACTORES DEL CÁNCER DE CUELLO UTERINO

2.1. Cofactores de adquisición de la infección por VPH

2.1.1. Edad de la primera relación sexual

Analizando la edad media de la “coitarquia” o edad de inicio de las relaciones heterosexuales con penetración, de nuestra muestra estudiada, encontramos que dicha edad fue a los 17,82 años, con un rango comprendido entre 14 y 34 años (Tabla 8).

Tabla 8. Parámetros descriptivos de la edad del primer coito.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
“Coitarquia” (años)	108	14	34	17,82	2,59

RESULTADOS

En la Figura 32 se muestra la distribución de la edad del inicio de las relaciones sexuales en nuestra muestra:

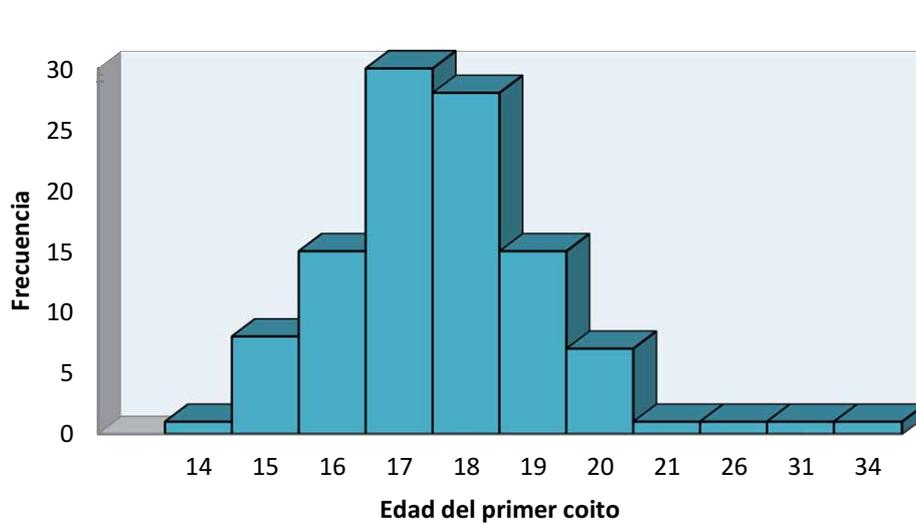


Figura 32. Histograma de la edad de inicio de las relaciones sexuales.

El rango de los 16 a los 20 años de edad de inicio de las relaciones sexuales engloba el 88% del total de casos estudiados, siendo la edad más frecuente a los 17 años.

2.1.2. Número de parejas sexuales

Hemos recogido el número de parejas sexuales que constaba en la historia clínica de las pacientes, en la Tabla 9 se muestran los resultados:

Tabla 9. Parámetros descriptivos del número de parejas sexuales.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Nº parejas sexuales	108	1	6	2,49	1,05

En nuestro estudio la media de parejas sexuales es 2,49 con un rango de 1 a 6 parejas.

RESULTADOS

En la Tabla 10 y Figura 33 se muestra el número de parejas sexuales de nuestra muestra. Encontramos que el 38,9% de las mujeres (n=42) con persistencia vírica han tenido dos parejas.

Tabla 10. Número de parejas sexuales

		N	Porcentaje (%)
Nº parejas sexuales	1	17	15,7
	2	42	38,9
	3	34	31,5
	4	10	9,3
	5	4	3,7
	6	1	0,9
	Total	108	100,0

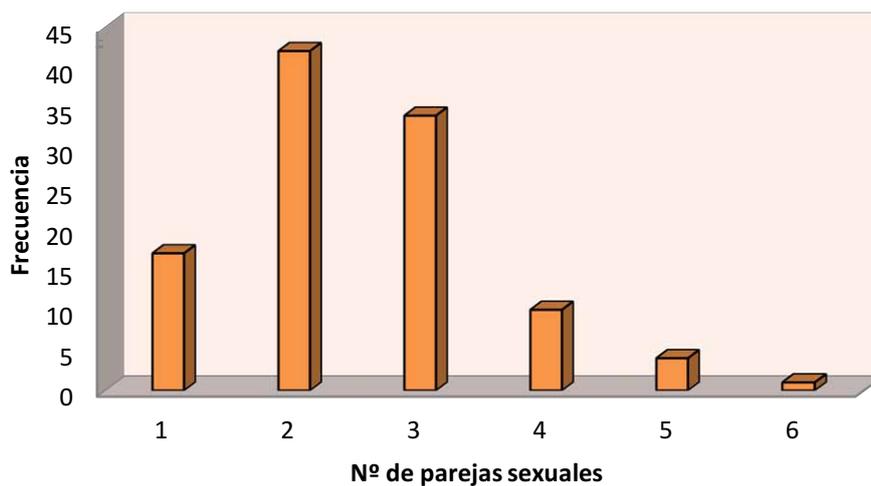


Figura 33. Número de parejas sexuales.

2.2.Cofactores implicados en la carcinogénesis cervical

2.2.1. Tabaco

El 54,6% de las pacientes con persistencia VPH-AR tras conización eran fumadoras en el momento del diagnóstico, el 36,1% no fumaban y el 9,3% pertenecían al grupo de ex-fumadoras (un año o más sin fumar) (Figura 34).

□

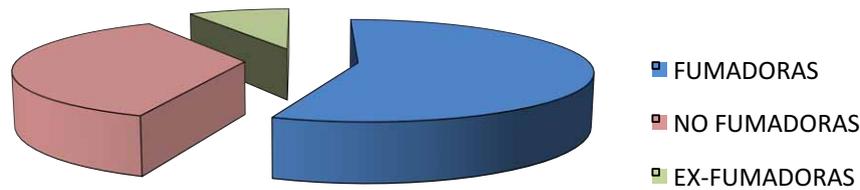


Figura 34. Consumo de tabaco.

2.2.2. Paridad

El número medio de partos por mujer con persistencia VPH-AR fue de 1,12 partos, con un rango entre 0 y 5 partos. En cuanto al número de abortos, previos al diagnóstico, se dieron un total de 31. En relación al total de la muestra obtenemos una media de 0,44 abortos por paciente, cuyo rango abarca de 0 a 3 abortos.

La Tabla 11 y la Figura 35 muestran la distribución del número de partos en las mujeres de nuestra muestra.

RESULTADOS

Tabla 11. Distribución de frecuencias del número de partos.

		N	Porcentaje (%)
Nº partos	0	45	41,7
	1	21	19,4
	2	17	15,7
	3	13	12,0
	4	2	1,9
	5	2	1,9
	Total	100	92,6
Nº cesáreas	Total	8	7,4
Total		108	100,0

En nuestro estudio el 41,7% (n=45) de las mujeres eran nulíparas. Por otra parte, la tasa de múltiparas (≥ 2 partos) lo constituían el 31,5 % (n= 34). A su vez, se aprecia la baja tasa de cesareas (7,4%) en las pacientes con persistencia VPH-AR tras la conización.

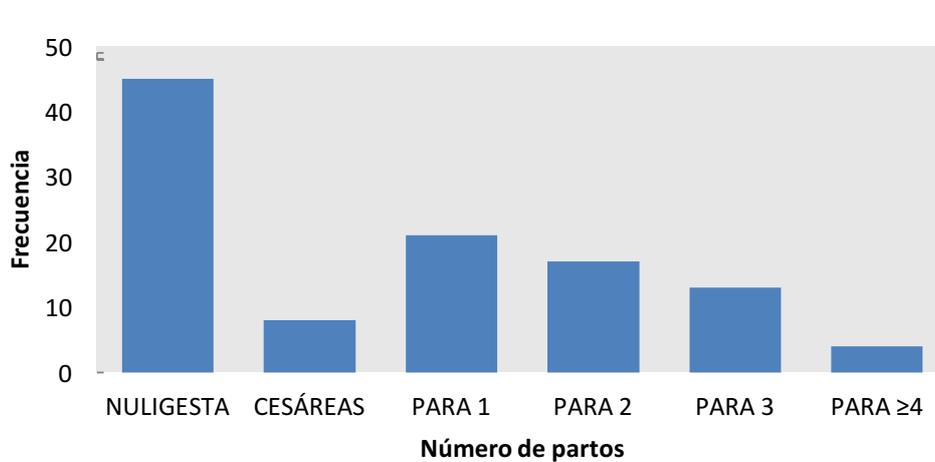


Figura 35. Distribución del número de partos.

2.2.3. Anticonceptivos hormonales

En nuestra muestra el 41,7% de las mujeres usaron anticoncepción hormonal oral, y de éstas, el 25% desde hace 3 años o más, frente al 16,7% que lo usaban desde hace menos de 3 años, y el 58,3% que no lo habían empleado nunca (Figura 36).

□

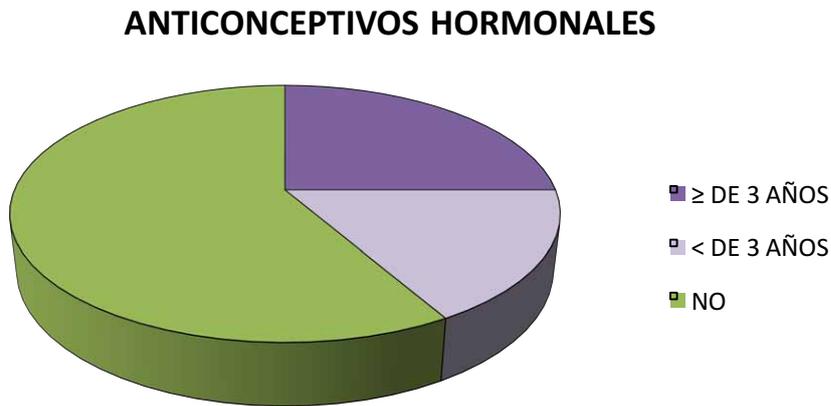


Figura 36. Utilización de anticoncepción hormonal.

2.2.4. Estado inmunológico

En cuanto al estado inmunológico, en 26 casos (24,1%) presentaban un estado de inmunodepresión, frente al 75,9% del resto de pacientes de la muestra, que constaban normales. De los 26 casos, 5 mujeres eran portadoras del VIH (4,6%), 15 mujeres habían sido sometidas a un trasplante (13,9%) y 6 pacientes (5,6%) padecían otros estados de inmunosupresión (Figura 37).

RESULTADOS

□

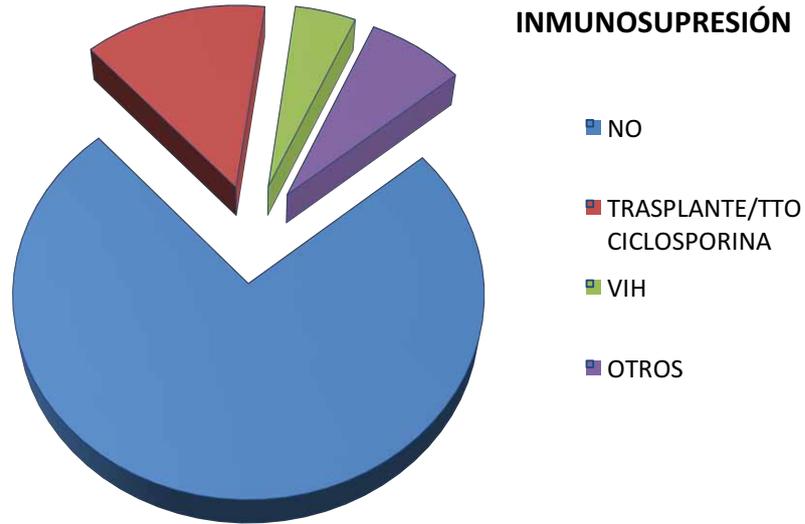


Figura 37. Estado de inmunosupresión.

Independientemente del estado inmunitario de las pacientes de nuestra muestra, sólo 8 mujeres (7,4%) estaban vacunadas frente al VPH, y 100 (92,6%) no lo estaban (Figura 38).

□

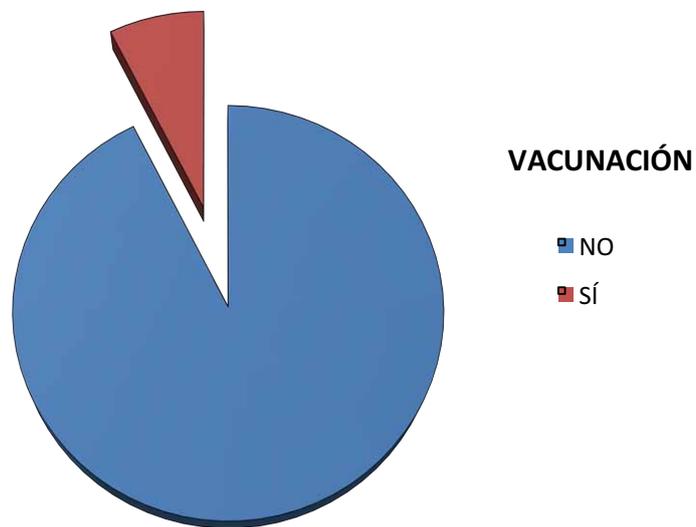


Figura 38. Vacunación frente al VPH.

RESULTADOS

3. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

3.1. Diagnóstico citológico

En 77 casos (71,3%) el resultado del cribado fue H-SIL, y en 1 caso (0,9%) fue ASC-H y ASC-US, respectivamente. En 26 de ellos (24,1%) fue L-SIL y 2 casos (1,9%) de AGC. Hubo 1 caso (0,9%) de falso negativo citológico (Tabla 12).

En la citología diagnóstica se detectó vaginosis bacteriana en 15 casos (13,9%).

Tabla 12. Diagnóstico citológico.

		N	Porcentaje (%)
Diagnóstico citológico	H-SIL	77	71,3
	ASC-H	1	0,9
	L-SIL	26	24,1
	ASC-US	1	0,9
	AGC	2	1,9
	NORMAL	1	0,9
	Total	108	100,0

3.2. Punch biopsia cervical dirigida por colposcopia

Los resultados de la biopsia de cérvix dirigida por colposcopia se muestran en la Tabla 13. En 100 casos (92,6%) el diagnóstico fue SIL-AG y en 1 caso (0,9%) el informe fue SIL-BG.

RESULTADOS

Tabla 13. Biopsia cervical dirigida por colposcopia.

		N	Porcentaje
BIOPSIA CÉRVIX	NO VALORABLE	4	3,7
	SIL-BG	1	0,9
	SIL-AG	100	92,6
	NEGATIVA	3	2,8
	Total	108	100,0

3.3. Diagnóstico molecular del VPH

A. Infección por VPH

El diagnóstico molecular del VPH preconización se practicó en las 108 mujeres del estudio que desarrollaron persistencia VPH-AR postcono.

Los resultados de ese diagnóstico molecular fueron: 89 casos (82,4%) de VPH-AR y 19 casos (17,6%) de VPH-AR y BR (Tabla14).

**Tabla 14. Descriptores de infección por VPH
(resultados del estudio molecular).**

		N	Porcentaje (%)
RIESGO INFECCIÓN VPH	ALTO RIESGO	89	82,4
	ALTO+BAJO RIESGO	19	17,6
	Total	108	100,0

RESULTADOS

Con respecto al tipo de infección, en 46 casos (42,6%) se detecta infección simple por VPH y en los 62 casos restantes (57,4%) se identifica infección por varios VPHs (Tabla 15).

Tabla 15. Descriptores de tipo de infección VPH.

		N	Porcentaje (%)
TIPO INFECCIÓN VPH	MÚLTIPLE	62	57,4
	SIMPLE	46	42,6
	Total	108	100,0

B. Genotipo del VPH

En el genotipado del VPH hemos seguido la clasificación de Muñoz²⁵ del año 2003:

- **VPH de alto riesgo**: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 82 y 73.
- **VPH de probable alto riesgo**: 26, 53 y 66.
- **VPH de bajo riesgo**: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 y CP6108.
- **VPH de riesgo indeterminado**: 34, 57 y 83.

En la Tabla 16 y Figura 39 hemos recogido los genotipos del VPH hallados en el examen preconización.

El VPH-AR que se encuentra con mayor frecuencia es el VPH 16, en 63 casos (58,3%), seguido del VPH 31 en 23 casos (21,3%), el VPH 51 en 14 casos (13%) y del VPH 33 en 11 casos (10,2%). En el 8,3% de los casos se detectó infección por VPH 18. No hubo ninguna paciente con el diagnóstico de VPH 26 previo a la conización.

RESULTADOS

Tabla 16. Genotipos del VPH preconización (frecuencia absoluta y relativa).

VPH	N	Porcentaje (%)
16	63	58,3
31	23	21,3
51	14	13
33	11	10,2
58, 68, 53*	10	9,3
18, 66*	9	8,3
52, 39, 35, 59	6	5,6
73	5	4,6
45, 56	4	3,7
82	3	2,8
Indeterminados (34,57,83)	1	0,9
26*	0	0,0

*Probable Alto Riesgo.

□

GENOTIPOS VPH PRECONIZACIÓN

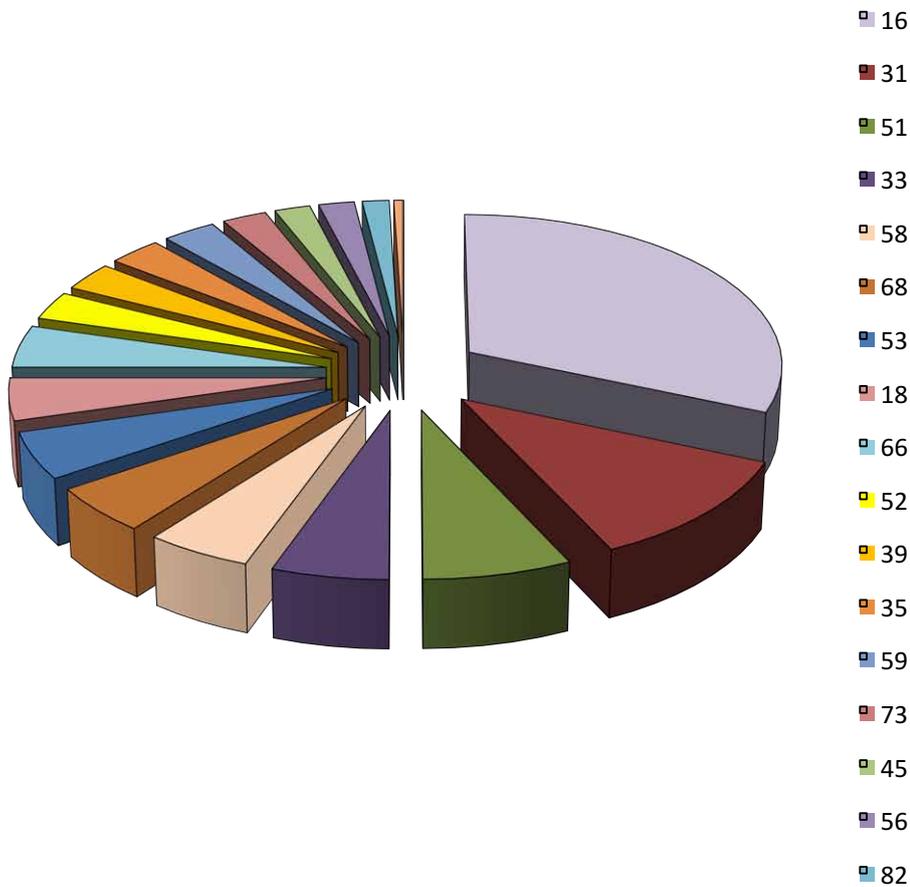


Figura 39. Genotipos del VPH preconización.

En cuanto a la infección por VPH-BR preconización se dio en 19 mujeres (17,6%) junto a algún genotipo VPH-AR. De ellos, el más frecuente fue el VPH 6 con 7 casos (6,5%) seguido del VPH 40 con 4 casos (3,7%). Del VHP 11 hubo sólo 2 casos, y los genotipos VPH 40 y 61 se dieron en forma de multiinfección en 2 casos.

En lo que a la infección multigenómica preconización se refiere, encontramos 62 casos (57,4%) dentro de las mujeres que desarrollaron persistencia VPH postconización. Estas infecciones multigenómicas preconización se distribuyen de la siguiente forma (Figura 40):

- VPH 16 y otros VPH-AR: 23 casos (37,1%).

RESULTADOS

- Varios VPH-AR: 16 casos (25,8%).
- VPH 16 y 18: 2 casos (3,2%).
- VPH 16 y VPH-BR: 2 casos (3,2%).
- VPH 16, otros VPH-AR y VPH-BR: 8 casos (12,9%).
- Otros VPH-AR y VPH-BR: 9 casos (14,6%).
- VPH 18 y otros VPH-AR: 2 casos (3,2%).
- VPH 18 y VPH-BR: 0 casos (0,0%).

□

VPH-INFECCIONES MÚLTIPLES PRECONIZACIÓN

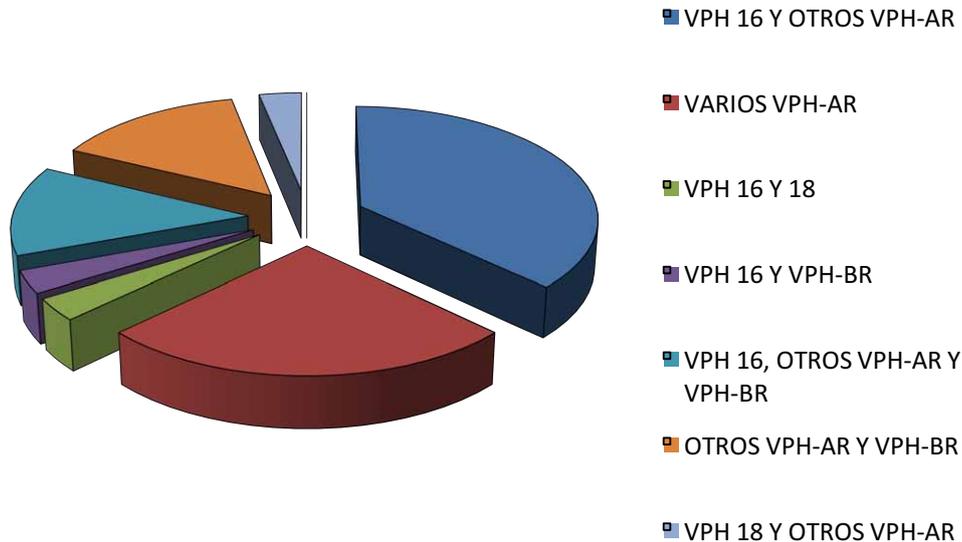


Figura 40. VPH en infecciones multigenómicas preconización.

Si observamos los genotipos VPH en las mujeres de nuestro estudio según la nacionalidad encontramos que los más frecuentes de cada grupo son:

- Española: VPH 16, 68, 66, 31, 18.
- América del Sur: VPH 16, 33, 58, 68, 82.
- Resto de Europa: VPH 16, 51, 66.
- Resto de continentes: VPH 31, 58, 53.

RESULTADOS

Entre las 94 mujeres de nacionalidad española de nuestra serie, destaca la alta frecuencia de genotipos VPH-BR asociados a genotipos VPH-AR persistentes, concretamente 28 casos.

De las 15 pacientes menopáusicas hubo 7 casos de multiinfección, de los cuales 6 casos eran asociación de genotipos VPH-AR y VPH-BR, y 1 caso por genotipos VPH-AR.

Si analizamos los genotipos VPH en este grupo de mujeres menopaúsicas, observamos en orden de frecuencia: VPH 16 (5 casos), VPH 51 (3 casos) y VPH 56 (2 casos).

3.4. Diagnóstico colposcópico

A. Colposcopia diagnóstica

La colposcopia se realizó en 104 casos (96,3%) y no constaba en la historia clínica en 4 casos (3,7%).

El examen colposcópico resultó patológico o positivo en 90 casos (86,5%), normal o negativo en 11 casos (10,6%), e inadecuado o unión escamocolumnar no visible en 3 casos (2,9%) (Tabla 17)

Tabla 17. Resultados del examen colposcópico.

		N	Porcentaje (%)
Colposcopia	Positiva	90	86,5
	Negativa/Normal	11	10,6
	Inadecuada/UEC no visible	3	2,9
	Total	104	100,0

RESULTADOS

Siguiendo la Clasificación de Río de Janeiro de 2011, en 10 casos (9,6%) los hallazgos colposcópicos eran de Grado 1 o cambios menores, y en 80 casos (76,9%) eran de Grado 2 o cambios mayores (Figura 41).

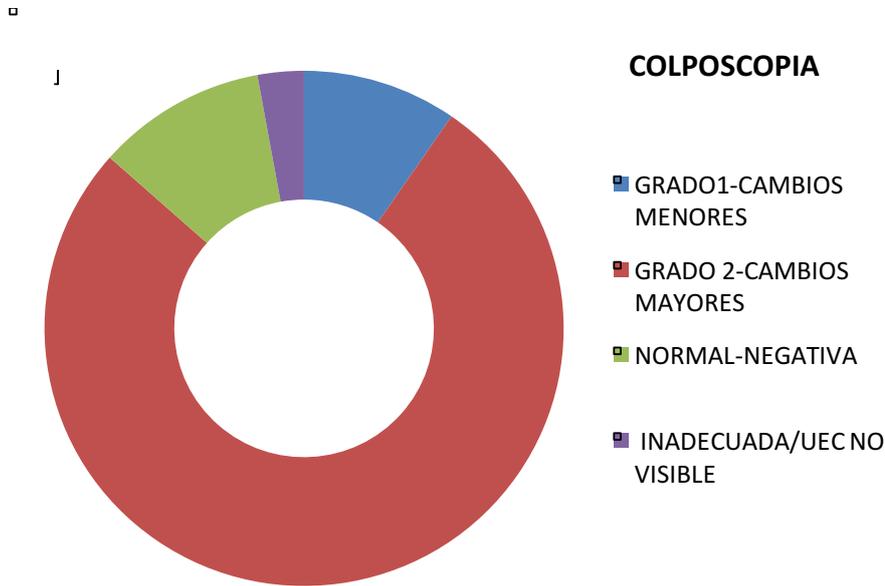


Figura 41. Distribución de los hallazgos colposcópicos.

B. Localización de las lesiones colposcópicas

Si tomamos como referencia las agujas de un reloj, del total de las 90 colposcopias patológicas (86,5%), la mayoría de las lesiones se localizaban a las 12 h. con 22 casos (21,2%), y a las 3 y 6 h. con 18 casos (17,3%) cada una. Le siguen las 9 h. con 17 casos (16,4%), y las 2, 7 y 10 h. con 3 casos (2,9%) cada una. En orden decreciente están las 4 y 11 horarias con 2 casos (1,9%), y las 1 y 8 h. con 1 caso (0,9%). No se registró ningún caso de lesión a las 5 h. (Figura 42).

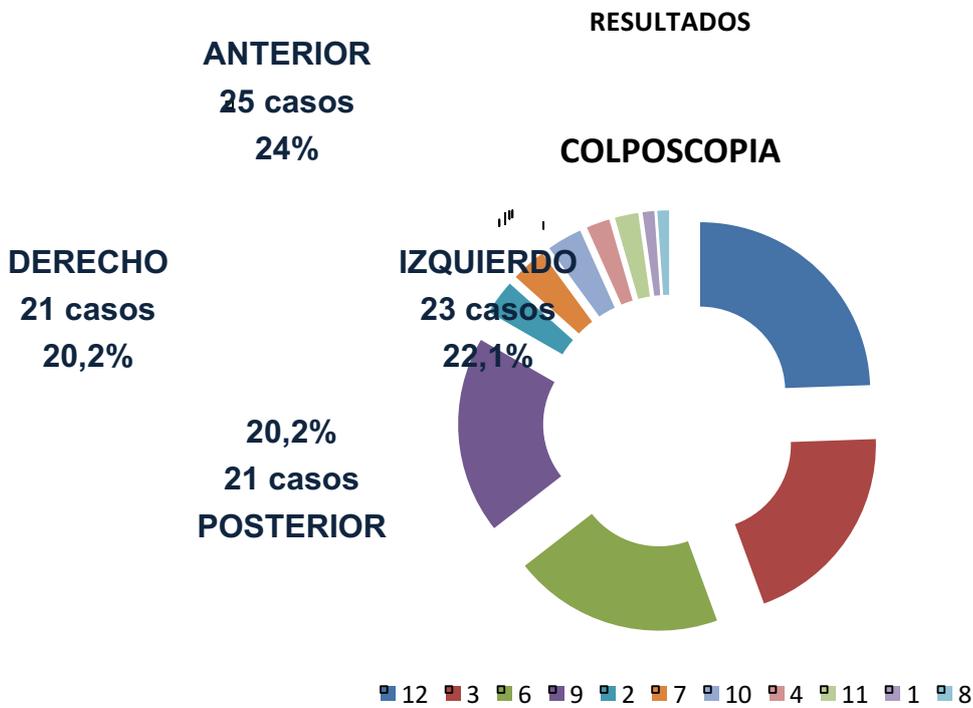


Figura 42. Localización horaria de las lesiones colposcópicas.

Esta localización, siguiendo la esfera horaria, recogida por cuadrantes resultó con la siguiente distribución: en el cuadrante anterior se localizaron 25 casos (24%), en el cuadrante posterior y en el derecho 21 casos (20,2%), cada uno, y en el izquierdo 23 casos (22,1%) (Figura 43). En 18 casos (16,7%) no constaba dicha localización.

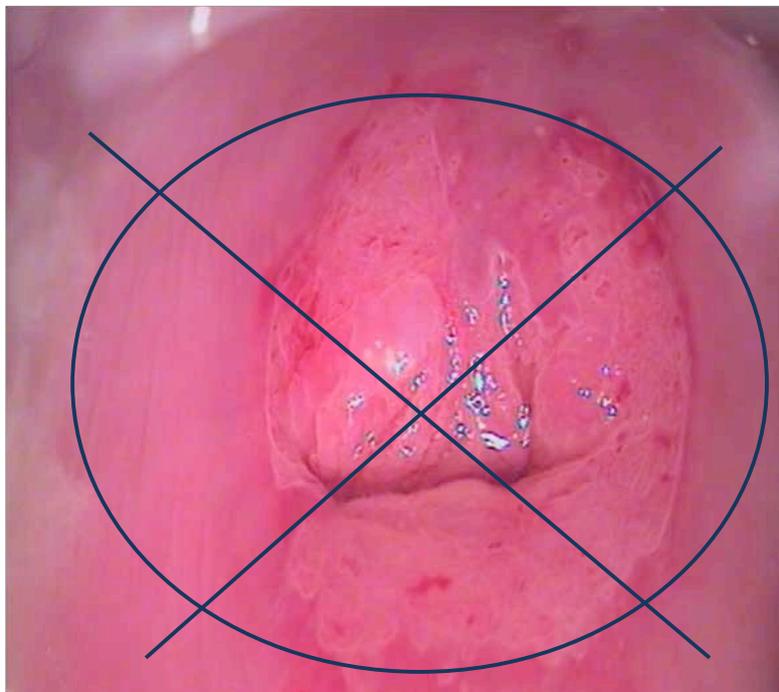


Figura 43. Localización por cuadrantes de las lesiones colposcópicas.

RESULTADOS

C. Tamaño de la lesión colposcópica

La lesión colposcópica ocupaba un solo cuadrante en 63 casos (70%), 2 cuadrantes en 15 casos (16,7%), 3 cuadrantes en 4 casos (4,4%) y 4 cuadrantes en 8 casos (8,9%). En 18 casos no se pudo conocer la extensión de la lesión (Tabla 18).

Tabla 18 . Tamaño de la lesión colposcópica.

		N	Porcentaje (%)
Tamaño de la lesión colposcópica	1 cuadrante	63	70,0
	2 cuadrantes	15	16,7
	3 cuadrantes	4	4,4
	4 cuadrantes	8	8,9
Total		90	100,0

D. Afectación colposcópica del canal endocervical

Se observó que la lesión colposcópica penetraba por el orificio cervical externo en 8 casos (7,4%) frente a 96 casos (88,9%) que no se introducía por el canal endocervical. En 4 casos (3,7%) no constaba el informe de la colposcopia en la historia clínica (Figura 44).

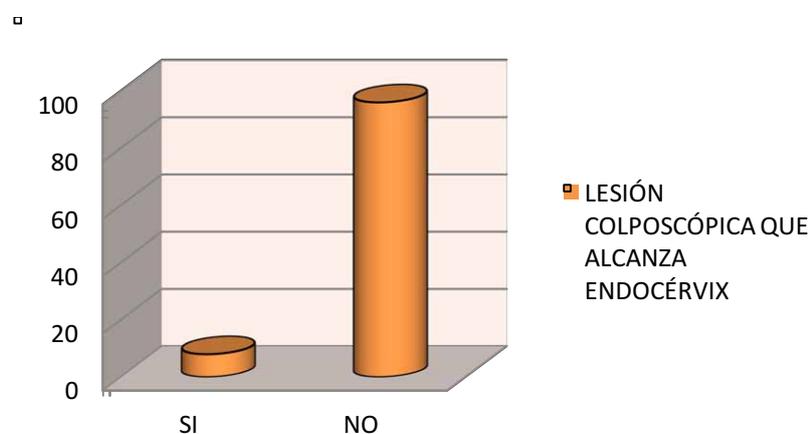


Figura 44. Lesión que alcanza endocérnix colposcópicamente.

3.5. Diagnóstico anatomopatológico del cono

A. Margen quirúrgico

En nuestra muestra de 108 conizaciones con persistencia VPH-AR tras tratamiento por SIL-AG hubo afectación de los márgenes quirúrgicos en 26 casos (24,1%), y en 82 casos (75,9%) los bordes estaban indemnes de lesión escamosa (Figura 45).

□

MARGEN QUIRÚRGICO AFECTADO

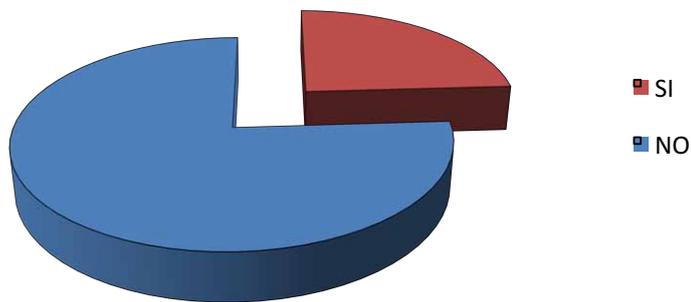


Figura 45. Afectación de los bordes quirúrgicos.

B. Localización de la afectación de los márgenes quirúrgicos

La localización topográfica de dicha afectación fue el borde endocervical en 18 casos (16,7%), el exocervical en 6 casos (5,6%) y ambos bordes (endo y exocérvix) en 2 casos (1,8%) (Figura 46).

□

LOCALIZACIÓN DE LA AFECTACIÓN DEL BORDE

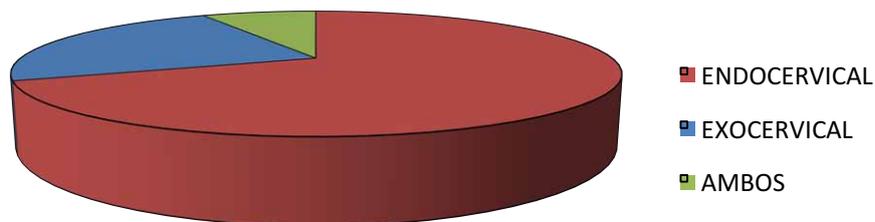


Figura 46. Localización de la afectación de los bordes quirúrgicos.

C. Estirpe histológica

La estirpe histológica de la conización fue una lesión escamosa en 107 casos (99,1%) y glandular en 1 caso (0,9%).

D. Afectación glandular

La afectación glandular, en el informe histológico de las piezas de conización, ocurrió en 36 casos (33,3%), y no estaba presente dicha afectación en 72 casos (66.7%).

E. Cirujano responsable de la conización

En 25 ocasiones (23,1%) la conización fue realizada por un MIR de la UGC, en 27 casos (25%) por un FEA de menos de 10 años de antigüedad en la UGC y, por último, 56 conizaciones (51,9%) fueron efectuadas por un FEA con más de 10 años de antigüedad en dicha Unidad (Figura 47).

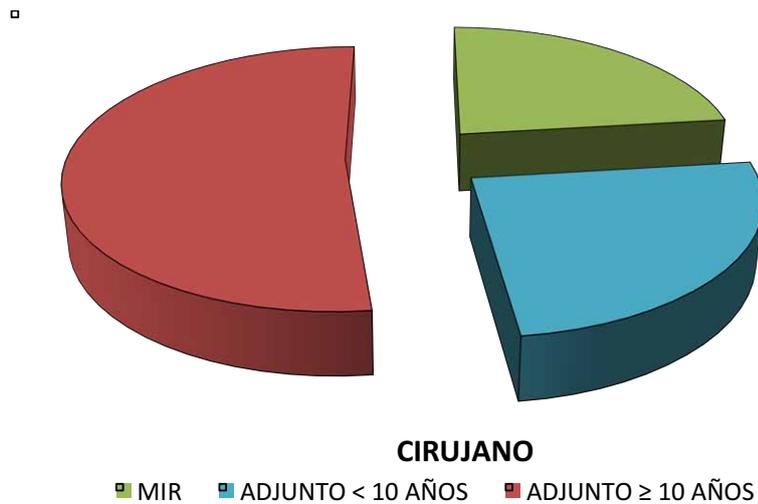


Figura 47. Cirujano responsable de la conización.

4. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LAS VARIABLES DE SEGUIMIENTO

4.1. Persistencia de la infección por VPH tras tratamiento

A. Infección por VPH postconización

A los 6 meses del tratamiento quirúrgico, se les realizó la determinación molecular del VPH a todas las pacientes del estudio (tanto a las que desarrollaron infección persistente como a las que no lo hicieron).

En los 5 años del periodo de estudio, de las 480 conizaciones realizadas se detectaron 108 casos de persistencia vírica global del VPH que constituyen el 22,5%.

Los resultados del diagnóstico molecular del VPH postratamiento en el grupo de mujeres que desarrollaron persistencia postconización fueron: 79 casos (73,1%) de VPH-AR, y 29 casos (26,9%) de VPH-AR y BR (Tabla 19).

La multiinfección se dio en 46 casos (42,6%) y la infección simple en 62 casos (57,4%).

Tabla 19. Descriptores de infección por VPH postconización en los casos persistentes.

		N	Porcentaje (%)
PERSISTENCIA INFECCIÓN VPH POSTCONO	ALTO RIESGO	79	73,1
	ALTO+BAJO RIESGO	29	26,9
	Total	108	100,0

RESULTADOS

B. Genotipo del VPH postconización

El genotipo que más persistía a los 6 meses tras la conización fue el VPH 16, en 37 casos (34,3%), seguido del VPH 68 en 15 casos (13,9%) y el VPH de riesgo indeterminado, en 12 casos (11,1%). A continuación el VPH 66 en 9 casos (8,3%), el VPH 31 en 8 casos (7,4%), y los VPH 18 y 51 en 7 casos (6,5%) cada uno. Por último, los VPH 33, 73 y 53 aparecieron en 18 casos en total (6 casos de cada uno, 5,6%). También se detectaron 29 casos (26,9%) de persistencia de VPH-BR (Tabla 20 y Figura 48).

Tabla 20. Genotipos del VPH postconización (frecuencia absoluta y relativa).

VPH	N	Porcentaje (%)
16	37	34,3
Bajo Riesgo	29	26,9
68	15	13,9
Indeterminado	12	11,1
66*	9	8,3
31	8	7,4
18, 51	7	6,5
33, 73, 53*	6	5,6
58	5	4,6
35, 56	4	3,7
45, 26*	3	2,8
39, 52, 82	2	1,9
59	1	0,9

*Probable Alto Riesgo.

□

GENOTIPOS VPH POSTCONIZACIÓN

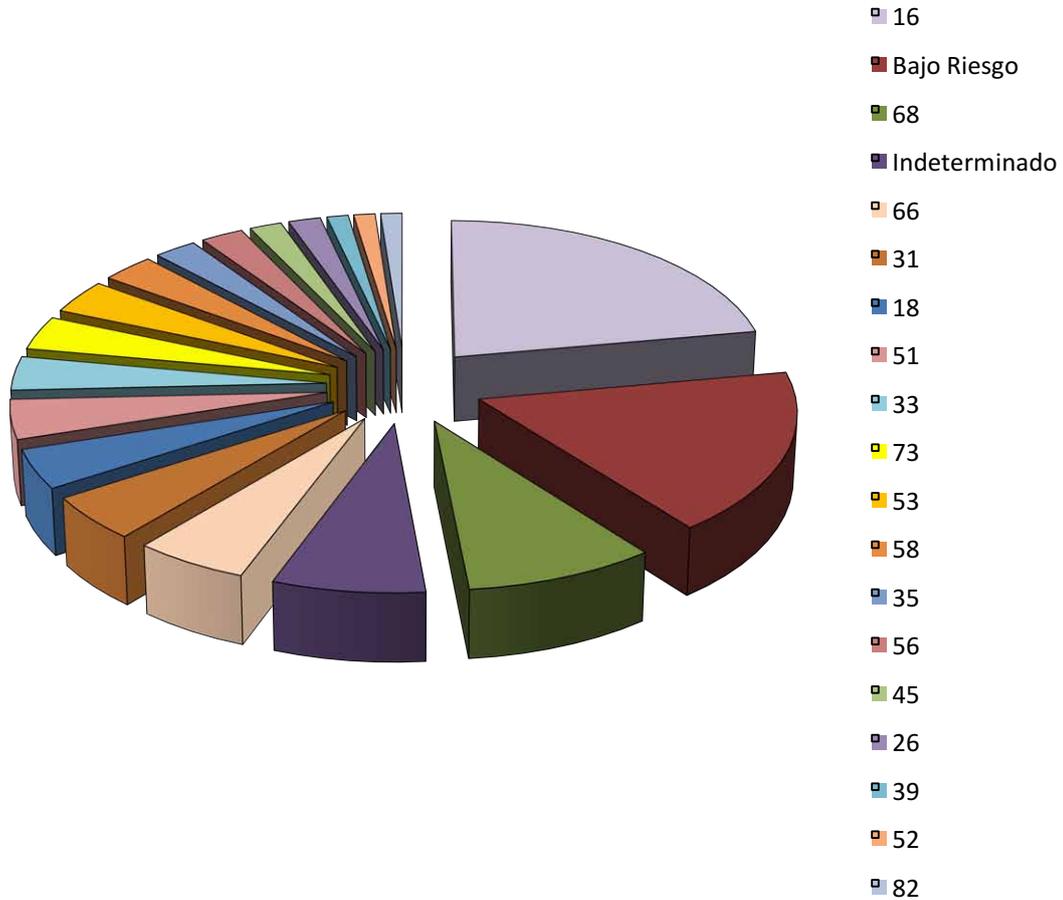


Figura 48. Genotipos del VPH postconización.

Según la clasificación por especie del VPH de de Villiers²¹, la especie $\alpha 9$ comprende los genotipos VPH 16, 31, 33, 35, 52 y 58; la especie $\alpha 7$ incluye los genotipos VPH 18, 39, 45, 59 y 68; la especie $\alpha 5$ abarca los genotipos VPH 26, 51, 69 y 82, y la especie $\alpha 6$ agrupa a los genotipos 30, 53, 56 y 66.

Se han organizado los casos de persistencia postconización según dicha clasificación y por tiempo de persistencia, excluyendo los genotipos de probable alto riesgo (VPH 26, 53 y 66) según la clasificación de Muñoz²⁵, y encontramos los siguientes resultados (Figura 49):

RESULTADOS

- Especie $\alpha 9$: 62 casos (57,4%)
 - De 6 a 12 meses de persistencia: 9 casos (14,5%)
 - De 12 a 18 meses de persistencia: 12 casos (19,4%)
 - Más de 18 meses de persistencia: 41 casos (66,1%)
- Especie $\alpha 7$: 28 casos (25,9%)
 - Hasta 6 meses de persistencia: 1 caso (3,6%)
 - De 6 a 12 meses de persistencia: 2 casos (7,1%)
 - De 12 a 18 meses de persistencia: 4 casos (14,3%)
 - Más de 18 meses de persistencia: 21 casos (75%)
- Especie $\alpha 5/\alpha 6$: 13 casos (12,03%)
 - De 6 a 12 meses de persistencia: 2 casos (15,4 %)
 - De 12 a 18 meses de persistencia: 4 casos (30,8%)
 - Más de 18 meses de persistencia: 7 casos (53,8%)

Destaca la persistencia de la especie $\alpha 9$ con 62 casos (57,4%) y de éstos, 41 casos (66,1%) mostraron una persistencia de más de 18 meses de duración. A continuación, le sigue en frecuencia la especie $\alpha 7$ con 28 casos (25,9%) y de ellos, 21 casos (75%) presentaron más de 18 meses de persistencia de la infección VPH. Por último, de la especie $\alpha 5/\alpha 6$ se dieron 13 casos (12,03%) y en 7 de los casos (53,8%) la persistencia también fue mayor de 18 meses. Observamos que en todas las especies de VPH el tiempo de persistencia en más de la mitad de los casos es mayor a 18 meses (Figura 50).

RESULTADOS

□

PERSISTENCIA DE GENOTIPOS DEL VPH POSTCONIZACIÓN

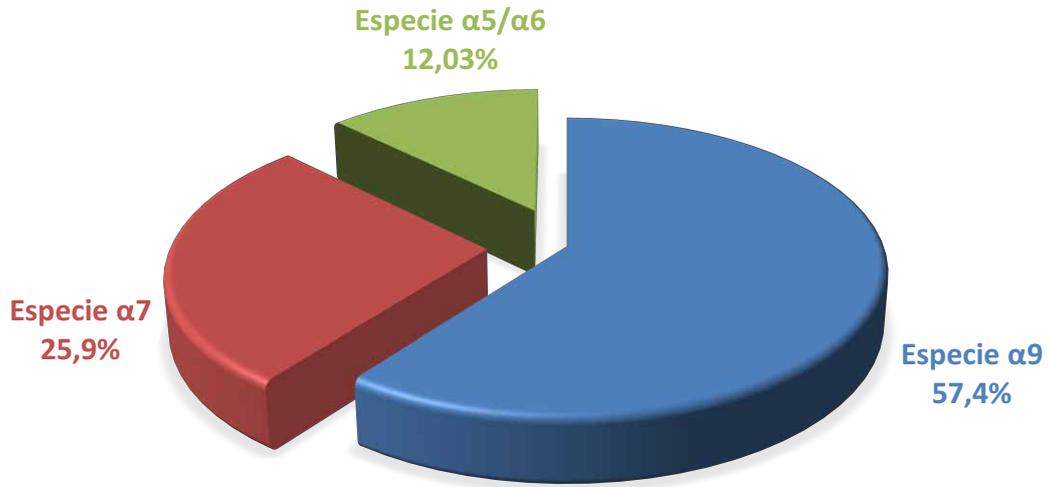


Figura 49. Persistencia de genotipos del VPH postconización por especie.

□

PERSISTENCIA VPH POSTCONIZACIÓN SEGÚN ESPECIE

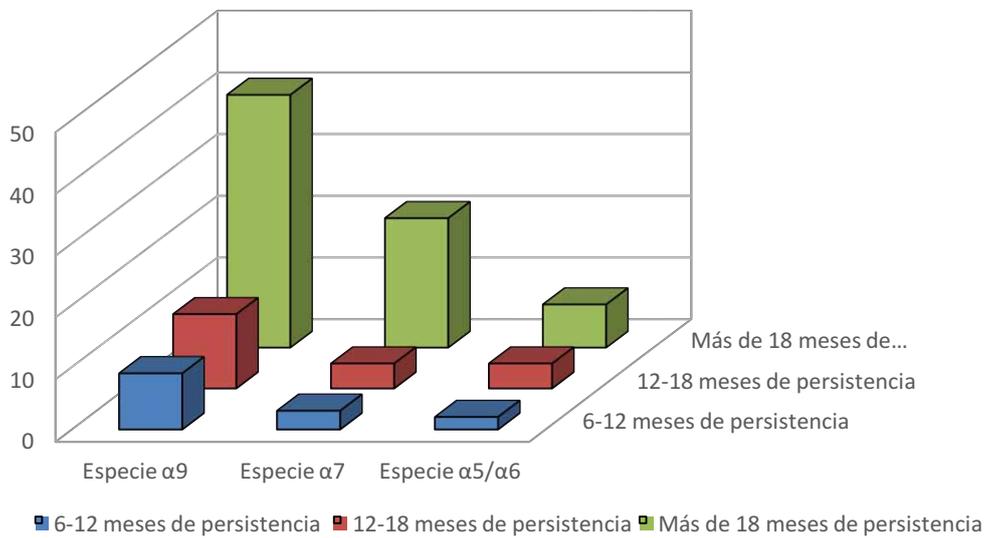


Figura 50. Persistencia VPH postconización según especie

RESULTADOS

Los 46 casos (42,6%) de infecciones multigenómicas postconización, en las mujeres que desarrollaron persistencia VPH postratamiento, se reparten de la siguiente forma (Figura 51):

- VPH 16 y otros VPH-AR: 7 casos (15,2%).
- Varios VPH-AR: 7 casos (15,2%).
- VPH 16 y 18: 1 casos (2,1%).
- VPH 16 y VPH-BR: 6 casos (13%).
- VPH 16, otros VPH-AR y VPH-BR: 2 casos (4,4%).
- Otros VPH-AR y VPH-BR: 19 casos (41,3%).
- VPH 18 y otros VPH-AR: 0 casos (0,0%).
- VPH 18 y VPH-BR: 2 casos (4,4%).
- VPH 16, 18 y otros VPH-AR: 2 casos (4,4%).

□

VPH-INFECCIONES MÚLTIPLES POSTCONIZACIÓN

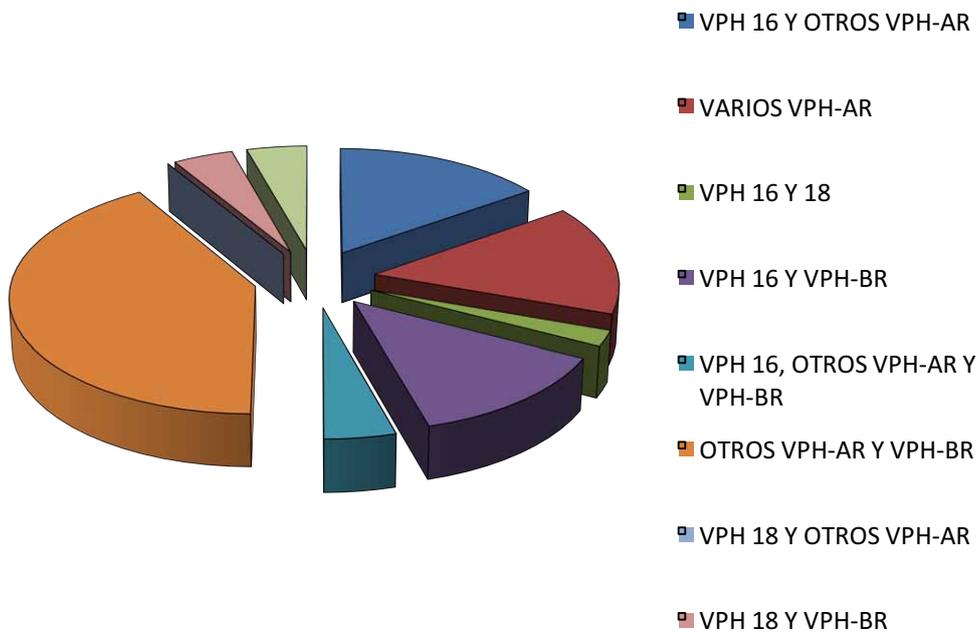


Figura 51. VPH en infecciones multigenómicas postconización.

4.2. Tratamiento de la afectación de los márgenes quirúrgicos

A. Ampliación del tratamiento quirúrgico

En 20 casos (18,5%) de conizaciones con persistencia VPH-AR hubo que ampliar el tratamiento quirúrgico y en 88 casos (81,5%) no hubo necesidad de ampliación.

Analizando los 20 casos de necesidad de tratamiento quirúrgico complementario observamos que en 10 casos (9,3%) se efectuó una reconización, en 7 casos (6,5%) se realizó una histerectomía total simple, y en 3 casos (2,7%) se practicó una histerectomía ampliada (Figura 52).

□

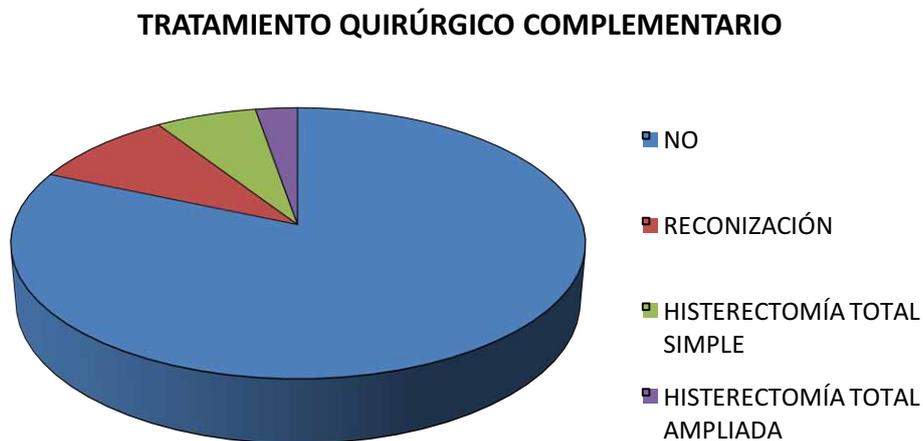


Figura 52. Ampliación del tratamiento quirúrgico.

B. Histología de la ampliación del tratamiento quirúrgico

La estirpe histológica del tratamiento complementario, en las conizaciones con persistencia VPH-AR, resultó una lesión escamosa en 18 casos (16,6%) y negativa en 2 casos (1,9%).

4.3. Tiempo de seguimiento

El tiempo medio de seguimiento postconización, en nuestra Unidad de Patología del TGI hospitalaria, fue de 30,15 meses, con un rango entre 6 y 82 meses, procediéndose a partir de ahí al alta del TGI y seguimiento en Atención Primaria, siguiendo el Proceso Asistencial Integrado (PAI) de Cáncer de cérvix de la Conserjería de Salud de la Junta de Andalucía⁶ (Figura 53).

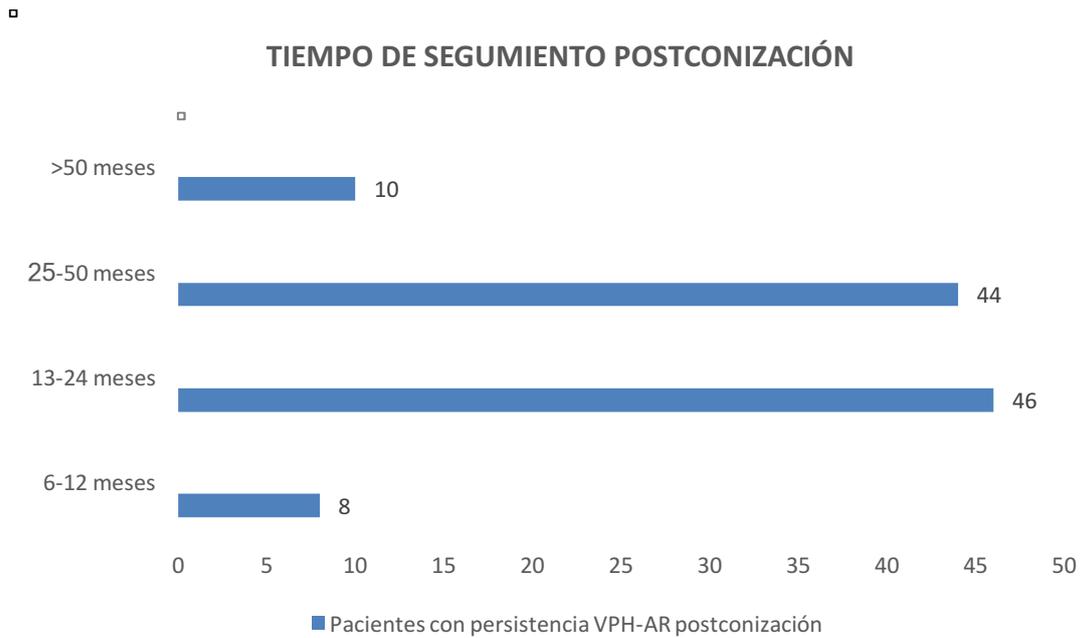


Figura 53. Tiempo de seguimiento postconización.

B. ESTADÍSTICA ANALÍTICA

1. CORRELACIÓN DE LOS DATOS DEMOGRÁFICOS CON LA PERSISTENCIA DEL VPH-AR

1.1. Edad

En la siguiente Tabla se expresan los valores medios de las edades de las pacientes de nuestro estudio para los casos de persistencia o no de la infección viral tras conización (Tabla 21).

Tabla 21. Descriptores de edad media de las pacientes por persistencia vírica.

PERSISTENCIA VPH-AR	N	Media (años) p=0,003	Mínimo	Máximo	Desviación típica
NO	86	41,85	20	71	10,47
SÍ	108	36,88	20	66	10,56
Total	194	39,08	20	71	10,78

La Tabla 22 relaciona los distintos grupos de edad con la persistencia VPH-AR

Se observa significación estadística ($p=0,021$) de aumento de la edad de las pacientes con la persistencia VPH-AR tras conización, destacando el 20,1% en el grupo de 31-40 años, y el 6,2% en mayores de 50 años.

Al mismo tiempo, es relevante la diferencia entre el 6,7% de no persistencia VPH en el rango 20-30 años frente al porcentaje de persistencia vírica en el mismo grupo de edad que casi lo triplica (18%) (Figura 54).

RESULTADOS

Tabla 22. Relación entre la edad (grupos etáreos) y persistencia VPH-AR.

p=0,021			PERSISTENCIA VPH-AR		Total
			NO	SÍ	
EDAD (años)	20-30	Nº casos	13	35	48
		% del total	6,7%	18,0%	24,7%
	31-40	Nº casos	28	39	67
		% del total	14,4%	20,1%	34,5%
	41-50	Nº casos	28	22	50
		% del total	14,4%	11,3%	25,8%
	>50	Nº casos	17	12	29
		% del total	8,8%	6,2%	14,9%
Total		Nº casos	86	108	194
		% del total	44,3%	55,7%	100,0%

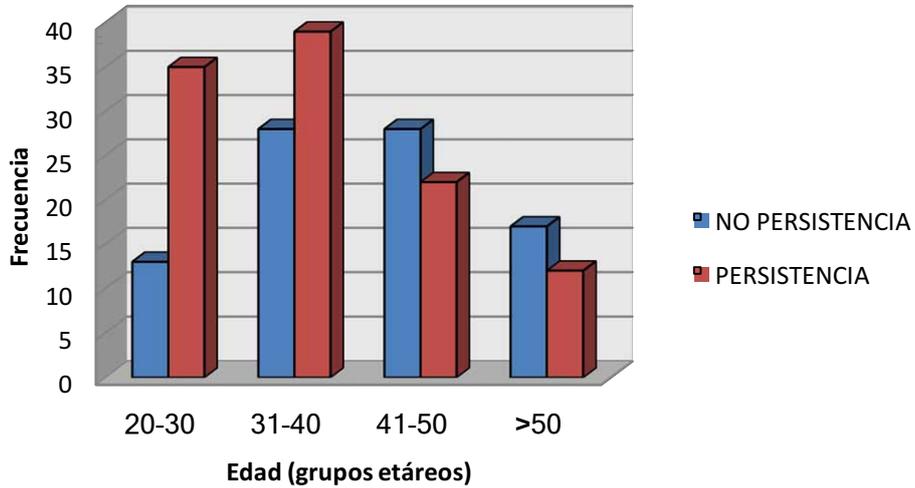


Figura 54. Grupos de edad y persistencia VPH-AR.

RESULTADOS

1.2. Menopausia

No observamos significación estadística ($p=0,071$) entre la persistencia VPH-AR y el estado menopáusico de las mujeres (Tabla 23).

Tabla 23. Relación entre persistencia VPH-AR y menopausia.

$p=0,071$			PERSISTENCIA VPH-AR		Total
			NO	SÍ	
Menopausia	SÍ	Nº casos	21	15	36
		% del total	10,8%	7,7%	18,5%
	NO	Nº casos	65	93	158
		% del total	33,5%	48,0%	81,5%
Total		Nº casos	86	108	194
		% del total	44,3%	55,7%	100,0%

2. CORRELACIÓN DE LOS COFACTORES DEL CÁNCER DE CUELLO UTERINO CON LA PERSISTENCIA DEL VPH-AR

2.1. Cofactores de adquisición de la infección por VPH

2.1.1. Edad de la primera relación sexual

Se ha realizado una tabla de contingencia (Tabla 24) con la edad de la primera relación sexual (en intervalos) y la persistencia de la infección viral. Para ello hemos subdividido a las pacientes en varios grupos, según la edad de inicio de las relaciones sexuales: ≤ 15 años, 16-20 años, 21-29 años y ≥ 30 años.

RESULTADOS

Tabla 24. Relación entre la edad de la primera relación sexual y persistencia vírica.

p=0,000			PERSISTENCIA		Total	
			VPH-AR			
			NO	Sí		
"COITARQUIA" (años)	≤15	Nº casos	6	7	13	
		% del total	3,1%	3,6%	6,7%	
	16-20	Nº casos	48	97	145	
		% del total	24,7%	50,0%	74,7%	
	21-29	Nº casos	32	2	34	
		% del total	16,5%	1,0%	17,5%	
	≥30	Nº casos	0	2	2	
		% del total	0,0%	1,0%	1,0%	
	Total		Nº casos	86	108	194
			% del total	44,3%	55,7%	100,0%

Hemos encontrado relación estadísticamente significativa entre la edad de la primera relación sexual y la persistencia VPH-AR (p=0,000).

En el grupo de persistencia VPH-AR, 104 pacientes (53,6%) habían iniciado relaciones sexuales antes de los 20 años de edad, mientras que de forma significativa en las mujeres libres de infección tras tratamiento quirúrgico este grupo etáreo lo representan 54 casos (27,8%).

RESULTADOS

De la misma forma, cuando comparamos el grupo entre 21 y 29 años, la proporción se invierte: las mujeres con persistencia vírica la constituyen 2 casos (1 %) y las que no mostraban persistencia VPH eran 32 casos (16,5 %) (Figura 55).

□

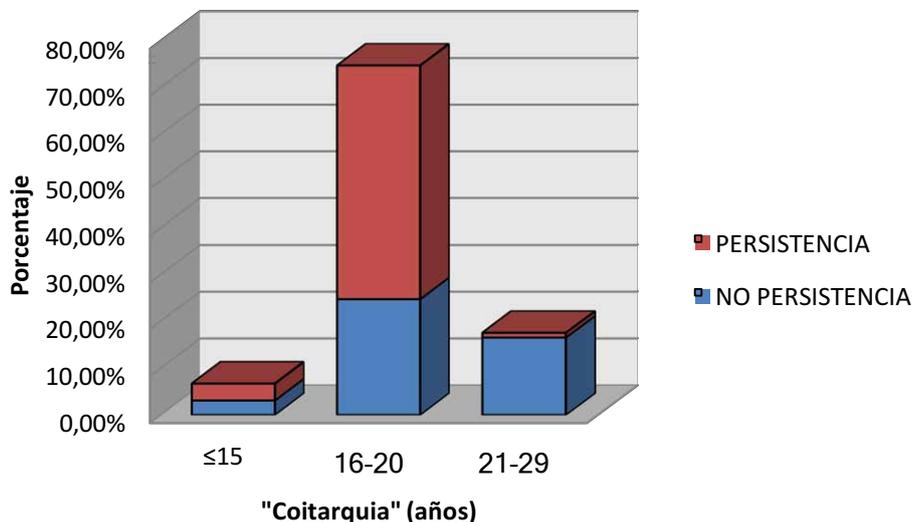


Figura 55. "Coitarquia" (años) y persistencia de la infección viral.

2.1.2. Número de parejas sexuales

Se aprecia significación estadística ($p=0,016$) entre la persistencia VPH-AR y el número de parejas sexuales (Tabla 25).

RESULTADOS

Tabla 25. Relación entre persistencia VPH-AR y número de parejas sexuales.

p=0,016			PERSISTENCIA VPH-AR		Total
			NO	SÍ	
Nº parejas sexuales	1	Nº casos	29	17	46
		% del total	14,9%	8,7%	23,6%
	2	Nº casos	32	42	74
		% del total	16,5%	21,6%	38,1%
	3	Nº casos	18	34	52
		% del total	9,3%	17,5%	26,8%
	4	Nº casos	6	10	16
		% del total	3,1%	5,2%	8,3%
	5	Nº casos	0	4	4
		% del total	0,0%	2,2%	2,2%
	6	Nº casos	0	1	1
		% del total	0,0%	0,5%	0,5%
	7	Nº casos	1	0	1
		% del total	0,5%	0,0%	0,5%
Total		Nº casos	86	108	194
		% del total	44,3%	55,7%	100,0%

2.2. Cofactores implicados en la carcinogénesis cervical

2.2.1. Tabaco

No hemos encontrado relación estadísticamente significativa entre el hábito tabáquico y la persistencia de la infección viral tras conización ($p=0,914$) (Tabla 26).

Se observa que en los casos con persistencia vírica el 30,4% ($n=59$) del total de las mujeres eran fumadoras, frente al 24,2% ($n=47$) de las mujeres libres de infección viral.

RESULTADOS

Con persistencia del virus el 20,1 % de las mujeres eran no fumadoras y el 5,2% ex-fumadoras, y en los casos de no persistencia de infección viral representa el 16,5% y 3,6% respectivamente (Figura 56).

Tabla 26. Relación entre persistencia vírica y consumo de tabaco.

p=0,914			PERSISTENCIA VPH-AR		Total
			NO	SÍ	
FUMADORA	SÍ	Nº casos	47	59	106
		% del total	24,2%	30,4%	54,6%
	NO	Nº casos	32	39	71
		% del total	16,5%	20,1%	36,6%
	EX-FUMADORA	Nº casos	7	10	17
		% del total	3,6%	5,2%	8,8%
Total		Nº casos	86	108	194
		% del total	44,3%	55,7%	100,0%

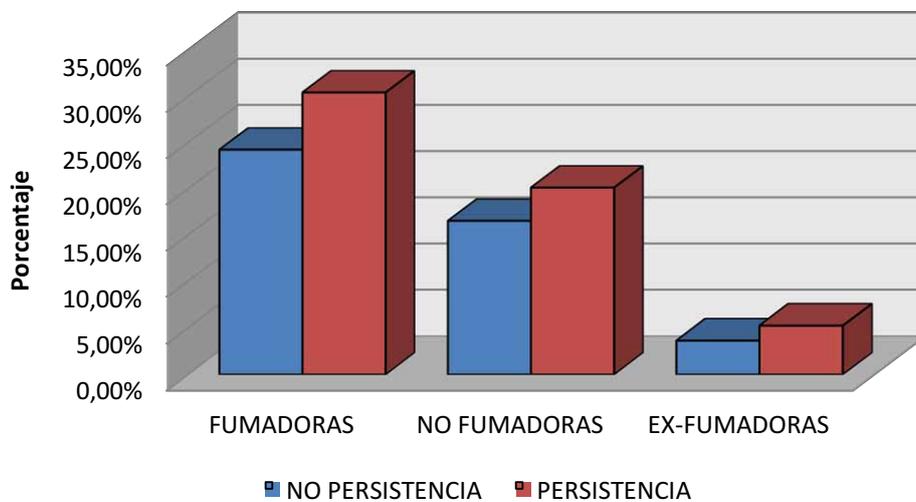


Figura 56. Hábito tabáquico y persistencia VPH-AR.

RESULTADOS

2.2.2. Paridad

Al estudiar la relación entre el número de partos y la persistencia vírica, no encontramos una correlación estadísticamente significativa (Tabla 27).

Tabla 27. Relación entre persistencia VPH-AR y número de partos.

NS			PERSISTENCIA VPH-AR		Total	
			NO	SÍ		
Nº partos	0	Nº casos	20	45	65	
		% del total	11,2%	25,3%	36,5%	
	1	Nº casos	12	21	33	
		% del total	6,7%	11,8%	18,5%	
	2	Nº casos	23	17	40	
		% del total	12,9%	9,6%	22,5%	
	3	Nº casos	13	13	26	
		% del total	7,3%	7,3%	14,6%	
	≥4	Nº casos	10	4	14	
		% del total	5,7%	2,2%	7,9%	
	Total		Nº casos	78	100	178
			% del total	43,8 %	56,2%	100,0%

2.2.3. Anticonceptivos hormonales

Aunque no existe relación estadísticamente significativa entre la persistencia de la infección viral y el uso de anticoncepción hormonal ($p=0,073$) (Tabla 28), la utilización de la misma predominaba en las mujeres con persistencia VPH-AR respecto a las libres de infección, independientemente del tiempo de uso de dicha anticoncepción hormonal.

RESULTADOS

De las mujeres con persistencia vírica, un total de 45 casos (23,2%) eran usuarias de anticoncepción hormonal oral y 63 casos (32,5%) no lo eran. De las usuarias, en el grupo con persistencia VPH, el 13,9% los tomaban desde hace tres años o más y el 9,3% desde hace menos de 3 años, frente al 8,2% y 3,6% de las mujeres sin persistencia, respectivamente. En ambos grupos el porcentaje de mujeres que no consumían anticonceptivos, independientemente que persistiera el VPH o no, era el 32,5% (n=63).

Tabla 28. Relación entre persistencia VPH-AR y uso de anticoncepción hormonal.

p=0,073			PERSISTENCIA VPH-AR		Total
			NO	SÍ	
ACO	≥ 3 años	Nº casos	16	27	43
		% del total	8,2%	13,9%	22,2%
	< 3 años	Nº casos	7	18	25
		% del total	3,6%	9,3%	12,9%
	NO	Nº casos	63	63	126
		% del total	32,5%	32,5%	64,9%
Total		Nº casos	86	108	194
		% del total	44,3%	55,7%	100,0%

RESULTADOS

2.2.4. Inmunosupresión

No existe una relación estadísticamente significativa entre el estado de inmunológico de las pacientes y la persistencia de la infección viral (Tabla 29).

Tabla 29. Relación entre persistencia VPH-AR y estado inmunológico.

NS			PERSISTENCIA VPH-AR		Total	
			NO	SÍ		
Inmunosupresión	No	Nº casos	80	82	162	
		% del total	41,2%	42,3%	83,5%	
	VIH	Nº casos	3	5	8	
		% del total	1,5%	2,6%	4,1%	
	Trasplante/ tto ciclosporina	Nº casos	0	15	15	
		% del total	0,0%	7,7%	7,7%	
	Enf. autoinmune/ tto corticoides	Nº casos	1	0	1	
		% del total	0,5%	0,0%	0,5%	
	Otros	Nº casos	2	6	8	
		% del total	1,0%	3,1%	4,1%	
	Total		Nº casos	86	108	194
			% del total	44,3%	55,7%	100,0%

3. CORRELACIÓN DE LAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS CON LA PERSISTENCIA DEL VPH-AR

3.1. Citología diagnóstica y vaginosis bacteriana

En la citología diagnóstica se detectó vaginosis bacteriana en 15 casos (13,9%) y no encontramos correlación estadísticamente significativa con la persistencia VPH-AR ($p=0,650$) (Tabla 30 y Figura 57).

Tabla 30. Relación entre vaginosis bacteriana y persistencia vírica.

$p=0,650$			PERSISTENCIA VPH-AR		Total
			NO	SÍ	
Vaginosis bacteriana	SÍ	Nº casos	11	15	26
		% del total	5,7%	7,7%	13,4%
	NO	Nº casos	75	93	168
		% del total	38,7%	47,9%	86,6%
Total		Nº casos	86	108	194
		% del total	44,3%	55,7%	100,0%

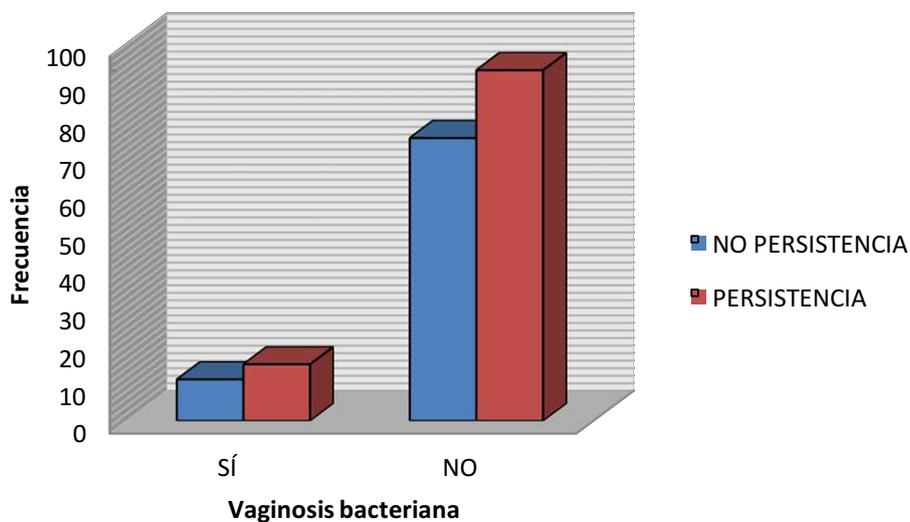


Figura 57. Vaginosis bacteriana y persistencia VPH-AR.

3.2. Diagnóstico colposcópico

A. Colposcopia diagnóstica

La relación entre la persistencia de la infección viral y los hallazgos colposcópicos se muestra en la Figura 58 y Tabla 31.

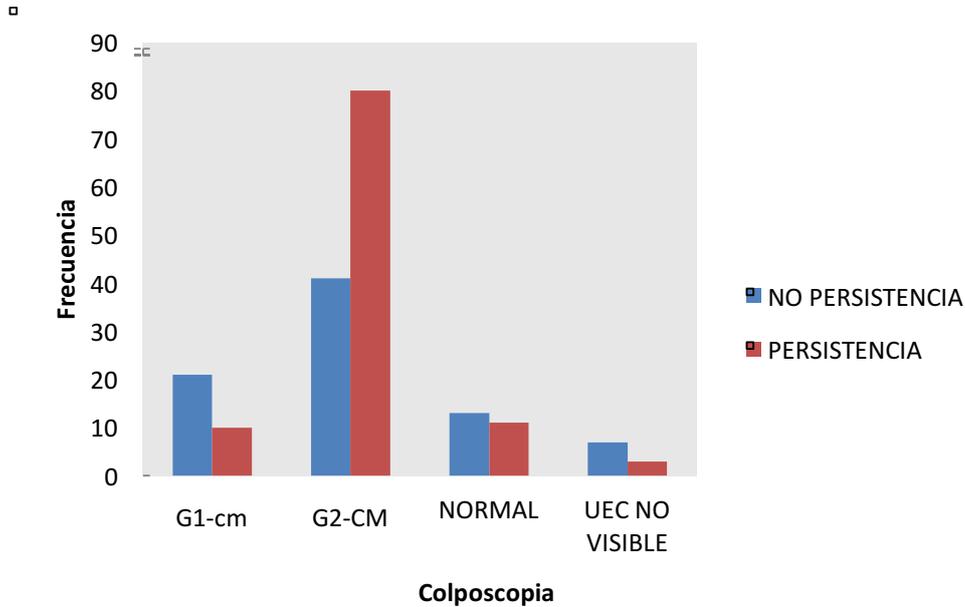


Figura 58. Persistencia VPH-AR y colposcopia.

Se observa significación estadística ($p=0,003$) entre la persistencia VPH-AR y los hallazgos colposcópicos. En la persistencia vírica se observaron un 5,4% de hallazgos Grado 1 o cambios menores, y un 43% de hallazgos Grado 2 o cambios mayores. En cambio, en las mujeres que han aclarado el virus, estos cambios suponen el 11,3% de Grado 1 y el 22,1% de Grado 2.

RESULTADOS

Tabla 31. Relación entre la persistencia vírica y los hallazgos colposcópicos.

p=0,003			PERSISTENCIA VPH-AR		Total
			NO	SÍ	
Hallazgos colposcópicos	G1-Cambios menores	Nº casos	21	10	31
		% del total	11,3%	5,4%	16,7%
	G2-Cambios mayores	Nº casos	41	80	121
		% del total	22,1%	43,0%	65,1%
	Negativa/Normal	Nº casos	13	11	24
		% del total	7,0%	5,9%	12,9%
	Inadecuada/UEC no visible	Nº casos	7	3	10
		% del total	3,7%	1,6%	5,3%
Total		Nº casos	82	104	186
		% del total	44,1%	55,9%	100,0%

B. Afectación colposcópica del canal endocervical

No existe una relación estadísticamente significativa entre la lesión colposcópica que alcanza endocérnix y la persistencia de la infección viral (p=0,418) (Tabla 32).

La lesión alcanza el canal endocervical en el 4,3% de los casos de persistencia VPH-AR, frente al 6% de los casos de eliminación de la infección (Figura 59).

RESULTADOS

Tabla 32. Relación entre lesión colposcópica que alcanza endocérnix y persistencia vírica.

p=0,418			PERSISTENCIA VPH-AR		Total
			NO	SÍ	
Lesión colposcópica que alcanza el canal endocervical	SÍ	Nº casos	11	8	19
		% del total	6,0%	4,3%	10,3%
	NO	Nº casos	71	96	167
		% del total	38,1%	51,6%	89,7%
Total		Nº casos	82	104	186
		% del total	44,1%	55,9%	100,0%

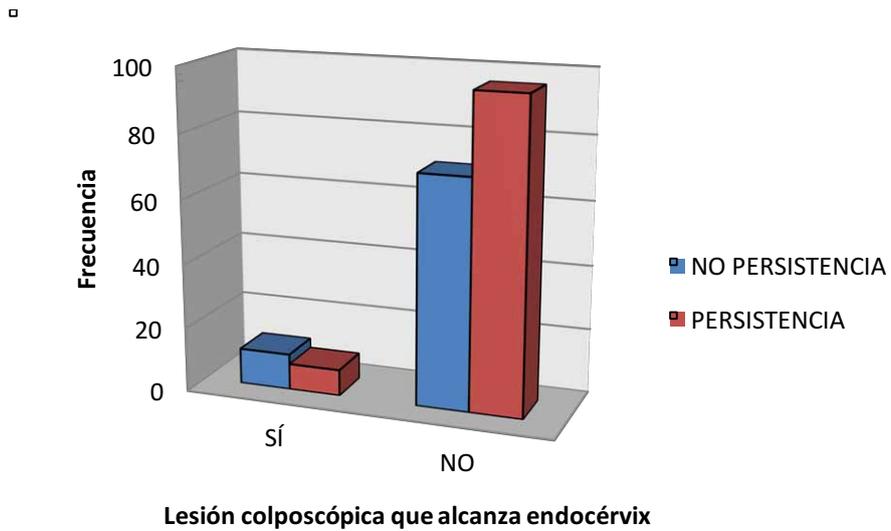


Figura 59. Lesión colposcópica que alcanza OCE y persistencia VPH-AR.

3.3. Diagnóstico anatomopatológico del cono

A. Margen quirúrgico

Se observa una correlación estadísticamente significativa ($p=0,000$) entre la persistencia VPH-AR y la afectación de los bordes quirúrgicos (Tabla 33).

En el caso de que la lesión alcance los bordes de resección quirúrgica, 81 mujeres (41,8%) eliminaron el VPH y en 26 mujeres (13,4%) persistió la infección viral.

Al contrario, cuando la lesión escamosa de Alto Grado no alcanza los márgenes quirúrgicos, en la mayoría de los casos, 82 pacientes (42,3%), persistía el VPH postconización, frente a solo 5 casos (2,6%) de no persistencia vírica (Figura 60).

Tabla 33. Relación entre la persistencia vírica y la afectación de los márgenes quirúrgicos.

$p=0,000$			PERSISTENCIA VPH-AR		Total
			NO	SÍ	
Afectación de los bordes quirúrgicos	SÍ	Nº casos	81	26	107
		% del total	41,8%	13,4%	55,2%
	NO	Nª casos	5	82	87
		% del total	2,6%	42,3%	44,8%
Total		Nº casos	86	108	194
		% del total	44,3%	55,7%	100,0%

RESULTADOS

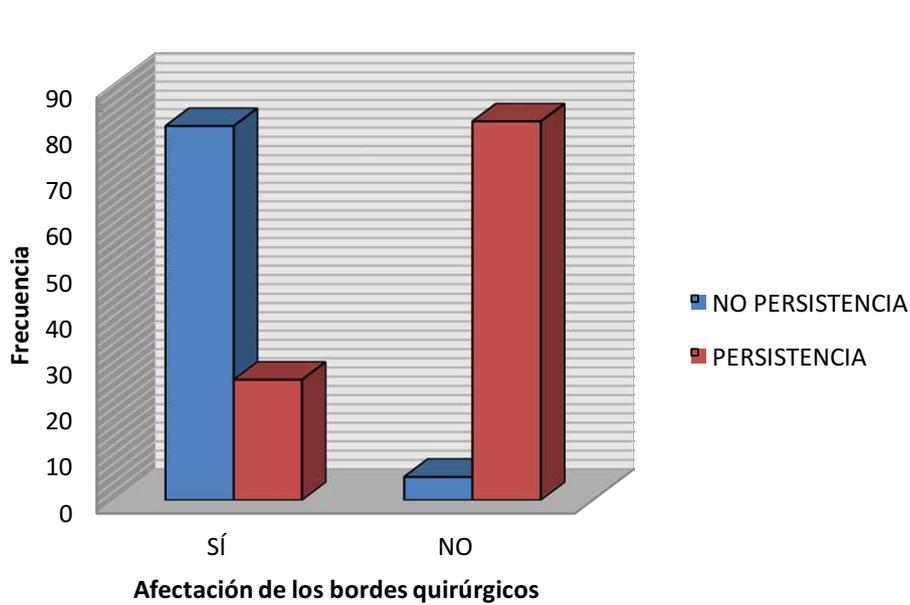


Figura 60. Persistencia VPH-AR y afectación de los márgenes quirúrgicos.

B. Localización de la afectación de los márgenes quirúrgicos

La Tabla 34 muestra la significación estadística ($p=0,000$) entre la persistencia de la infección viral y la localización del margen quirúrgico afectado.

En las persistencias del VPH el borde endocervical está afectado en el 9,3% de los casos, y el exocervical en un 3,1%, frente al 0,0% y 41,8%, respectivamente, en los que se eliminó el virus. Ambos bordes están afectados en el 1% de los casos de persistencia VPH-AR, y en ningún caso de no persistencia del virus (Figura 61).

RESULTADOS

Tabla 34. Relación entre la persistencia vírica y la localización de la afectación de los márgenes quirúrgicos.

p=0,001			PERSISTENCIA VPH-AR		Total	
			NO	SÍ		
Localización de la afectación del borde	Bordes libres	Nº casos	5	82	87	
		% del total	2,6%	42,3%	44,8%	
	Exocervical	Nº casos	81	6	87	
		% del total	41,8%	3,1%	44,8%	
	Endocervical	Nª casos	0	18	18	
		% del total	0,0%	9,3%	9,3%	
	Ambos	Nº casos	0	2	2	
		% del total	0,0%	1,0%	1,0%	
	Total		Nº casos	86	108	194
			% del total	44,3%	55,7%	100,0%

RESULTADOS

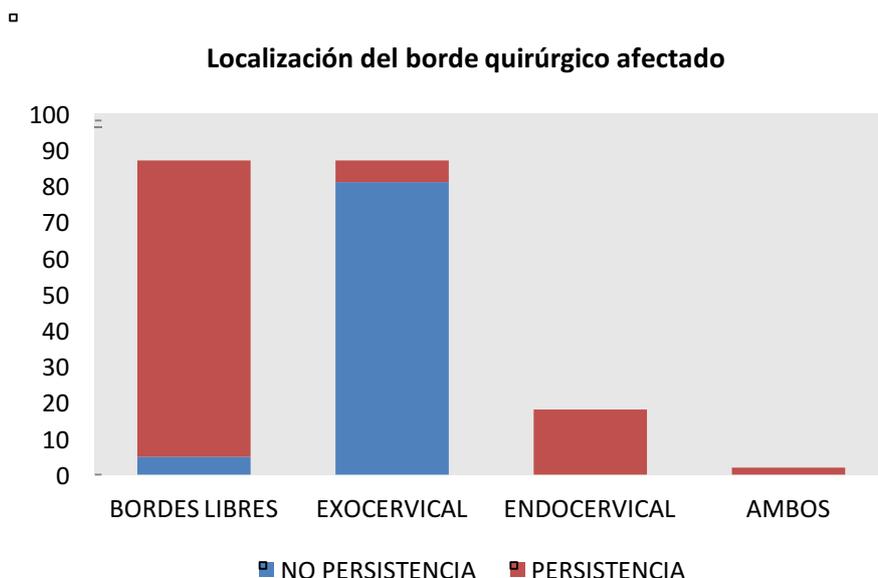


Figura 61. Persistencia VPH-AR y localización del margen quirúrgico afectado.

C. Cirujano responsable de la conización

La Tabla 35 muestra la relación entre la persistencia vírica y el cirujano responsable de la conización con significación estadística ($p=0,028$).

Se observan 27 casos (13,9%) de persistencia VPH, frente a 9 casos (9,6%) de negativización del virus, en las conizaciones realizadas por un FEA de menos de 10 años de antigüedad en la Unidad.

En las conizaciones efectuadas por un MIR hubo 20 casos (10,3%) de aclaramiento del virus, y en las intervenciones llevadas a cabo por un FEA de ≥ 10 años de antigüedad en el Servicio la persistencia vírica ocurrió en 56 casos (56,9%) (Figura 62).

RESULTADOS

Tabla 35 . Relación entre persistencia VPH-AR y cirujano responsable de la conización.

p=0,028			PERSISTENCIA VPH-AR		Total
			NO	SÍ	
Cirujano	MIR	Nº casos	20	25	45
		% del total	10,3%	12,9%	23,2%
	Adjunto < 10 años	Nº casos	9	27	36
		% del total	4,6%	13,9%	18,6%
	Adjunto ≥ 10 años	Nº casos	57	56	113
		% del total	29,4%	28,9%	58,2 %
Total		Nº casos	86	108	194
		% del total	44,3%	55,7%	100,0%

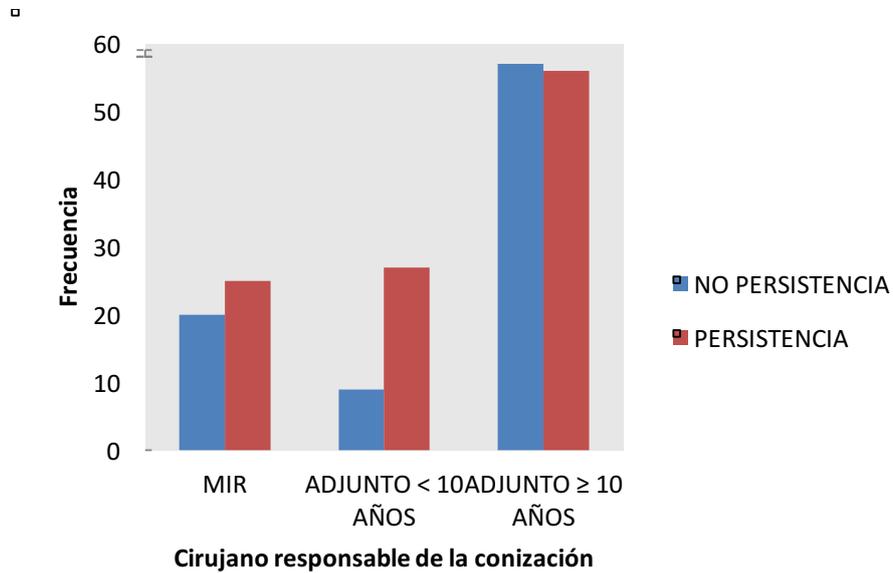


Figura 62. Persistencia VPH-AR y cirujano responsable de la conización.

RESULTADOS

4. CORRELACIÓN DE LAS VARIABLES DE SEGUIMIENTO CON LA PERSISTENCIA DEL VPH-AR Y LOS GENOTIPOS.

4.1. Persistencia de la infección por VPH tras tratamiento y genotipos

Si analizamos la persistencia VPH postconización según los genotipos en comparación con el grupo de mujeres que no desarrollaron persistencia VPH tras el tratamiento encontramos los siguientes resultados, ordenados por significación estadística (Tabla 36):

Tabla 36. Persistencia de genotipos del VPH postratamiento en los casos persistentes y no persistentes.

		PERSISTENCIA VPH-AR		Total	p
		NO	SÍ		
VPH 16	Nº casos	3	37	40	0,000
	% del total	1,5%	19,1%	20,6%	
VPH Bajo Riesgo	Nº casos	1	29	30	0.000
	% del total	0,5%	14,9%	15,5%	
VPH 68	Nº casos	1	15	16	0,001
	% del total	0,5%	7,7%	8,2%	
VPH Indeterminado	Nº casos	2	12	14	0,019
	% del total	1,0%	6,2%	7,2%	
VPH 66*	Nº casos	1	9	10	0,025
	% del total	0,5%	4,6%	5,2%	
VPH 33, 73, 53*	Nº casos	0	6	6	0.026
	% del total	0,0%	3,1%	3,1%	
VPH 31	Nº casos	1	8	9	0,040
	% del total	0,5%	4,1%	4,6%	
VPH 58	Nº casos	0	5	5	0,043
	% del total	0,0%	2,6%	2,6%	
VPH 35	Nº casos	0	4	4	0,071
	% del total	0,0%	2,1%	2,1%	
VPH 26*	Nº casos	0	3	3	0,119

RESULTADOS

	% del total	0,0%	1,5%	1,5%	
VPH 18, 51	Nº casos	2	7	9	0,172
	% del total	1,0%	3,6%	4,6%	
VPH 39, 52, 82	Nº casos	0	2	2	0,207
	% del total	0,0%	1,0%	1,0%	
VPH 56	Nº casos	1	4	5	0,267
	% del total	0,5%	2,1%	2,6%	
VPH 59	Nº casos	0	1	1	0,371
	% del total	0,0%	0,5%	0,5%	
VPH 45	Nº casos	1	3	4	0,432
	% del total	0,5%	1,5%	2,1%	

*Probable Alto Riesgo.

Al analizar los datos de la Tabla 36 encontramos:

- VPH 16: 37 casos (19,1%) que desarrollaron persistencia y 3 casos (1,5%) que no desarrollaron persistencia postconización.
- VPH-BR: se dieron 29 casos (14,9%) de infección por al menos un genotipo de VPH-BR entre las pacientes que desarrollaron persistencia VPH postconización por algún genotipo VPH-AR y 1 caso (0,5%) de infección por algún genotipo VPH-BR en el grupo de mujeres que no desarrollaron persistencia postconización.
- VPH 68: 15 casos (7,7%) que desarrollaron persistencia y 1 caso (0,5%) que no desarrolló persistencia postconización.
- VPH indeterminado: 12 casos (6,2%) que desarrollaron persistencia y 2 casos (1%) que no desarrollaron persistencia postconización.
- VPH 66: 9 casos (4,6%) que desarrollaron persistencia y 1 caso (0,5%) que no desarrolló persistencia postconización.
- VPH 33, 73 y 53: se dieron un total de 6 casos (3,1%) de cada uno de estos genotipos que desarrollaron persistencia postconización y no hubo ningún caso de infección por estos genotipos en el grupo de pacientes que no desarrollaron dicha persistencia de la infección.

RESULTADOS

- VPH 31: 8 casos (4,1%) que desarrollaron persistencia y 1 caso (0,5%) que no desarrollaron persistencia postconización.
- VPH 58: 5 casos (2,6%) desarrollaron persistencia postconización y no se encontraron casos de infección por este genotipo en el grupo de pacientes que no desarrolló persistencia postconización.
- VPH 35: 4 casos (2,1%) desarrollaron persistencia postconización y no aparecieron casos de infección por este genotipo en el grupo de pacientes que no desarrolló persistencia postconización.
- VPH 26: 3 casos (1,5%) que posteriormente desarrollaron persistencia VPH postconización y ningún caso de los mismos en el grupo de mujeres que no desarrollaron persistencia postconización.
- VPH 18 y 51: 7 casos (3,6%) que desarrollaron persistencia y 2 casos (1%) que no desarrollaron persistencia postconización.
- VPH 39, 52 y 82: 2 casos (1%) de cada uno de estos genotipos que desarrollaron persistencia postconización y ningún caso de estos genotipos en el grupo de mujeres que no desarrollaron persistencia postconización.
- VPH 56: 4 casos (2,1%) que desarrollaron persistencia y 1 caso (0,5%) que no desarrollaron persistencia postconización.
- VPH 59: 1 caso (0,5%) desarrolló persistencia postconización y no se registraron casos de infección por este genotipo en el grupo de pacientes que no desarrolló persistencia postconización.
- VPH 45: 3 casos (1,5%) que desarrollaron persistencia y 1 caso (0,5%) que no desarrollaron persistencia postconización (Figuras 63 a 67).

Como observamos, los genotipos VPH 16 y 68 son estadísticamente significativos en los casos de persistencia VPH-AR postconización ($p=0,000$ y $p=0,001$ respectivamente). A continuación, le siguen los genotipos VPH 66 y 31 con correlación estadísticamente significativa ($p=0,025$ y $p=0,040$ respectivamente) también destacables en los casos de persistencia de la infección viral postratamiento.

RESULTADOS

□

PERSISTENCIA POSTCONIZACIÓN SEGÚN GENOTIPO VPH

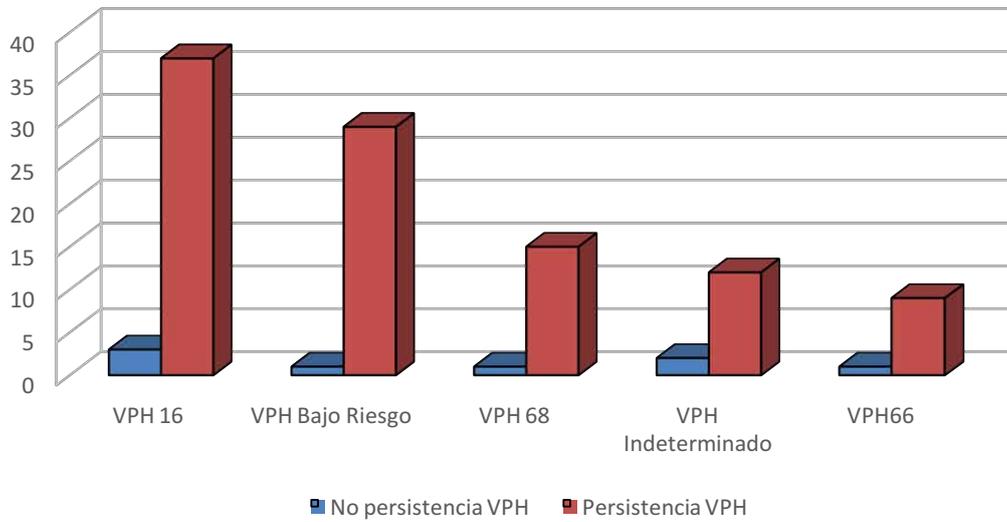


Figura 63. Persistencia postconización según genotipos VPH.

□

PERSISTENCIA POSTCONIZACIÓN SEGÚN GENOTIPO VPH

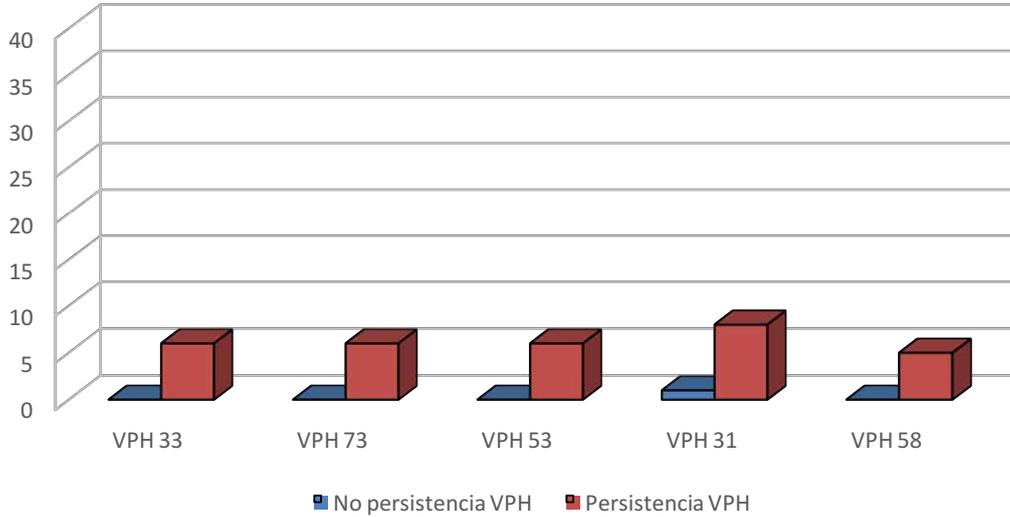


Figura 64. Persistencia postconización según genotipos VPH.

RESULTADOS

□

PERSISTENCIA POSTCONIZACIÓN SEGÚN GENOTIPO VPH

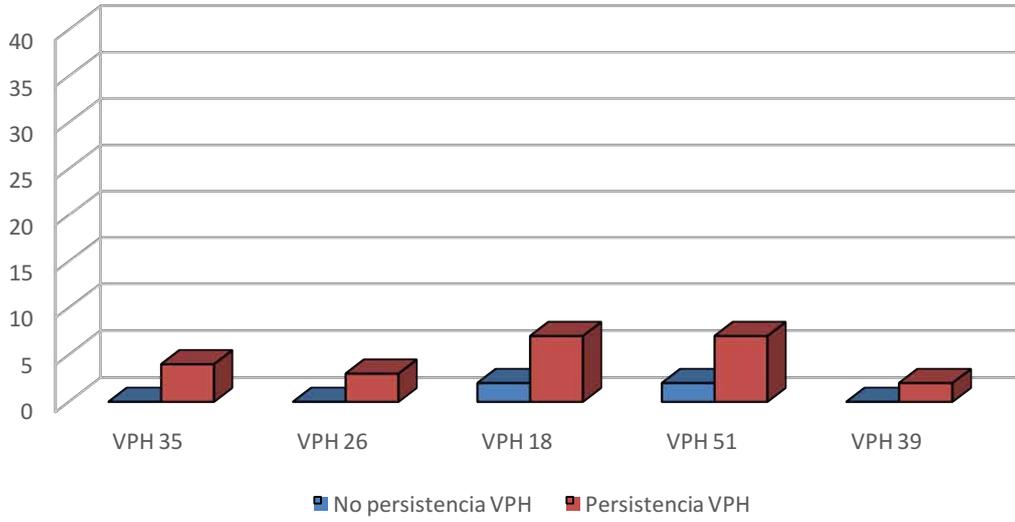


Figura 65. Persistencia postconización según genotipos VPH.

□

PERSISTENCIA POSTCONIZACIÓN SEGÚN GENOTIPO VPH

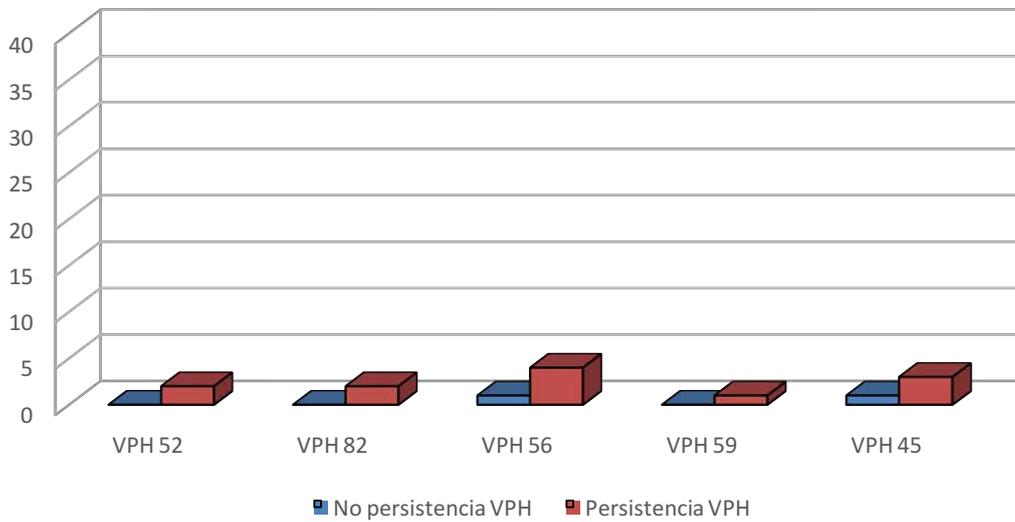
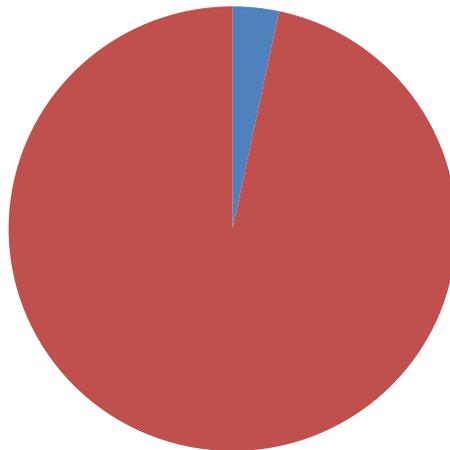


Figura 66. Persistencia postconización según genotipos VPH.

□

INFECCIÓN VPH-BR POSTCONIZACIÓN



■ No persistencia VPH-AR postconización+VPH-BR ■ Persistencia VPH-AR postconización+VPH-BR

Figura 67 . Infección VPH-BR postconización.

Persistencia del VPH-AR y tratamiento quirúrgico complementario

Si analizamos los genotipos VPH obtenidos tras el tratamiento quirúrgico complementario en nuestro trabajo, destaca el VPH 16 en 8 (40%) de los 20 casos seguido por el VPH 51 en 3 (15%) de los 20 casos.

Según el tratamiento complementario realizado observamos que en las reconizaciones los genotipos VPH más frecuentes fueron el VPH 16, 51, 56 y 68; en los casos de histerectomía total simple el VPH 16, 31, 58, 33 y 53; y cabe resaltar que 2 casos de los 3 que acabaron en histerectomía total ampliada resultaron asociados al VPH 51.

Por otra parte, 2 de los 3 casos (66,6%) de histerectomía total ampliada presentaron multiinfección y concretamente por asociación de genotipos VPH-AR y VPH-BR. Asimismo, la mitad de los casos de histerectomía total simple mostraron multiinfección, mientras que en los casos de reconización sólo 1 caso (10%) de los 10 que se dieron resultó con infección viral multigenómica (Figura 68).

RESULTADOS

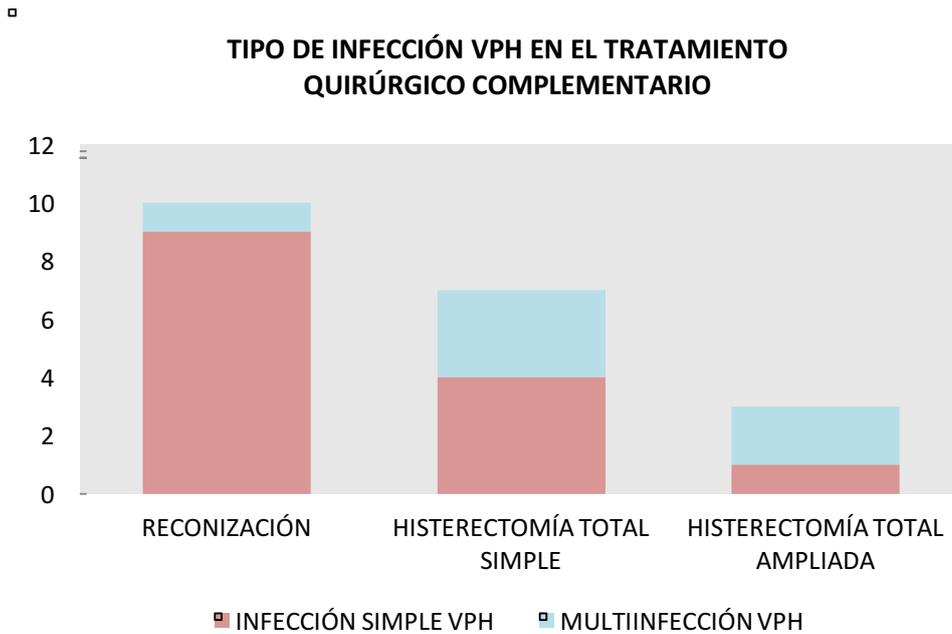


Figura 68. Tipo de infección VPH en los casos de tratamiento quirúrgico complementario tras la conización.

Persistencia del VPH-AR y tipo de infección

Con respecto al tipo de infección VPH postconización, encontramos 46 casos (42,6% dentro de la persistencia y 23,7% del total) de multiinfección dentro del grupo de las 108 pacientes que desarrollaron persistencia VPH postconización, mientras que sólo hay 7 casos (8,1% dentro de la persistencia y 3,6% del total) de multiinfección en el grupo de las 86 pacientes que no desarrollaron persistencia VPH postconización ($p=0,000$) (Tabla 37).

RESULTADOS

Tabla 37. Persistencia del VPH-AR y tipo de infección

p=0,000			PERSISTENCIA		Total
			VPH-AR		
			NO	SÍ	
TIPO DE INFECCIÓN VPH	Multigenómica	Nº casos	7	46	53
		% dentro de persistencia	8,1%	42,6%	27,3%
		% del total	3,6%	23,7%	27,3%
	Infección Simple	Nº casos	79	62	141
		% dentro de persistencia	91,8%	57,4%	72,7%
		% del total	40,7%	32%	72,7%
Total		Nº casos	86	108	194
		% dentro de persistencia	100,0%	100,0%	100,0%
		% del total	44,3%	55,7%	100,0%

4.2. Tratamiento de la afectación de los márgenes quirúrgicos

A. Ampliación del tratamiento quirúrgico

Se aprecia significación estadística (p=0,000) entre la persistencia VPH-AR y la ampliación del tratamiento quirúrgico (Tabla 38).

No hubo diferencias significativas cuando la ampliación del tratamiento consistió en la reconización.

RESULTADOS

Cuando se efectuó histerectomía total simple hubo el triple de casos en las aclaradas, 9,8 % (19 casos) frente a un 3,6% (7 casos) en las persistentes.

En el caso de las histerectomías ampliadas ocurrió en un 6,7% (13 casos) de las aclaradas frente a un 1,5 % (3 casos) de las VPH persistentes.

Tampoco hubo necesidad de ampliar la cirugía en 88 casos (45,4%) de persistencia de la infección viral, frente a los 41 casos (21,1%) de aclaramiento del VPH (Figura 69).

Tabla 38. Relación entre la persistencia vírica y la ampliación del tratamiento quirúrgico.

p=0,000			PERSISTENCIA VPH-AR		Total	
			NO	SÍ		
Ampliación del tratamiento quirúrgico	Reconización	Nº casos	13	10	23	
		% del total	6,7%	5,2%	11,9%	
	HT Simple	Nº casos	19	7	26	
		% del total	9,8%	3,6%	13,4%	
	HT Ampliada	Nº casos	13	3	16	
		% del total	6,7%	1,5%	8,2%	
	No	Nº casos	41	88	129	
		% del total	21,1%	45,4%	66,5%	
	Total		Nº casos	86	108	194
			% del total	44,3%	55,7%	100,0%

RESULTADOS

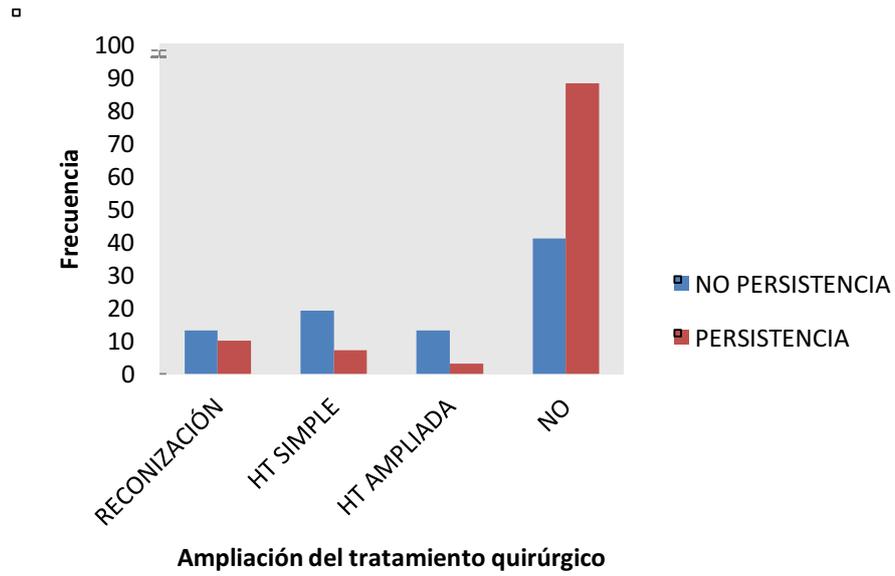


Figura 69. Persistencia VPH-AR y la ampliación del tratamiento quirúrgico.

DISCUSIÓN

1. CONSIDERACIONES SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

1.1. Edad

En nuestro estudio, la edad media de las pacientes sometidas a conización cervical por SIL-AG con persistencia VPH-AR, fue 36,88 años, con un rango entre 20 y 66 años.

Esta edad media es similar a la encontrada en los distintos estudios publicados sobre mujeres con lesiones premalignas del cérvix, que se sitúa entre los 27 y 47 años, según el meta-análisis de Ghaem-Maghami et al¹⁷¹.

En el estudio de Kietpeerakool et al¹⁷², sobre factores clínico-patológicos predictores de escisión incompleta tras conización, la edad media de las 201 pacientes era 43 años, con un rango entre 26 y 72 años.

Encontramos que el 56,5% de las mujeres de nuestro estudio pertenecen al grupo de edad comprendido entre los 31 y los 50 años, y el 11,1% son mayores de 50 años, siendo comparable a la mayoría de las series publicadas^{160, 173}.

1.2. Menopausia

En nuestra serie, 15 pacientes (13,9%) eran menopáusicas en el momento del diagnóstico, y 93 (86,1%) no lo eran. No observamos significación estadística ($p=0,071$) entre la persistencia de la infección viral y el estado menopáusico de las mujeres.

En el estudio de Serati et al¹⁷⁴, sobre factores de riesgo para la recurrencia de CIN tras conización, realizado en Italia con 282 mujeres conizadas, el 9,6% eran menopáusicas.

En el trabajo de Chen et al¹⁷⁵ con 1113 pacientes, de las cuales 141 presentaban márgenes positivos en la conización, el 35,4% de las mujeres eran menopáusicas, frente al 11,6% que no lo eran.

Khang et al¹⁷⁶, en un estudio con 206 mujeres menopáusicas con CIN2-3 tratadas mediante LEEP, encuentran un 12,6% de recurrencia lesional, y consideran que

la persistencia por el mismo genotipo de VPH-AR, especialmente el VPH 18, es un factor de riesgo para el desarrollo de CIN2-3 recurrente.

2. CONSIDERACIONES SOBRE LOS COFACTORES DE ADQUISICIÓN DE LA INFECCIÓN POR VPH

2.1. Edad de inicio de las relaciones sexuales

La edad media de inicio de las relaciones sexuales en nuestro estudio fue 17,82 años, con un rango comprendido entre 14 y 34 años. El rango de los 16 a los 20 años de edad de inicio de las relaciones sexuales engloba el 88% del total de casos estudiados, siendo la edad más frecuente a los 17 años.

El estudio AFRODITA¹⁷⁷ es un estudio transversal de base poblacional, diseñado para estimar el grado de realización de la citología preventiva en España, así como la prevalencia de indicadores sociodemográficos, reproductivos, de conducta sexual y del conocimiento de la mujer sobre la infección por VPH, el cribado y el cáncer de cérvix. Según los resultados de este estudio aproximadamente un tercio de las mujeres estudiadas iniciaron sus relaciones sexuales entre los 19 y 21 años. La media de edad de la primera relación sexual es de 23,8 años en mujeres de 56 a 70 años, y de 18,2 años en las mujeres de 18 a 25 años.

Hemos encontrado relación estadísticamente significativa entre la edad de la primera relación sexual y la persistencia VPH-AR ($p=0,000$).

En el 53,6% de las mujeres con persistencia vírica tras la conización la edad de inicio de las relaciones sexuales fue antes de los 20 años, y en el 27,8% de las mujeres sin infección viral tras tratamiento.

Simões et al¹⁷⁸ publican un estudio retrospectivo de 274 mujeres conizadas, en el que la edad media de la primera relación sexual es 17,42 años, muy similar a nuestro trabajo, con un rango que varía desde los 10 a 32 años.

En el estudio de Valasoulis et al¹⁷⁹ realizado en Grecia, sobre el papel de los cofactores, relacionados con la infección por VPH, para predecir enfermedad residual/recurrente, la edad media de inicio de las relaciones sexuales es 18,3 años.

DISCUSIÓN

Crochard et al¹⁸⁰, en un estudio que recoge población de 18 a 24 años de 7 países europeos, reporta una edad media de inicio de las relaciones sexuales de entre 18 a 20 años según los diferentes países.

Los datos publicados, siguen la línea de nuestros resultados en cuanto a mayor riesgo de infección VPH cuanto más temprana sea la edad de inicio de las relaciones sexuales¹⁷⁷⁻¹⁸³.

2.2. Número de parejas sexuales

En nuestro estudio, el 15,7% de las mujeres han tenido una pareja, el 38,9% dos parejas, y el 31,5% tres parejas. La media de compañeros sexuales es 2,49, con un rango de 1 a 6 parejas.

En el estudio AFRODITA¹⁷⁷, el 70,6% de las pacientes han tenido una sola pareja sexual en el global de la población española.

Apreciamos significación estadística ($p=0,016$) entre la persistencia vírica y el número de parejas sexuales, destacando que en las mujeres que habían aclarado el virus tras tratamiento ninguna había tenido más de 5 parejas.

En el estudio publicado por Crochard et al¹⁸⁰, sobre jóvenes de 18-24 años de 7 países europeos, el número medio de parejas sexuales varía de 2 a 4.

3. CONSIDERACIONES SOBRE LOS COFACTORES IMPLICADOS EN LA CARCINOGENÉISIS CERVICAL

3.1. Hábito tabáquico

En nuestro trabajo, el 54,6% de las pacientes eran fumadoras frente al 36,1% que no lo eran, y el 9,3% pertenecían al grupo de ex-fumadoras (≥ 1 año sin fumar).

No hemos encontrado relación estadísticamente significativa entre el hábito tabáquico y la persistencia VPH-AR ($p=0,914$).

En la mayoría de los datos revisados en la literatura, se pone de manifiesto que el tabaco interfiere en un aumento de la prevalencia de la infección, y se asocia también con un aumento del riesgo de CIN y cáncer cervical⁷⁴⁻⁸¹.

DISCUSIÓN

En el estudio español de Moya et al¹⁸⁴, sobre factores de riesgo relacionados con la persistencia o recidiva de CIN, el 28,8 % de las pacientes eran fumadoras.

Andrade et al¹⁸⁵ en su trabajo con una muestra de 97 mujeres conizadas con márgenes positivos, en la que el 35% eran fumadoras, concluyen que el tabaco es un factor de riesgo para la recidiva de CIN.

En la serie de Liss et al¹⁸⁶ con 269 mujeres tratadas y un 27,8% de afectación de bordes quirúrgicos, el 40% de las mujeres eran fumadoras. De todos los factores de riesgo evaluados, los autores concluyen que solo el consumo de tabaco se asocia con márgenes positivos (OR: 2; IC 95%: 1,12-3,6).

Sarian et al¹⁸⁷ en su trabajo sobre factores asociados con la persistencia del VPH después del tratamiento de CIN2+ con LLETZ destacan el tabaco como factor asociado con la persistencia del VPH postconización.

3.2. Paridad

El número medio de partos por paciente fue de 1,12 partos, con un rango entre 0 y 5 partos. Obtenemos una media de 0,44 abortos por paciente, cuyo rango abarca de 0 a 3 abortos.

Al estudiar la relación entre el número de partos y la persistencia VPH-AR, no encontramos una correlación estadísticamente significativa.

Muñoz et al⁸⁴, en un trabajo multicéntrico en el que incluye ocho estudios de casos y controles sobre el carcinoma invasivo y dos estudios sobre el carcinoma “in situ” de cuello uterino, sugieren que las mujeres con tres o cuatro embarazos tienen un riesgo 2,6 veces superior de presentar cáncer de cuello uterino que las nulíparas, y las mujeres con 7 ó más partos tienen un riesgo 3,8 veces mayor.

3.3. Anticonceptivos hormonales

Moreno et al⁸² realizan un meta-análisis en el que incluyeron 10 estudios de casos y controles en pacientes con cáncer de cuello uterino (CIS y carcinoma invasivo). Concluyen que el uso a largo plazo de los anticonceptivos orales podría aumentar hasta 4 veces el riesgo de cáncer de cérvix en mujeres infectadas por el VPH.

DISCUSIÓN

En nuestra muestra el 25% de las mujeres utilizaban anticonceptivos hormonales desde hace 3 años o más, frente al 16,7% que lo usaban desde hace menos de 3 años, y el 58,3% que no lo habían empleado.

Aunque no observamos relación estadísticamente significativa entre la persistencia vírica y el uso de anticoncepción hormonal ($p=0,073$), la utilización de los mismos predominaba en las mujeres con persistencia VPH-AR respecto a las libres de infección viral, independientemente del tiempo de uso de dicho tratamiento hormonal.

Según los resultados obtenidos en la encuesta DAPHNE¹⁸⁸, sobre anticoncepción en España, publicada en el año 2011, el porcentaje de mujeres que utilizaban anticonceptivos hormonales era un 20,3% en el año 2007, un 17,9% en el año 2009, y un 16,3% en el año 2011. Por tanto, el porcentaje de mujeres que usaban anticonceptivos hormonales es mayor en nuestra muestra que la media de dicho estudio.

Marks et al¹⁸⁹, en un estudio realizado sobre el uso de anticonceptivos hormonales en 1.070 mujeres tailandesas, concluyeron que el uso prolongado de anticonceptivos hormonales combinados (más de seis años) está asociado a un incremento en el riesgo de infección por VPH, hecho que es independiente de la conducta sexual de la mujer y de las alteraciones citológicas. Así mismo no observaron esta asociación en mujeres que usaban anticonceptivos monofásicos con progesterona.

Posteriormente, estos autores¹⁹⁰ 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 VPH con fuerte asociación estadística debido al efecto de las hormonas sexuales femeninas en la respuesta del huésped a la infección por VPH, con una disminución del aclaramiento viral.

En el trabajo de Stensen et al¹⁹¹, que incluye 2784 mujeres danesas, el uso de anticonceptivos orales se asocia a la persistencia del VPH-AR tipo-específico (OR: 1,35; IC 95%: 1,13-1,63), sobre todo del VPH 16. La terapia hormonal y los dispositivos intrauterinos hormonales no incrementan el riesgo de persistencia de la infección viral.

3.4. Inmunosupresión

Coronado et al¹⁹² destacan el estado de inmunosupresión como factor de riesgo predictivo de recurrencia de lesiones preneoplásicas del tracto genital inferior.

En nuestra serie el 24% de las pacientes presentaban un estado de inmunodepresión, bien por infección VIH, haberse sometido a un trasplante en tratamiento inmunosupresor, enfermedad autoinmune en tratamiento con corticoides u otras causas.

La incidencia global de CIN en las mujeres VIH positivas varía entre el 10 y el 25%¹⁰³⁻¹⁰⁶. Las pacientes con VIH positivo tienen un mayor riesgo de infección por VPH y 9 veces más riesgo de desarrollar cáncer cervical.

Ceftin et al¹⁹³ relacionan el estado de inmunosupresión de la infección por VIH con el riesgo de enfermedad persistente o recurrente en su estudio con una muestra de 242 mujeres conizadas, de las que el 15,7% eran VIH positivas.

4. CONSIDERACIONES SOBRE LOS RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

4.1. Citología diagnóstica y vaginosis bacteriana

Los resultados de la citología de cribado fueron: 71,3% H-SIL, 24,1% L-SIL, 1,9% AGC, 0,9% ASC-H, 0,9% ASC-US y 0,9% negativa.

Se registró vaginosis bacteriana en el 13,9% de los casos y no apreciamos relación estadísticamente significativa con la persistencia vírica ($p=0,650$). En 93 mujeres (47,9%) con persistencia VPH no se detectó VB.

Gillet et al¹⁹⁴ en un meta-análisis, con una selección de 12 estudios incluyendo un total de 6372 mujeres, concluyen una asociación positiva entre vaginosis bacteriana e infección cervical por VPH (OR: 1,43; IC 95%: 1,11-1,84).

Guo et al¹⁹⁵ analizan el papel de la VB en la persistencia de la infección por VPH-AR en 707 pacientes, de las cuales 298 (42,1%) aclararon el virus. La prevalencia de VB fue del 11,2% en el grupo de VPH-AR persistente, y del 5% en las mujeres que

eliminaron el virus, por lo que los autores sugieren que la vaginosis puede favorecer la persistencia VPH-AR.

4.2. Infección por VPH y genotipo viral

El diagnóstico molecular del VPH preconización se realizó en las 108 mujeres de la muestra con persistencia VPH-AR postratamiento, y sus resultados fueron: 89 casos (82,4%) de VPH-AR y 19 casos (17,6%) de VPH-AR y BR.

Muchos trabajos reflejan claramente un aumento de la prevalencia de infección por VPH con el aumento de la severidad de la lesión cervical, llegando de manera mayoritaria a cerca del 90% de prevalencia de infección por VPH en los casos de carcinoma.

En un estudio realizado en Barcelona, por González-Bosquet et al¹⁹⁶, se obtuvo una prevalencia de infección por VPH del 46,6% en ASCUS, 60,7% en LSIL y del 84,2% en HSIL.

En la serie de Pérez-Castro et al¹⁹⁷, en Galicia, sobre un total de 94 pacientes con lesión CIN2+, la prevalencia del VPH-AR fue del 96,8%, con un 47% de infecciones simples y un 53% de infecciones múltiples.

En nuestro estudio se detectó un 42,6% de infecciones simples y un 57,4% de infecciones múltiples.

De los datos revisados en la literatura, se observó que en Portugal, en un estudio realizado por Pista et al¹⁹⁸, con muestras cervicales de 1.057 mujeres, el 32% de las infecciones por VPH eran debidas a infecciones múltiples, además estas infecciones fueron más frecuentes en mujeres menores de 30 años.

Algunos estudios sugieren el posible papel de la infección múltiple y la progresión de la neoplasia cervical, mientras que otros muestran que el riesgo de lesiones precancerosas o cáncer invasor en mujeres infectadas por múltiples tipos no es mayor que el de las infectadas por un único tipo de VPH. La evidencia más reciente señala que el factor más importante en la progresión de las lesiones es el genotipo del VPH¹⁹⁹, más que si la infección es simple o múltiple.

DISCUSIÓN

Es muy relevante el estudio epidemiológico de Chaturvedi et al²⁰⁰ donde se realizó un ensayo en 5871 mujeres de entre 18 y 25 años para analizar la presencia del genotipo de VPH, la presencia de infección por un único genotipo o varios, y la presencia de lesión intraepitelial de alto grado. La técnica de detección del VPH fue mediante PCR. La prevalencia de la infección por el VPH fue del 50%, los tipos oncogénicos en el 33,8% e infecciones múltiples en el 18,2%. El número de VPH en una mujer que tenía coinfección varió entre infecciones múltiples que iban desde el 48,6% del VPH 54 al 86,7% del VPH 34. Cuando se consideraron todas las posibles combinaciones de pares, a través de 25 genotipos de VPH, hubo 6 combinaciones de genotipos significativamente más propensos a estar involucrados en una coinfección: VPH 11-53, 31-33, 34-42, 45-68-73, 44-68-73 y 18-33. Las razones de estas observaciones no son claras. Mientras la reactividad cruzada de la PCR podría explicar algunos de estos resultados, como la asociación 31-33, para otros no hubo diferencias basadas en las relaciones filogenéticas. Los resultados indican que los genotipos implicados en la coinfección ocurren al azar.

Siguiendo con el estudio de Chaturvedi²⁰⁰, para los tipos VPH 16 y 18, la coinfección con otros tipos de VPH adicionales no se asoció con el riesgo de CIN2+. Sin embargo, la coinfección con múltiples tipos oncogénicos: 16, 31, 33, 35, 52 y 58 sí asoció un incremento marginal de CIN2+. No obstante, esta asociación fue impulsada en gran parte por la presencia del VPH 16. Pero no hubo evidencia significativa para la interacción tipo a tipo en el aumento de CIN2+. Sus resultados sugirieron que cada genotipo de VPH sigue un camino independiente en la capacidad de progresión de la enfermedad.

Kanh et al²⁰¹ estudiaron las diferencias en la progresión a CIN 3 según el tipo de VPH-AR. En mujeres infectadas por VPH-AR con citología inicial negativa, el 10% de las mujeres infectadas por el VPH 16 o 18 presentaron CIN 3 a los 3 años, y el 18-20% a los 10 años. Sin embargo, la progresión a CIN 3 de las mujeres con otros tipos de VPH-AR fue del 3%.

Los genotipos del VPH identificados en nuestro estudio en el examen preconización por orden de frecuencia fueron:

- VPH 16 en el 58,3% de los casos. El VPH 16 fue el detectado con mayor frecuencia, tanto en infecciones simples como multigenómicas.

DISCUSIÓN

- VPH 31 en el 21,3%.
- VPH 51 en el 13%.
- VPH 33 en el 10,2%.
- VPH 58, 68 y 53 en el 9,3%.
- VPH 18 y 66 en el 8,3%.
- VPH 35, 39, 52 y 59 en el 5,6%.
- VPH 73 en el 4,6%.
- VPH 45 y 56 en el 3,7%.
- VPH 82 en el 2,8%.
- VPH Indeterminados en el 0,9%.

Un análisis combinado de 12 estudios llevados a cabo en 25 países, realizado por Muñoz et al²⁰², estimó la prevalencia específica de tipos de VPH en 3.085 casos de CCU. Se aplicó un protocolo de estudio estandarizado y la determinación de ADN de VPH mediante PCR con cebadores GP5+/6+. La prevalencia global de VPH fue del 96% y los tipos más comunes fueron, por orden de frecuencia decreciente, los VPH 16, 18, 45, 31, 33, 52, 58, 35, 59, 56, 51, 39, 69, 73 y 82.

Actualmente, hay evidencia suficiente para afirmar que el VPH 16 es el genotipo más frecuente a nivel mundial y en cada región, pero que existen variaciones en la prevalencia del resto de los diferentes genotipos del VPH según la población que estudiemos²⁰³.

En nuestra muestra, el VPH 31 es el segundo más frecuente al igual que en la serie de Pérez-Castro et al¹⁹⁷ y el estudio de Tjalma et al²⁰⁴. Castle et al²⁰⁵, en lesiones CIN3 encuentran, por orden de frecuencia, VPH 16, 31, 52, 51 y 18.

El VPH 18, en nuestra serie, representa el 8,3% de los casos, por detrás del VPH 16, 31, 51, 33, 53, 58 y 68. Estos resultados concuerdan con otros estudios realizados en la población española. Doménech-Peris et al²⁰⁶, aportan una prevalencia del VPH 18 del

DISCUSIÓN

2,9%, por detrás también del VPH 16, 58, 33, 31 y 53; Otero Motta et al²⁰⁷, del 5,8% para el VPH 18, por detrás del VPH 16, 53, 51, 31, 58, 66, 56 y 33.

En el estudio español de García- Espinosa et al²⁰⁸ realizado sobre 533 muestras con neoplasia cervical intraepitelial, analizado la determinación del ADN-VPH con PCR, se encontró la siguiente distribución: VPH 16 (26%), VPH 31 (10%), VPH 58 (8%) y VPH 18 (5%). Hubo presencia de coinfección en el 30% de los casos de CIN1 y en el 18% de los casos de CIN2.

Los datos publicados por el *Information Centre on HPV* de la WHO/ICO⁴⁰ en el 2015, con referencia a los tipos más frecuentes de VPH en España en las HSIL, son los siguientes: VPH 16 (42,6%), VPH 52 (5,9%), VPH 33 (5,4%), VPH 31 (4,3%), VPH 51 (4%), VPH 18 (3%), VPH 35 (2,9%), VPH 58 (2,8%), VPH 56 (2,4%) y VPH 68 (2%) (Figura 8).

4.3. Colposcopia

Una revisión realizada en el año 2006 por la Cochrane²⁰⁹, basada en la evidencia actualmente disponible sobre el empleo de la colposcopia, concluye que es un método excelente para el estudio de mujeres con citología anormal, pero sin utilidad como test de cribado primario ni como sustituto de la evaluación histológica. Confirma su eficacia en establecer la topografía de las lesiones y localizar las áreas más sospechosas para dirigir la biopsia. Además se confirma su eficacia en la planificación individual de la terapia más efectiva.

En nuestro estudio, la colposcopia fue patológica en el 86,5% de los casos: encontramos hallazgos colposcópicos de Grado 1 o cambios menores en 10 casos (9,6%), y de Grado 2 o cambios mayores en 80 casos (76,9%).

Las lesiones colposcópicas se localizaban con mayor frecuencia en el cuadrante anterior (24%), y sobre todo a las 12 h. (21,2%). El 70% ocupaban sólo un cuadrante. Estas lesiones penetraban por el orificio cervical externo en 8 casos (7,4%).

Hammes et al²¹⁰ publicaron un estudio cuyo objetivo era evaluar la capacidad de la colposcopia en predecir el diagnóstico histológico al aplicar la Clasificación de la IFCPC. Para distinguir entre cérvix normal y el que presenta lesiones de bajo grado (CIN1) respecto al que presenta CIN2+, la colposcopia tuvo una sensibilidad del 61,1%

y una especificidad del 94,4%. Los hallazgos colposcópicos clasificados como cambios mayores tuvieron el mayor VPP para detectar CIN2+. Las anomalías colposcópicas dentro de la ZT y las lesiones extensas estuvieron más estrechamente relacionadas con lesiones de alto grado.

4.4. Diagnóstico anatomopatológico del cono

A. Afectación de los márgenes quirúrgicos

La afectación de los márgenes quirúrgicos de la conización es un factor asociado a la persistencia/recurrencia lesional^{184, 211, 212}. La incidencia de bordes quirúrgicos afectados ha sido descrita hasta en el 48% de los casos en los que se realiza un tratamiento escisional^{171, 174, 213}.

Sin embargo la escisión incompleta no es sinónimo de lesión residual. El daño térmico en los márgenes de resección puede dificultar su evaluación histológica. La frecuencia del daño térmico es dependiente de la experiencia y habilidad del cirujano, y de la utilización de un equipo adecuado²¹⁴.

Los márgenes quirúrgicos de la conización, en nuestra serie, resultaron afectados en 26 casos (24,1%): el borde endocervical en 18 casos (16,7%), el exocervical en 6 casos (5,6%) y ambos bordes en 2 casos (1,8%).

Hemos encontrado relación estadísticamente significativa entre la localización del margen quirúrgico afectado y la persistencia de la infección viral ($p=0,000$). En el grupo de persistencia VPH-AR el borde endocervical está afectado en el 9,3% de los casos, y el exocervical en un 3,1%, frente al 0,0% y 41,8%, respectivamente, en los que eliminaron el virus. Ambos bordes está afectados en el 1% de los casos de persistencia VPH-AR, y en ningún caso de no persistencia del virus. Los bordes quirúrgicos están libres de lesión escamosa en el 42,3% de los casos de persistencia VPH-AR y en el 2,6% de los casos de aclaramiento del virus.

Song et al²¹⁵ encontraron la determinación del ADN-VPH positiva postconización en pacientes con bordes quirúrgicos negativos en el 17,9% de los casos, aunque Distéfano et al²¹⁶ han publicado un estudio con hasta el 50% de positividad del VPH-AR postratamiento, por lo que llegaron a sugerir que el tratamiento escisional era efectivo para eliminar la lesión preneoplásica pero no para la infección por VPH, y de

DISCUSIÓN

ahí la importancia de la determinación del VPH en el seguimiento de estas pacientes. El alto riesgo de desarrollar CIN2+ en caso de persistencia de tipos específicos de VPH también ha sido evaluado en otros estudios^{217, 218}, y recomiendan el genotipado del VPH en el seguimiento postratamiento.

En el estudio de Kietpeerakool et al²¹¹, la frecuencia de afectación de márgenes del cono fue del 44,3%: el margen endocervical en el 19,9%, el exocervical en el 11,4% y ambos bordes en el 12,9% de los casos. Los autores concluyen que el estado menopáusico y la longitud del cono de menos de 10 mm son predictores de escisión incompleta del margen endocervical.

En la serie de Chen et al¹⁷⁵, el 12,3% de los casos tenían márgenes positivos, con afectación del margen endocervical en el 32%, el exocervical en el 45,4%, y ambos márgenes en el 22,6%. Este autor también reporta que el estado menopáusico y la existencia de grandes áreas de lesión son factores de riesgo para márgenes positivos.

El estudio anatomopatológico tras el tratamiento escisional, en el estudio español de Moya et al¹⁸⁴, mostró en el 12,5% la afectación de cómo mínimo un margen de resección. El porcentaje más alto se halló en las pacientes con CIN3, donde el 16% presentó todos los márgenes afectados.

En la serie de O'Shea et al²¹⁹, con 144 mujeres sometidas a conización (LEEP), el 46,5% de los casos tenían los márgenes afectados: el margen endocervical en el 11,1%, el exocervical en el 30,5%, y ambos márgenes endo y exocervical en el 4,9%.

Como la mayoría de los distintos trabajos publicados, el estudio de Leguevaque et al²²⁰ refiere que el factor predictor de recurrencia más importante es el test del VPH-AR positivo a los 6 meses de la intervención, seguido de la afectación del margen endocervical.

5. CONSIDERACIONES SOBRE LA PERSISTENCIA DE LA INFECCIÓN POR VPH POSTRATAMIENTO

El control y seguimiento de las pacientes tratadas por una lesión de alto grado es una parte muy importante de cualquier programa de prevención de cáncer de cérvix. La determinación del VPH-AR contribuye notablemente a mejorar el rendimiento de la citología y la colposcopia en la detección del fallo terapéutico.

DISCUSIÓN

En un meta-análisis, publicado en 2012 por Kocken et al¹⁶⁰, donde se han revisado 8 publicaciones con 1.513 mujeres tratadas por CIN2+, se valoró la utilidad de la detección del VPH-AR frente a la citología y la prueba combinada (citología más detección de ADN del VPH-AR). Las sensibilidades agrupadas fueron 79% (IC 95%: 72-85%) para la citología, 92% (IC 95%: 87-96%) para las pruebas del VPH-AR, y 95% (IC 95%: 91-98%) para la prueba conjunta. Las especificidades agrupadas fueron 81% (IC 95%: 74-86%) para la citología, 76% (IC 95%: 67- 84%) para las pruebas del VPH-AR, y 67% (IC 95%: 60-74%) para la prueba combinada.

Actualmente, la utilidad del test de detección de ADN del VPH-AR en el seguimiento de las pacientes tratadas por CIN2+²²¹⁻²²⁷, es un estándar de referencia, y se recomienda su utilización por la mayoría de las sociedades científicas.

En nuestra serie la determinación molecular del VPH a los 6 meses de la conización se realizó a todas las pacientes de la muestra. De las 480 conizaciones llevadas a cabo en los 5 años del periodo de estudio, se dieron 108 casos con persistencia VPH (22,5%). Los resultados según el tipo de VPH en dichos casos de persistencia fueron: 78 casos (72,2%) de VPH-AR y 29 casos (26,9%) de VPH-AR y BR.

La persistencia del VPH postconización demostrada en nuestro trabajo por orden de frecuencia fueron:

- VPH 16 en el 34,3% de los casos.
- VPH Bajo Riesgo en el 26,9%.
- VPH 68 en el 13,9%.
- VPH Indeterminado en el 11,1%.
- VPH 66 en el 8,3%.
- VPH 31 en el 7,4%.
- VPH 18 y 51 en el 6,5%.
- VPH 33, 73 y 53 en el 5,6%.
- VPH 58 en el 4,6%.

DISCUSIÓN

- VPH 35 y 56 en el 3,7%.
- VPH 45 y 26 en el 2,8%.
- VPH 39, 52 y 82 en el 1,9%.
- VPH 59 en el 0,9%.

Rositch et al²²⁸ realizan un meta-análisis, en el que incluyen 25 estudios, para estimar la incidencia de infección por VPH-AR tras tratamiento de CIN, en casi 2.000 mujeres, y concluyen que dicha incidencia varía ampliamente del 0 al 47%.

El estudio de Baser²²⁹ et al en el 2014, sobre factores de riesgo para la persistencia del VPH tras tratamiento de CIN2-3, en 113 mujeres conizadas, detecta persistencia del VPH-AR en el 21,2% de los casos, muy similar a nuestra serie.

En el trabajo de Alonso et al¹⁶¹, con 203 mujeres diagnosticadas de CIN 2-3, el porcentaje de pacientes con el estudio molecular del VPH positivo después del cono fue del 32,5%. Lubrano et al²³⁰ informan de un 25% de positividad en la determinación de ADN-VPH postratamiento, y en el estudio de Houfflin-Debargé²³¹ et al fue positiva en el 34,6% de los casos.

Diversos estudios han evaluado los factores de riesgo para la persistencia VPH-AR tras el tratamiento escisional²³². Costa et al²³³ presentan un 70,2% de casos positivos para el estudio del VPH que fue realizado con PCR. En determinaciones sucesivas del VPH, el porcentaje de casos positivos fue disminuyendo, de tal manera que en la segunda determinación bajó al 33,5% y en la tercera al 18,8%. El VPH 16 fue el genotipo hallado con mayor frecuencia, como en nuestro estudio. Estos autores informan que la afectación del margen endocervical, el grado de lesión histológica, y la HSIL en la biopsia colposcópica, así como la edad y la lesión citológica fueron predictores del aclaramiento del VPH-AR.

Sin embargo, Song et al²¹⁵ demostraron que estos factores no se asociaban con la persistencia de VPH-AR. Kim et al²³⁴ encontraron que ni la edad ni el grado de la lesión histológica eran factores de riesgo de persistencia de infección, pero demostraron que las tasas de aclaramiento de VPH-AR fueron significativamente más lentas en pacientes con cargas de ADN VPH-AR mayores de 500 URL, y concluyen que la carga

DISCUSIÓN

viral puede influir de forma negativa en el aclaramiento del VPH-AR en pacientes con márgenes libres.

Según la investigación de estos estudios^{215, 234}, la mayoría de las pacientes están libres de infección VPH-AR dentro de los 6 meses después de la conización. Sin embargo, la infección persistente por VPH-AR se encontró en el 11,6 a 17,9% de las pacientes con márgenes de conización negativos. Así, estos hallazgos sugieren que la conización era eficaz en la erradicación de la CIN, pero no para la infección VPH-AR.

Pocos estudios, sin embargo, han identificado genotipos específicos de VPH en la persistencia postratamiento. Pirtea et al²³⁵ detectan a los 6 meses del tratamiento LEEP una persistencia de VPH 16 en el 23,5%, VPH 52 en el 5,9%, VPH 18 en el 4,7%, VPH 33 en el 2,4% y VPH 31 en el 1,2%. También identifican VPH 6 en el 2,4% y VPH 11 en el 1,2%. El VPH 16, igual que en nuestra serie, tuvo la mayor tasa de persistencia: 23,5% a los 6 meses, 11,8% a los 12 meses y 8,2% a los 18 meses. La multiinfección fue muy similar a nuestro trabajo alcanzando el 54,12%, y si incluye al VPH 16 fue del 46,83%.

La mayoría de los estudios de investigación definieron la persistencia como la positividad para cualquier genotipo de VPH-AR antes de la conización y cualquier genotipo de VPH-AR después de la conización^{236, 237}. En realidad, la evidencia de persistencia sólo puede obtenerse si el genotipo de VPH específico se detecta antes y después de la conización. Además, valorar los genotipos específicos es un enfoque relevante, ya que determinados tipos y especies filogenéticas pueden comportarse de manera diferente en relación a la persistencia y a la carcinogénesis.

Sin embargo, como la mayoría de dichos estudios han incluido pacientes con márgenes afectos después de la conización, la relación entre la infección específica por un determinado genotipo y la reaparición de un VPH-AR diferente posterior al tratamiento no se entiende completamente.

Kudoh et al²³⁸ llevaron a cabo pruebas de genotipo VPH-AR antes y después de la conización con márgenes quirúrgicos libres, y analizaron la relación entre la persistencia de los genotipos VPH-AR de tipo específico y la persistencia de otros genotipos VPH-AR, así como la reaparición de citología anormal después del tratamiento. El objetivo de estos autores fue determinar si la infección VPH-AR tipo-

DISCUSIÓN

específica previa a la conización y las infecciones persistentes VPH-AR después de la conización sin márgenes afectos tienen relación con la reaparición de una citología anormal. Así, demostraron que durante el seguimiento de las pacientes tras el tratamiento, la citología anormal se encuentra con mayor frecuencia en pacientes con VPH-AR que en pacientes con VPH-AR negativo. También se encontró que las pacientes con genotipos VPH 16 y 56 positivos en el postoperatorio tenían una tasa significativamente mayor de reaparición de L-SIL. Estos datos apoyan la utilidad de las pruebas de determinación de genotipo VPH-AR después de la conización para el seguimiento de las pacientes con CIN. En este estudio, dos de cada cuatro mujeres con infección persistente del VPH 16 debutaron con la reaparición de LSIL o superior 2 años después de la conización. Estas observaciones sugieren que pueda ser necesario realizar un seguimiento más estricto en el postoperatorio de mujeres VPH 16 positivas.

La persistencia de VPH-AR de tipo específico después de la conización también fue evaluada por Gosvig et al²³⁹ e informaron que la persistencia para el genotipo VPH 16 fue menor en comparación con otros genotipos de VPH-AR después de la conización, aunque la infección por VPH 16 tenga una mayor tendencia a persistir en comparación con otros genotipos VPH-AR. En este estudio mostraron que las especies $\alpha 5/\alpha 6$ eran más propensas a persistir que las especies $\alpha 9$ (VPH 16 y genotipos relacionados) o las especies $\alpha 7$ (VPH 18 y genotipos relacionados).

Según todos los estudios anteriores, las mujeres con resultado positivo para la infección por VPH-AR tras el tratamiento, tienen un mayor riesgo de desarrollar CIN después del mismo que las mujeres con resultado negativo para la infección VPH-AR.

Además, Kreimer et al²¹⁷ informaron que el riesgo de recurrencia a los 2 años de CIN 2+ asociado con positividad del VPH 16 fue significativamente mayor que con otros genotipos de VPH-AR (37% frente al 10,8%). Kocken et al¹⁶⁰ también demostraron que el riesgo a los 5 años de CIN 2+ fue del 66,2% en las mujeres positivas para el VPH 16 y el 39,7% en las VPH 16 negativas. Estos resultados sugieren que la determinación del genotipo de VPH-AR podría ser un método útil para predecir la recurrencia de la enfermedad después del tratamiento.

En el estudio prospectivo de Söderlund-Strand et al²¹⁸ se realizó un seguimiento a 178 pacientes que habían sido tratadas mediante conización con asa diatérmica. Las

DISCUSIÓN

visitas eran a los 3, 6, 12, 24 y 36 meses con citología y determinación de ADN-VPH con PCR. Después de 3 años de seguimiento:

- 4 pacientes (3,1%) presentaban persistencia al mismo tipo de VPH-AR que había sido detectado antes de la conización.
- Se encontró enfermedad residual/recurrente CIN 2+ confirmada con histología en 9 pacientes (5,1%).
- Todas estas mujeres tuvieron persistencia VPH-AR de tipo específico con una sensibilidad del 100% (IC 95%: 63-100%) y una especificidad del 94% (89,8-97,4%) pero sólo 7/9 tuvieron una citología anormal, con una sensibilidad del 77.8% (40,2-96,1%) y especificidad del 94.7% (89,8-97,4%).
- En otras mujeres con cualquier otro patrón de VPH-AR positivo (por ejemplo, cambio de tipo viral o positividad fluctuante) no hubo enfermedad residual o recurrente (sensibilidad 0% [IC 95%: 0-37,1%] y especificidad 80,5% [73,5-86%]).

Los autores de este estudio concluyen que la persistencia de VPH-AR tipo específico predice la enfermedad residual o recurrente, y el genotipado del VPH puede ser útil para mejorar la especificidad del estudio molecular del VPH en el seguimiento de pacientes tras tratamiento.

Así, la determinación de los factores de riesgo para la persistencia y la reaparición de genotipos específicos de VPH después de una conización aumentan la comprensión de la historia natural de la infección por VPH en relación al tratamiento de CIN2+.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- 1^a) Las mujeres sometidas a tratamiento escisional cervical, por lesiones escamosas de alto grado, en el HUVV de Málaga, han presentado persistencia por VPH-AR en 1 de cada 5 casos. La especie $\alpha 9$ fue la más persistente, siendo el genotipo 16 el más frecuente, seguido de los genotipos 68, 66 y 31. Además, en más del 50% de las pacientes infectadas por genotipos pertenecientes a alguna de las especies VPH que se han identificado, el tiempo de persistencia ha sido superior a 18 meses.
- 2^a) De todos los cofactores estudiados, los de adquisición del VPH, concretamente la edad de inicio de relaciones y el número de parejas sexuales han demostrado una alta significación con la persistencia VPH-AR postconización. Los hallazgos colposcópicos, la afectación de los bordes quirúrgicos de la conización, el cirujano responsable de la intervención y la ampliación del tratamiento quirúrgico también han aportado información relevante en la correlación con la persistencia vírica. Sin embargo, otros cofactores clásicamente relacionados con la persistencia (tabaco, paridad, anticonceptivos hormonales e inmunosupresión) no han mostrado ninguna correlación.
- 3^a) En nuestro medio, los genotipos VPH-BR asociados a genotipos VPH-AR, están relacionados con la persistencia vírica. De hecho, los genotipos VPH-BR expresados en forma de infección multigenómica con algún genotipo VPH-AR, siguen en frecuencia al genotipo 16.
- 4^a) Las infecciones VPH multigenómicas han mostrado una mayor relación con la persistencia VPH-AR postconización que las infecciones simples.
- 5^a) El perfil de paciente más frecuente asociado a persistencia vírica posterior a tratamiento escisional de lesión escamosa cervical de alto grado en nuestra Área Sanitaria, se describe como una mujer española, de 36 años que inició las relaciones sexuales a los 17 años, que ha tenido 2 o 3 parejas sexuales, que cuenta con un parto o ninguno, fumadora, consumidora de anticonceptivos hormonales, no vacunada y portadora del genotipo 16, en forma de infección simple o multigenómica, tanto con otros virus VPH-AR como con genotipos VPH-BR, durante más de 18 meses.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol.* 2002; 55 (4): 244-65.
2. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, et al. International Agency for Research on Cancer. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11. [Internet]. Lyon, France: IARC; 2013. Disponible en: <http://globocan.iarc.fr>
3. Arbyn M, Raifu AQ, Autier P, Ferlay J. Burden of cervical cancer in Europe: estimates for 2004. *Annals Oncol.* 2007; 18: 1708-15.
4. North AB, South CD. Cancer Incidence in Antartica (1998-2002). In: Curado MP, Edwards B, Shin HR, Storm H, Ferlay J, Heanue M, editors. *Cancer Incidence in Five Continents. Vol. 9. IARC Scientific Publications No. 160.* Lyon: IARC Press; 2007.
5. World Health Organisation. World health statistics 2010. [Internet]. Geneva: WHO; 2010. Disponible en: <http://www.who.int/whosis/whostat/2010>
6. Torrejón R, Fernández C, Rita M, editors. *Cáncer de cérvix: Proceso Asistencial Integrado. 2ª ed.* Sevilla: Conserjería de Salud. Junta de Andalucía; 2010.
7. Sant M, Allemani C, Santaquilani M, Arnold K, Marchesi F, Capocaccia R, et al. EURO CARE-4. Survival of cancer patients diagnosed in 1995-1999. Results and commentary. *Eur J Cancer.* 2009; 45: 931-91.
8. Gondos A, Chokunonga E, Brenner H, Parkin DM, Sankila R, Borok MC, et al. Cancer survival in southern African urban population. *Int J Cancer.* 2004; 112 (5): 860-4.
9. Verdecchia A, Guzzinati S, Francisci S, De Angelis R, Bray F, Allemani C, et al. Survival trends in European cancer patients diagnosed from 1988 to 1999. *Eur J Cancer.* 2009; 45: 1042-66.
10. Schwarz E, Freese UK, Gissmann L, Mayer W, Roggenbuck B, Stremlau A, zur Hausen H. Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells. *Nature.* 1985 Mar 7-13; 314 (6006): 111-4.
11. Münger K, Howley PM. Human papillomavirus immortalization and transformation functions. *Virus Res.* 2002; 89: 213-28.
12. Duensing S, Münger K. Mechanisms of genomic instability in human cancer: insights from studies with human papillomavirus oncoproteins. *Int J Cancer.* 2004; 109: 157-62.

BIBLIOGRAFÍA

13. Hiller T, Poppelreuther S, Stubenrauch F, Ifyner T. Comparative analysis of 19 genital human papillomavirus types with regard to p53 degradation, immortalization, phylogeny, and epidemiologic risk classification. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006; 15:1262-67.
14. Muñoz N, Castellsagué X, de González AB, Gismann L. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine.* 2006; 24 Suppl 3: S3/1-10.
15. Scheffner M, Münger K, Byrne JC, Howley PM. The state of the p53 and retinoblastoma genes in human cervical carcinoma cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1991 Jul 1; 88(13): 5523-7.
16. Zehbe I, Richard C, DeCarlo CA, Shai A, Lambert PF, Lichtig H, et al. Human papillomavirus 16 E6 variants differ in their dysregulation of human keratinocyte differentiation and apoptosis. *Virology.* 2009 Jan 5; 383 (1): 69-77.
17. Ziegert C, Wentzensen N, Vinokurova S, Kissel'jov F, Eienkel J, Hoeckel M, et al. A comprehensive analysis of HPV integration loci in anogenital lesions combining transcript and genome-based amplification techniques. *Oncogene.* 2003; 22: 3977-84.
18. Ghittoni R, Accardi R, Hasan U, Gheit T, Sylla B, Tommasino M. The biological properties of E6 and E7 oncoproteins from human papillomaviruses. *Virus Genes.* 2009 Oct 17.
19. McLaughlin-Drubin ME, Munger K. Oncogenic activities of human papillomaviruses. Review. *Virus Res.* 2009; 143:195-208.
20. de Sanjosé S, Quint WG, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol.* 2010; 11: 1048-56.
21. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology.* 2004; 324:17-27.
22. Halpem AL. Comparison of papillomavirus and immunodeficiency virus evolutionary patterns in the context of a papillomavirus vaccine. *J Clin Virol.* 2000; 19: 43-56.
23. Myers G, Lu H, Calef C, Leitner T. Heterogeneity of papillomaviruses. *Semin Cancer Biol.* 1996; 7: 349-58.
24. Ong CK, Chan S, Campo Ms, Fujinaga K, Mavromara-Nazos P, Labropoulou V, et al. Evolution of human papillomavirus type 18: an ancient phylogenetic root

BIBLIOGRAFÍA

- in Africa and intratype diversity reflect coevolution with human ethnic groups. *J Virol*. 1993; 67: 6424-31.
25. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, et al. International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med*. 2003; 348 (6): 518-27.
 26. Smith J, Herrero R, Erles K, Grimm D, Muñoz N, Bosch FX, et al. Adeno-associated virus seropositivity and HPV-induced cervical cancer in Spain and Colombia. *Int J cancer*. 2001; 94: 520-26.
 27. Muñoz N, Hernández-Suarez G, Méndez F, Molano M, Posso H, Moreno V, et al. Persistence of HPV infection and risk of high-grade cervical intraepithelial neoplasia in a cohort of Colombian women. *Br J Cancer*. 2009; 100: 1184-90.
 28. Trottier H, Franco EL. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine*. 2006; 24 (Suppl 1): S1-S15.
 29. Moscicki AB, Shiboski S, Broering J, Powell K, Clayton L, Jay N, et al. The natural history of human papillomavirus infection as measured by repeated DNA testing in adolescent and young women. *J Pediatr*. 1998; 132: 277-84.
 30. Myers ER, McCrory DC, Nanda K, Bastian L, Matchar DB. Mathematical model for the natural history of human papillomavirus infection and cervical carcinogenesis. *Am J Epidemiol*. 2000; 151: 1158-71.
 31. Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Muñoz N, Snijders PJ, Vacarella S, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet*. 2005; 366 (9490): 991-8.
 32. de Sanjosé S, Díaz M, Castellsagué X, Clifford G, Bruni L, Muñoz N, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2007; 7: 453-9.
 33. Burchell AN, Winer RL, de Sanjosé S, Franco EL. Epidemiology and transmission dynamics of genital HPV infection. *Vaccine*. 2006; 24 (suppl 13): S52-S61.
 34. Bruni L, Díaz M, Castellsagué X, Ferrer E, Bosch X, de Sanjosé S. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J Infect Dis*. 2010; 202: 1789-99.

BIBLIOGRAFÍA

35. Clifford GM, Smith JS, Aguado T, Franceschi S. Comparison of HPV type distribution in high-grade cervical lesion and cervical cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer*. 2003; 89 (1): 101-5.
36. Castellsagué X, Iftner T, Roura E, Vidart JA, Kjaer SK, Bosch FX, et al. Prevalence and genotype distribution of human papillomavirus infection of the cervix in Spain: the CLEOPATRE study. *J Med Virol*. 2012; 84 (6): 947-56.
37. Jurado IM, Olalla MA, Moyano M, Olalla MM, Rodríguez-Pastor JL. Prevalencia de VPH en mujeres con citologías y colposcopias normales en la unidad del T.G.I. de Málaga. Mallorca: Póster N°19. IX Congreso AEEM, Oct. 2008.
38. Jurado IM, Olalla MA, Moyano R, Garcés MD. El virus del papiloma oncógeno en el cuello uterino de mujeres climatéricas con citologías normales. *Gineblog*. [Internet]. 2013. Disponible en: <http://www.gineblog.com/sexualidad/enfermedades-transmision-sexual/virus-papiloma-oncogeno-cuello-uterino-mujeres-climatericas-con-citologias-normales.html>
39. Olalla MA, Jurado IM, Moyano R, Pérez S, Espejo MP, Olalla MM. Prevalence and Genotype Distribution of Oncogenic-risk Human Papilloma Virus in the Cervix of Climateric Women with Normal Pap Smears. *Open Journal of Epidemiology*. 2014; 4 (3): 164-68. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4236/ojepi.2014.43022>
40. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Albero G, Aldea M, Serrano B, Valencia S, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Spain. Summary Report 2015-03-20.
41. Marrazzo JM, Koutsky LA, Kiviat NB, Kuypers JM, Stine K. Papanicolaou test screening and prevalence of genital human papillomavirus among women who have sex with women. *Am J Public Health*. 2001; 91: 947-52.
42. Frazer IH. Prevention of cervical cancer through papillomavirus vaccination. *Nat Rev Immunol*. 2004; 4: 46-54.
43. zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: From basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer*. 2002; 2: 342-50.
44. Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, et al. The Biology and Life-Cycle of Human Papillomaviruses. *Vaccine*. 2012; 30 (Suppl 5): F55-F70. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.06.083>

BIBLIOGRAFÍA

45. Stanley M. Immune responses to human papillomavirus. *Vaccine*. 2006; 24 (Suppl 1): S16-S22.
46. Koutsky L. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Am J Med*. 1997; 102: 3-8.
47. Frazer IH, Cox JT, Mayeaux EJ Jr., Franco EL, Moscicki AB, Palefsky JM, et al. Advances in prevention of cervical cancer and other human papillomavirus-related diseases. *Pediatr Infect Dis J*. 2006; 25: 65-81.
48. Bouvard V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissasi F, et al. A review of human carcinogens-Part B: biological agents. *Lancet Oncol*. 2009; 10: 321-22.
49. Nguyen HH, Broker TR, Chow LT, Alvarez RD, Vu HL, Andrasi J, et al. Immune responses to human papillomavirus in genital tract of women with cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2005; 96: 452-61.
50. Padilla-Paz LA. Human papillomavirus vaccine: history, immunology, current status and future prospects. *Clin Obstet Gynecol*. 2005; 48: 226-40.
51. Winer RL, Kiviat NB, Hughes JP, Adam DE, Lee SK, Kuipers JM, et al. Development and duration of human papillomavirus lesions after initial infection. *J Infect Dis*. 2005; 191(5): 731-8.
52. Castellsagué X, Bosch FX, Muñoz N. Environmental co-factors in Human Papillomavirus carcinogenesis. *Virus Res*. Nov 2002; 89 (2): 191-99.
53. Castellsagué X, Bosch FX, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV, de Sanjosé S, et al. Male circumcision, penile human papillomavirus infection, and cervical cancer in female partners. *N Engl J Med*. 2002; 346: 1105-12.
54. Winer RL, Hughes JP, Feng Q, O'Reilly S, Kiviat NB, Colmes KK, et al. Condom use and the risk of genital HPV infection in young women. *N Engl J Med*. 2006; 354: 2645-54.
55. Da Silva DM, Velders MP, Nieland JD, Shiller JT, Nickoloff BJ, Kast WM. Physical interaction of human papillomavirus virus-like particles with immune cells. *Int Immunol*. 2001 May; 13 (5): 633-41.
56. Zentz C, Wiesner M, Man S, Frankenberger B, Wollenberg B, Hillemanns P, et al. Activated B cells mediate efficient expansion of rare antigen-specific T cells. *Hum Immunol*. 2007 Feb; 68 (2): 75-85.
57. Peng S, Trimble C, Wu L, Pardoll D, Roden R, Hung CF. HLA-DQB1*02 restricted HPV-16 E7 peptide-specific CD4+ T cell immune responses correlate

BIBLIOGRAFÍA

- with regression of HPV-16-associated high-grade squamous intraepithelial lesions. *Clin Cancer Res.* 2007 Apr 15; 13 (8): 2479-87.
58. Cogliano V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F. Carcinogenicity of human papillomaviruses. *Lancet Oncol.* 2005; 6: 204.
 59. Gilles C, Manigart Y, Konopnicki D, Barlow P, Rozenberg S. Management and outcome of cervical intraepithelial neoplasia lesions: a study of matched cases according to HIV status. *Gynecol Oncol.* 2005; 96: 112-18.
 60. Molano M, Van den Brule A, Plummer M, Weiderpass E, Posso H, Arslan A, et al, por el HPV Study Group. Determinants of clearance of human papillomavirus infections in Colombian women with normal cytology: a population-based, 5-year follow-up study. *Am J Epidemiol.* 2003; 158: 486-94.
 61. Richardson H, Kelsall G, Tellier P, Voyer H, Abrahamowicz M, Ferenczy A, et al. The natural history of type-specific human papillomavirus infections in female university students. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003; 12: 485-90.
 62. Burchell AN, Eduardo L, Franco EL. Epidemiology of oncogenic and nononcogenic HPV types, and the evidence for differences in their sexual transmissibility. En: Monsonego J, editor. *Emerging issues on HPV infections: from science to practice.* Basel: Karger; 2006. p. 20-23.
 63. Puig-Tintoré LM, Cortés J, Castellsagué X, Torné A, Ordi J, de Sanjosé S, et al. Prevención del cáncer de cuello uterino ante la vacunación frente al virus del papiloma humano. *Prog Obstet Ginecol.* 2006; 49 (Supl 2): 5-62.
 64. Bosch FX, de Sanjosé S. Human papillomavirus and cervical cancer-burden and assessment of causality. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2003; 31: 14-9.
 65. Cuzick J, Szarewski A, Cubie H, Hulman G, Kitchener H, Luesley D, et al. Management of women who test positive for high-risk types of human papillomavirus: the HART study. *Lancet.* 2003; 362: 1871-6.
 66. Castle PE, Rodriguez AC, Burk RD, Herrero R, Wacholder S, Alfaro M, et al. Proyecto Epidemiológico Guanacaste (PEG) Group. Short term persistence of human papillomavirus and risk of cervical precancer and cancer: population base cohort study. *BMJ.* 2009 Jul 28; 339: b2569.
 67. Baldwin P, Laskey R, Coleman N. Translational approaches to improving cervical screening. *Nat Rev Cancer* 2003; 3(3):217-26.

BIBLIOGRAFÍA

68. Ho GY, Bierman R, Beardsley L. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med.* 1998; 338: 423-8.
69. Moscicki AB, Hills N, Shiboski S, Powell K, Jay N, Hanson E et al. Risks for incident human papillomavirus infection and low-grade squamous intraepithelial lesion development in young females. *JAMA.* 2001; 285: 2995-3002.
70. Moscicki AB, Shiboski S, Hills NK, Powell KJ, Jay N, Hanson EN, et al. Regression of low-grade squamous intra-epithelial lesions in young women. *Lancet.* 2004; 364: 1678-83.
71. Nobbenhuis MAE, Helmerhorst TJM, Van den Brule AJC, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Bezemer PD, et al. Cytological regression and clearance of high-risk human papillomavirus in women with an abnormal cervical smear. *Lancet.* 2001; 358: 1782-3
72. Ostor AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol.* 1993; 12:186-92.
73. Moscicki AB, Schiffman M, Burchell A, Albero G, Giuliano AR, Goodman MT, et al. Updating the Natural History of Human Papillomavirus and Anogenital Cancers. *Vaccine.* 2012; 30: F24-F33. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.05.089>
74. Kjellberg L, Hallmans G, Ahren AM. Smoking, diet, pregnancy and oral contraceptive use are risk factors for cervical intra-epithelial neoplasia in relation to human papillomavirus infection. *Br J Cancer.* 2000; 82: 1332-8.
75. Castellsagué X, Muñoz N. Chapter 3: Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis-role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2003; 31: 20-8.
76. Kapeau AS, Luostarinen T, Jellum E, Dillner J, Hakama M. Is smoking an independent risk factor for invasive cervical cancer? A nested case-control study within Nordic biobanks. *Am J Epidemiol.* 2009; 169 (4): 480-8.
77. Pérez S, Jurado IM, Moyano R, Hierro I, Gómez T, Olalla MA. Is there a clinical profile for patients with persistent HPV infection following conization? Sevilla: Póster 1-15. Congreso EUROGIN, Feb. 2015. Disponible en: http://www.eurogin.com/2015/images/pdf/eurogin_2015_abstracts_part_3.pdf
78. Trimble CL, Genkinger JM, Burke AE, Hoffman SC, Helzlsouer KJ, Diener-West M, et al. Active and passive cigarette smoking and the risk of cervical neoplasia. *Obstet Gynecol.* 2005; 105: 174-81.

BIBLIOGRAFÍA

79. Prokopczyk B, Cox JE, Hoffman D, Waggoner SE. Identification of tobacco-specific carcinogen in the cervical mucus of smokers and nonsmokers. *J Natl Cancer Inst.* 1997; 89 (12): 295-303.
80. Szarewski A, Maddox P, Royston P, Jarvis M, Anderson M. The effect of stopping smoking on cervical Langerhans' cells and lymphocytes. *BJOG Int J Obstet Gynaecol.* 2001; 108 (3): 295-303.
81. Inamine M, Nagai Y, Mitsuhashi A, Nagase S, Yaegashi N. Cigarette smoke stimulates VEGF-C expression in cervical intraepithelial neoplasia (CIN) 1 and 2 lesions. *Int J Clin Oncol.* 2012; 17 (5): 498-504.
82. Moreno V, Bosch FX, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV, Walboomers JM, et al. Effect of oral contraceptives on risk of cervical cancer in women with human papillomavirus infection: the IARC multicentric case-control study. *Lancet.* 2002; 359: 1085-92.
83. Castellsagué X, Díaz M, Vaccarella S, de Sanjosé S, Muñoz N, Herrero R, et al. Intrauterine device use, cervical infection with human papillomavirus, and risk of cervical cancer: a pooled analysis of 26 epidemiological studies. *Lancet Oncol.* 2011; 12 (11): 1023-31.
84. Muñoz N, Franceschi S, Bosetti C, Moreno V, Herrero R, Smith JS, et al. Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *Lancet.* 2002. 359: 1093-101.
85. Cortés J, Martín-Torres F, Ramón y Cajal JM, Gil A, Velasco J, Abizanda M, et al. Prevención primaria y secundaria de los cánceres de cuello y vulva: recomendaciones para la práctica clínica. *Prog Obstet Ginecol.* 2010; 53 (Supl 1): 1-19.
86. Smith JS, Muñoz N, Herrero R, Eluf-Neto J, Ngelangel C. Evidence for *Chlamydia trachomatis* as a human papillomavirus cofactor in etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines. *J Infect Dis.* 2002; 185 (3): 324-31.
87. Silins I, Ryd W, Strand A, Wadell G, Tornberg S, Hanson BG, et al. *Chlamydia trachomatis* infection and persistence of human papillomavirus. *Int J Cancer.* 2005; 116 (1): 110-5.
88. Samoff E, Koumans EH, Markovitz LE, Sternberg M, Sawyer MK, Swan D, et al. Association of *Chlamydia trachomatis* with persistence of high-risk types of

BIBLIOGRAFÍA

- human papillomavirus in a cohort of female adolescents. *Am J Epidemiol.* 2005; 162 (7): 668-75.
89. Smith JS, Herrero R, Bosetti C, Muñoz N, Bosch FX, Eluf-Neto J, et al. Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2002; 94 (21): 1604-13.
90. Quint KD, de Koning MNC, Geraets DT, Quint WGV, Pirog EC. Comprehensive analysis of Human Papillomavirus and Chlamydia trachomatis in in-situ and invasive cervical adenocarcinoma. *Gynecol Oncol.* 2009; 114 (3): 390-4.
91. Rieck G, Fiander A. The effect of lifestyle, role of diet and nutrition factors on gynaecological cancer. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2006; 20 (2): 227-51.
92. Davies AA, Smith GD, Harbord R, Bekkering GE, Sterna JAC, Beynon R, et al. Nutritional interventions and outcome in patients with cancer or preinvasive lesions: systematic review. *J Natl Cancer Inst.* 2006; 98 (14): 961-73.
93. Kahn MJ, Castle PE, Lorincz AT, Wacholder S, Sherman M, Scott DR, et al. 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. *J Natl Cancer Inst.* 2005; 97: 1072-9.
94. Vinokurova S, Wentzensen N, Kraus I, Klaes R, Driesch C, Melsheimer P, et al. Type-dependent integration frequency of human papillomavirus genomes in cervical lesions. *Cancer Res.* 2008; 68: 307-13.
95. Wang SS, Hildesheim A. Viral and host factors in human papillomavirus persistence and progression. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2003; 31: 35-40.
96. Grodzki M, Besson G, Clavel C, Arslan A, Franceschi S, Birembaut P, et al. Increased risk for cervical disease progression of French women infected with the human papillomavirus type 16 E6-350G variant. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006. 15: 820-2.
97. Moberg M, Gustavsson I, Gyllensten U. Type-specific associations of human papillomavirus load with risk of developing cervical carcinoma in situ. *Int J Cancer.* 2004; 112: 854- 9.
98. Moberg M, Gustavsson I, Wilander E, Gyllensten U. High viral loads of human papillomavirus predict risk of invasive cervical carcinoma *Brit J Cancer.* 2005; 92: 891-4.

BIBLIOGRAFÍA

99. Ordi J, Puig-Tintoré LM, Torné A, Sanz S, Esteve R, Romagosa C, et al. Contribución de la detección del virus del papiloma humano de alto riesgo al estudio de las lesiones premalignas y malignas del cérvix uterino. *Med Clin (Barc)*. 2003; 121: 441-5.
100. Clavel C, Masure M, Bory JP, Putaud I, Mangeonjean C, Lorenzato M, et al. Human papillomavirus testing in primary screening for the detection of high-grade cervical lesions: a study of 7932 women. *Br J Cancer*. 2001; 89: 1616-23.
101. Hudelist G, Manavi M, Pischinger KI, Watkins-Riedel T, Singer CF, Cubista E, et al. Physical state and expression of HPV DNA in benign and dysplastic cervical tissue: different levels of viral integration are correlated with lesion grade. *Gynecol Oncol*. 2004; 92: 873-80.
102. Ozsaran AA, Ates T, Dikmen Y, Zeytinoglu A, Terek C, Erhan Y, et al. Evaluation of the risk of cervical intraepithelial neoplasia and human papilloma virus infection in renal transplant patients receiving immunosuppressive therapy. *Eur J Gynaecol Oncol*. 1999; 20 (2): 127-30.
103. de Sanjosé S, Palefsky J. Cervical and anal HPV infections in HIV positive women and men. *Virus Res*. 2002; 89 (2): 201-11.
104. Palefsky J, Holly EA. Immunosuppression and co-infection with HIV. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2003; 31: 41-6.
105. Chirenje ZM. HIV and cancer of the cervix. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2005; 19: 269-76.
106. Galceran J, Marcos-Gragera R, Soler M, Romaguera A, Ameijide A, Izquierdo A, et al. Cancer incidence in AIDS patients in Catalonia, Spain. *Eur J Cancer*. 2007; 43 (6): 1085-91.
107. Folkman J. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. *Semin Oncol*. 2002; 29 (Suppl 16): 15-8.
108. Commission of the European Communities. Recomendación del Consejo sobre el Cribado del Cáncer de 2 de diciembre 2003 (2003/878/CE). *Diario Oficial de la Unión Europea (L327/34, del 16-XII-2003)*.
109. IARC International Agency for Research on Cancer. Cervix Cancer Screening. *IARC Handbooks of Cancer Prevention*. Vol. 10. Lyon: IARC Press; 2005.
110. ACS American Cancer Society. *Cancer Facts and Figures*. Atlanta: American Cancer Society; 2008.

BIBLIOGRAFÍA

111. ACOG American College of Obstetrician and Gynecologist. Practice Bulletin: clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. Cervical Cytology Screening. August 2003; N° 45.
112. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. JAMA. 2002; 287(16): 2114-19.
113. Arbyn M, Ronco G, Anttila A, Meijer CJ, Poljak M, Ogilvie G et al. Evidence regarding human papillomavirus testing in secondary prevention of cervical cancer. Vaccine. 2012; 30 Suppl 5: F88-F99.
114. Castle PE, Bulten J, Confortini M, Klinkhamer P, Pellegrini A, Siebers AG et al. Age-specific patterns of unsatisfactory results for conventional Pap smears and liquid-based cytology: data from two randomised clinical trials. BJOG. 2010; 117: 1067-73.
115. De Bekker-Grob EW, de Kok IM, Bulten J, van Rosmalen J, Vedder JE, Arbyn M et al. Liquid-based cervical cytology using ThinPrep technology: weighing the pros and cons in a cost-effectiveness analysis. Cancer Causes Control. 2012; 23: 1323-31.
116. Eversole GM, Moriarty AT, Schwartz MR, Clayton AC, Souers R, Fatheree LA et al. Practices of participants in the College of American Pathologists interlaboratory comparison program in cervicovaginal cytology, 2006. Arch Pathol Lab Med. 2010; 134: 331-5.
117. Tambouret RH. The evolution of the Papanicolaou smear. Clin Obstet Gynecol. 2013; 56: 3-9.
118. Dalla Palma P, Moresco L, Giorgi Rossi P. Health technology assessment of computer-assisted Pap test screening in Italy. Act Cytol. 2013; 57 (4): 349-58. doi: 10.1159/000351167
119. Papillo JL, St John TL, Leiman G. Effectiveness of the ThinPrep Imaging System: clinical experience in a low risk screening population. Diagn Cytopathol. 2008; 36: 155-60.
120. Mitchell MF, Schottenfeld D, Tortolero-Luna G, Cantor SB, Richards-Kortum R. Colposcopy for the diagnosis of squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis. Obstet Gynecol. 1998 Apr; 91(4): 626-31.

BIBLIOGRAFÍA

121. Cantor SB, Cárdenas-Turanzas M, Cox DD, Atkinson EN, Nogueras-González GM, Beck JR, et al. Accuracy of colposcopy in the diagnostic setting compared with the screening setting. *Obstet Gynecol.* 2008 Jan; 111(1): 7–14.
122. Bornstein J, Bentley J, Bosze P, Girardi F, Haefner H, Menton M, et al. 2011 colposcopic terminology of the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy. *Obstet Gynecol.* 2012 Jul; 120 (1): 166-72.
123. Mitchell MF, Cantor SB, Ramanujam N, Tortolero-Luna G, Richards-Kortum R. Fluorescence spectroscopy for diagnosis of squamous intraepithelial lesions of the cervix. *Obstet Gynecol.* 1999; 93:462-70.
124. Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, Heller DS, Henry MR, Luff RD, et al. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *Arch Pathol Lab Med.* 2012 Oct; 136(10): 1266-97.
125. Alameda, F. Simposio Sociedad Española de Anatomía Patológica-Sociedad Española de Citología: detección de virus del papiloma humano en programas de cribado de cáncer cervical. *Rev Esp Patol.* 2014; 47(4): 245-54. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.patol.2014.05.001>
126. Ortiz M, Torres M, García A. Determinación del virus del papiloma humano (VPH): aspectos técnicos. En: de Sanjosé S y García AM, editores. *Virus del papiloma humano y cáncer: epidemiología y prevención.* 4ª monografía de la Sociedad Española de Epidemiología. Madrid: EMISA; 2006. p. 89-105.
127. Arney A, Bennett KM. Molecular diagnostic of human papillomavirus. *Laboratory Medicine.* 2010; 41(9): 523-30.
128. Hubbard RA. Human Papillomavirus Testing Methods. *Arch Pathol Lab Med.* 2013; 127(8): 9405.
129. Lőrincz AT, Richart RM. Human Papillomavirus DNA Testing as an Adjunct to Cytology in Cervical Screening Programs. *Arch Pathol Lab Med.* 2003; 127(8): 959-68.
130. Arbyn M, Roelens J, Simoens C, Buntinx F, Paraskevaidis E, Martin-Hirsch PP, et al. Human papillomavirus testing versus repeat cytology for triage of minor cytological cervical lesions. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013 Mar 28; 3: CD008054. doi: 10.1002/14651858.CD008054.pub2

BIBLIOGRAFÍA

131. Meijer CJ, Berkhof J, Castle PE, Hesselink ET, Franco EL, Ronco G, et al. Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. *Int J Cancer*. 2009; 124: 516–20.
132. Schiffman M, Solomon D. Clinical practice. Cervical-cancer screening with human papillomavirus and cytologic testing. *N Engl J Med*. 2013; 2324-31.
133. Stoler MH, Castle PE, Solomon D, Schiffman M. The expanded use of HPV testing in gynecologic practice per ASCCP-guided management requires the use of well-validated assays. *Am J Clin Pathol*. 2007; 127: 335-7.
134. Ramírez A, Musset M, Vilamala M, Muns M, Laso E, Serrano L, Alameda F. Hybrid capture 2 high-risk human papillomavirus test: should “grey zone” results justify repeating the test? *Anal Quant Cytol Histol*. 2013; 35: 152-6.
135. Wiwanitkit V. Cervista HPV HR test kit in cervical cancer screening. *J Low Genit Tract Dis*. 2013; 17: 99.
136. Chranioti A, Spathis A, Aga E, Meristoudis C, Pappas A, Panayiotides I, et Al. Comparison of two commercially available methods for HPV Genotyping. CLART HPV2 and Linear Array HPV genotyping tests. *Anal Quant Cytol Histol*. 2012; 34: 257-63.
137. Dutra I, Foroni I, Couto AR, Lima M, Bruge-Arma J. Molecular diagnosis of human papillomavirus and related diseases-from bench to bedside-research aspects, Dr. Davy Vanden Broeck (ed.), 2012 ISBN: 978-953-307-855-7, Intech. Disponible en: <http://www.interchopen.com/books/humanpapillomavirus-and-relateddiseases-from-bench-to-bedsideresearchaspects/molecular-diagnosis-of-human-papillomavirus>
138. Bonde J, Rebolj M, Ejegod DM, Preisler S, Lynge E, Rygaard C. HPV prevalence and genotype distribution in a population-based split-sample study of well-screened women using CLART HPV2 human papillomavirus genotype microarray system. *BMC Infect Dis*. 2014; 14(1):413. doi: 10.1186/1471-2334-14-413
139. Herraes-Hernandez E, Alvarez-Perez M, Navarro-Bustos G, Esquivias J, Alonso S, Aneiros-Fernandez J, et al. HPV Direct Flow CHIP: A new human papillomavirus genotyping method based on direct PCR from crude-cell extracts. *J Virol Methods*. 2013; 193: 9-17. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jviromet.2013.04.018>

BIBLIOGRAFÍA

140. Pinto AP, Degen M, Villa LL, Cibas ES. Immunomarkers in Gynecologic Cytology: The Search for the Ideal 'Biomolecular Papanicolaou Test'. *Acta Cytol.* 2012; 56 (2): 109-21. doi: 10.1159/000335065
141. Tornesello ML, Buonaguro L, Giorgi-Rossi P, Buonaguro FM. Viral and Cellular Biomarkers in the Diagnosis of Cervical Intraepithelial Neoplasia and Cancer. *Biomed Research International.* 2013, Article ID 519619, 10 pages. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/519619>
142. Godoy AEG, Bazzo KO, De Moura LB, Serafini EP. Expression Analysis of p53, Ki-67 and bcl-2 in Pre-Malignant Lesions of the Cervix. *Open Journal of Obstetrics and Gynecology.* 2014; 4: 462-69. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4236/ojog.2014.48067>
143. Brown CA, Bogers J, Sahebali S, Depuydt CE, De Prins F, Malinowski DP. Role of Protein Biomarkers in the Detection of High-Grade Disease in Cervical Cancer Screening Programs. *Journal of Oncology.* 2012, Article ID 289315, 11 pages. doi: 10.1155/2012/289315
144. Guo M, Baruch AM, Silva EG, Jan YJ, Lin E, Sneige N, et al. Efficacy of p16 and ProExC immunostaining in the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cervical carcinoma. *Am J Clin Pathol.* 2011; 135: 212–20. doi: 10.1309/AJCP1LLX8QMDXHHO
145. Torres FJ, Alameda F, Ordi J, Costa I. Utilidad de la inmunohistoquímica en el diagnóstico histológico y en el manejo de las lesiones del cuello uterino. *Rev Esp Patol.* 2012; 45 (2): 86-95.
146. Torné A, del Pino M, Cusido M, Alameda F, Andia D, Castellsagué X, et al. Guía de cribado del cáncer de cuello de útero en España, 2014. *Prog Obstet Ginecol.* 2014; 57 (Supl 1): 1-53.
147. Petry KU, Schmidt D, Scherbring S, Luyten A, Reinecke-Lüthge A, Bergeron C, et al. Triage Pap cytology negative, HPV positive cervical cancer screening results with p16/Ki-67 Dual-stained cytology. *Gynecol Oncol.* 2011; 121 (3): 505-9. doi: 10.1016/j.ygyno.2011.02.033
148. Ordi J, Sagasta A, Munmany M, Rodríguez-Carunchio L, Torne A, del Pino M. Usefulness of p16/Ki67 immunostaining in the triage of women referred to colposcopy. *Cancer Cytopathol.* 2014; 122: 227-35.
149. Dillner J, Rebolj M, Birembaut P, Petry KU, Szarewki A, Munk C, et al. Long term predictive values of cytology and human papillomavirus testing in cervical

BIBLIOGRAFÍA

- cancer screening: joint European cohort study. *BMJ*. 2008; 337: a1754. doi: 10.1136/bmj.a1754
150. Prendiville W, Cullimore J, Norman S. Large Loop excision of the transformation zone (LLETZ). A new method of management for women with cervical intraepithelial neoplasia. *Br J Obstet Gynecol*. 1989; 96: 1054-60.
 151. Oncoguía SEGO: Prevención del cáncer de cuello de útero. Guías de práctica clínica en cáncer ginecológico y mamario. Publicaciones SEGO. Octubre 2014.
 152. Urdaneta-Machado JR, Uhia AM, Cepeda de Villalobos M, Guerra M, Nasser Baabel-Zambrano N, Contreras-Benítez A. Conización con asas diatermias en lesiones premalignas de cuello uterino. *Prog Obstet Gynecol*. 2011; 54(10): 511-17.
 153. Soutter WP, Sasieni P, Panoskaltsis T. Long-term risk of invasive cervical cancer after treatment of squamous cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer*. 2006; 118: 2048–55.
 154. Strander B, Andersson-Ellstrom A, Milsom I, Sparen P. Long term risk of invasive cancer after treatment for cervical intraepithelial neoplasia grade 3: population based cohort study. *BMJ*. 2007; 335: 1077.
 155. Zielinski GD, Bais AG, Helmerhorst TJ, Verheijen RHM, de Schipper FA, Snijders PJF, et al. HPV testing and monitoring of women after treatment of CIN 3: review of the literature and meta-analysis. *Obstet Gynecol Surv*. 2004 Jul; 59(7): 543–53.
 156. Melnikow J, Kulasingam S, Slee C, Helms LS. Surveillance after treatment for cervical intraepithelial neoplasia: outcomes, cost, and cost-effectiveness. *Obstet Gynecol*. 2010; 116(5): 1158-70.
 157. Wright TC, Massad LS, Dunton CHJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D. 2006 consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia or adenocarcinoma in situ. *Am J Obstet Gynecol*. 2007; 197: 340-5.
 158. Chan BKS, Melnikow J, Slee CA, Arellanes R, Sawaya GF. Posttreatment human papillomavirus testing for recurrent cervical intraepithelial neoplasia: a systematic review. *Am J Obstet Gynecol*. 2009 Apr; 200(4): 422.e1–9.
 159. Paraskevaidis E, Arbyn M, Sotiriadis A, Diakomanolis E, Martin-Hirsch P, Koliopoulos G, et al. The role of HPV DNA testing in the follow-up period after

BIBLIOGRAFÍA

- treatment for CIN: a systematic review of the literature. *Cancer Treat Rev.* 2004 Apr; 30(2): 205–11.
160. Kreimer AR, Guido RS, Solomon D, Schiffman M, Wacholder S, Jeronimo J, et al. Human papillomavirus testing following loop electrosurgical excision procedure identifies women at risk for posttreatment cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 disease. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006; 15: 908-14.
161. Kocken M, Uijterwaal MH, de Vries ALM, Berkhof J, Ket JCF, Helmerhorst TJM, et al. 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. *Gynecol Oncol.* 2012 May; 125(2): 500–7. doi: 10.1016/j.ygyno.2012.01.015
162. Alonso I, Torné A, Puig-Tintoré LM, Esteve R, Quinto L, Campo E, et al. Pre- and post-conization high-risk HPV testing predicts residual/recurrent disease in patients treated for CIN 2-3. *Gynecol Oncol.* 2006 Nov; 103(2): 631–6.
163. Paraskevaïdis E, Kalantaridou SN, Paschopoulos M, Zikopoulos K, Diakomanolis E, Dalkalitsis N, et al. Factors affecting outcome after incomplete excision of cervical intraepithelial neoplasia. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2003; 24(6): 541-3.
164. Arbyn M, Paraskevaïdis E, Martin-Hirsch P, Prendiville W, Dillner J. Clinical utility of HPV-DNA detection: triage of minor cervical lesions, follow-up of women treated for high-grade CIN: an update of pooled evidence. *Gynecol Oncol.* 2005 Dec; 99 (3 Suppl 1): S7-11.
165. Chan PK, Ho WC, Wong MC, Chang AR, Chor JS, Yu MY. Epidemiologic risk profile of infection with different groups of human papillomaviruses. *J Med Virol.* 2009 Sep; 81(9): 1635-44.
166. Cuzick J, Szarewski A, Mesher D, Cadman L, Austin J, Perryman K, et al. Long-term followup of cervical abnormalities among women screened by HPV testing and cytology-Results from the Hammersmith study. *Int J Cancer.* 2008 May 15; 122(10): 2294-300
167. Nobbenhuis MA, Meijer CJ, van den Brule AJ, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Risse EK, et al. Addition of high-risk HPV testing improves the current guidelines on follow-up after treatment for cervical intraepithelial neoplasia. *Br J Cancer.* 2001 Mar 23; 84(6): 796-801.

BIBLIOGRAFÍA

168. Torne A, Fuste P, Rodriguez-Carunchio L, Alonso I, del Pino M., Nonell R, et al. Intraoperative postconisation human papillomavirus testing for early detection of treatment failure in patients with cervical intraepithelial neoplasia: a pilot study. *BJOG*. 2013 Mar; 120(4): 392-9.
169. Instituto Nacional de Estadística. Censo 2011. Cifras oficiales de población resultantes de la revisión del Padrón municipal a 1 de enero de 2011. Disponible en: <http://www.ine.es/jaxi/tabla.do?path=/t20/e260/a2011/10/&file=mun29.px&type=pcaxis&L=0>
170. Hatch KD, Shingleton HM, Orr JW Jr, Gore H, Soong SJ. Role of endocervical curettage in colposcopy. *Obstet Gynecol*. 1985 Mar; 65(3): 403-08.
171. Ghaem-Maghani S, Sagi S, Majeed G, Soutter WP. Incomplete excision of cervical intraepithelial neoplasia and risk of treatment failure: a meta-analysis. *Lancet Oncol*. 2007; 8: 985-93.
172. Kietpeerakool C, Srisomboon J, Ratchusiri K. Clinicopathologic predictors of incomplete excision after loop electrosurgical excision for cervical preneoplasia. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2005 Oct; 6(4): 481-4.
173. Kong TW, Son JH, Chang SJ, Paek J, Lee Y, Ryu HS. Value of endocervical margin and high-risk human papillomavirus status after conization for high-grade cervical intraepithelial neoplasia, adenocarcinoma in situ, and microinvasive carcinoma of the uterine cervix. *Gynecol Oncol*. 2014; 135: 468-73. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygyno.2014.09.022>
174. Serati M, Siesto G, Carollo S, Formenti G, Riva C, Cromi A, et al. Risk factors for cervical intraepithelial neoplasia recurrence after conization: a 10-year study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2012; 165: 86-90. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2012.06.026>
175. Chen Y, Lu H, Wan X, Lv W, Xie X. Factors associated with positive margins in patients with cervical intraepithelial neoplasia grade 3 and postconization management. *Int J Gynaecol Obstet*. 2009 Nov; 107 (2): 107-10. doi: 10.1016/j.ijgo.2009.05.027
176. Kang WD, Kim SM. Human papillomavirus genotyping as a reliable prognostic marker of recurrence after loop electrosurgical excision procedure for high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN2-3) especially in postmenopausal women. *Menopause*. 2016; 23 (1): 81-6. doi: 10.1097/GME.0000000000000488

BIBLIOGRAFÍA

177. de Sanjosé S, Cortés X, Méndez C, Puig-Tintoré L, Torné A, Roura E, et al. Age at sexual initiation and number of sexual partners in the female Spanish population. Results from the AFRODITA survey. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2008; 140: 234-40. doi: 10.1016 /j.ejogrb.2008.04.005
178. Simões R, Campaner AB. Post-cervical conization outcomes in patients with high-grade intraepithelial lesions. *APMIS.* 2013; 121: 1153-61.
179. Valasoulis G, Koliopoulos G, Founta C, Kyrgiou M, Tsoumpou I, Valari O, et al. Alterations in human papillomavirus-related biomarkers after treatment of cervical intraepithelial neoplasia. *Gynecol Oncol.* 2011; 121: 43-48. doi: 10.1016/j.ygyno.2010.12.003
180. Crochard A, Luyts D, di Nicola S, Gonçalves MA. Self-reported sexual debut and behavior in young adults aged 18-24 years in seven European countries: implications for HPV vaccination programs. *Gynecol Oncol.* 2009 Dec; 115(3 Suppl): S7-S14. doi: 10.1016/j.ygyno.2009.06.003
181. Plummer M, Peto J, Franceschi S. International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer. Time since first sexual intercourse and the risk of cervical cancer. *Int J Cancer.* 2012; 130: 2638–44. doi: 10.1002/ijc.26250
182. Almonte M, dos Santos I, Asare A, Gilham C, Sargent A, Bailey A, et al. Sexual Behavior and HPV Infection in British Women, by Postal Questionnaires and Telephone Interviews. *J. Med Virol.* 2011; 83: 1238–46. doi: 10.1002/jmv.22085
183. Shikary T, Bernstein D, Jin Y, Zimet G, Rosenthal S, Kahn J. Epidemiology and risk factors for human papillomavirus infection in a diverse sample of low income young women. *J Clin Virol.* 2009; 46: 107-11.
184. Moya AM, Martínez Escoriza, JC. Cálculo de prevalencia y riesgo atribuible de los factores de riesgo relacionados con la persistencia o recidiva de neoplasia cervical intraepitelial (CIN). *Clin Invest Gin Obst.* 2012; 39(3): 102-7. doi: 10.1016/j.gine.2010.11.009
185. Andrade CEMDC, Dos Reis R, Vieira MA, Da Silva IDC, Tsunoda AT, Fregnani JHTG, et al. Risk factors for cervical intraepithelial neoplasia (CIN) recurrence in patients with positive cone margins. *Gynecol Oncol.* 2014; 133: 63.

BIBLIOGRAFÍA

186. Liss J, Alston M, Krull MB, Mazzoni SE. Predictors of Positive Margins at Time of Loop Electrosurgical Excision Procedure. *J Low Genit Tract Dis.* 2017 Jan; 21(1): 64-66. doi: 10.1097/LGT.0000000000000279
187. Sarian LO, Derchain SF, Pitta DR, Morais SS, Rabelo-Santos SH. Factors associated with HPV persistence after treatment for high-grade cervical intra-epithelial neoplasia with large loop excision of the transformation zone (LLETZ). *J Clin Virol.* 2004; 31: 270-4. doi: 10.1016/j.jcv.2004.05.012
188. Equipo DAPHNE. VII Encuesta de anticoncepción en España 2011. Madrid: Bayer HealthCare Pharmaceuticals; 2011.
189. Marks M, Gravitt PE, Gupta SB, Liaw KL, Kim E, Tadesse A, et al. The association of hormonal contraceptive use and HPV prevalence. *Int J Cancer.* 2011; 128 (12): 2962-70. doi: 10.1002/ijc.25628
190. Marks M, Gravitt PE, Gupta SB, Liaw KL, Tadesse A, Kim E, et al. Combined oral contraceptive use increases HPV persistence but not new HPV detection in a cohort of women from Thailand. *J Infect Dis.* 2011; 204(10): 1505-13. doi: 10.1093/infdis/jir560
191. Stensen S, Kjaer SK, Jensen SM, Frederiksen K, Junge J, Iftner T, et al. Factors associated with type-specific persistence of high-risk human papillomavirus infection: A population-based study. *Int J Cancer.* 2016; 138 (2): 361-8. doi: 10.1002/ijc.29719
192. Coronado P, Fasero M, Ramirez M, Arab C, Bellon M, García J, et al. La inmunosupresión es un factor mayor de riesgo en la recidiva de las lesiones del tracto genital inferior asociadas al virus del papiloma humano. *Prog Obstet Ginecol.* 2010; 53(5):179-88.
193. Cejtin HE, Zimmerman L, Mathews M, Patel A. Predictors of Persistent or Recurrent Disease After Loop Electrosurgical Excision Procedure. *J Low Genit Tract Dis.* 2017 Jan; 21(1):59-63. doi: 10.1097/LGT.0000000000000276
194. Gillet E, Meys JF, Verstraelen H, Bosire C, De Sutter P, Temmerman M, et al. Bacterial vaginosis is associated with uterine cervical human papillomavirus infection: a meta-analysis. *BMC Infect Dis.* 2011; 11: 10. doi: 10.1186/1471-2334-11-10
195. Guo Y, You K, Qiao J, Zhao Y, Geng L. Bacterial vaginosis is conducive to the persistence of HPV infection. *Int J STD AIDS.* 2012; 23: 581-4. doi: 10.1258/ijsa.2012.011342

BIBLIOGRAFÍA

196. González-Bosquet E, Esteva C, Muñoz-Almagro C, Ferrer P, Pérez M, Lailla JM. Identification of vaccine human papillomavirus genotypes in squamous intraepithelial lesions (CIN2-3). *Gynecol Oncol*. 2008; 111(1): 9-12.
197. Pérez-Castro S, Lorenzo-Mahía Y, Iñarrea Fernández A, Lamas- González MJ, Sarán-Diez MT, Rubio-Alarcón J, et al. Cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or worse in Galicia, Spain: HPV 16 prevalence and vaccination impact. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2014; 32(8): 479-85.
198. Pista A, Oliveira A, Verdasca N, Ribeiro F. Single and multiple human papillomavirus infections in cervical abnormalities in Portuguese women. *Clin Microbiol Infect*. 2011; 17: 941-46.
199. Choi YJ, Park JS. Clinical significance of human papillomavirus genotyping. *J Gynecol Oncol*. 2016 Mar; 27(2): e21. doi: 10.3802/jgo.2016.27.e21
200. Chaturvedi AK, Katki HA, Hildesheim A, Rodríguez AC, Quint W, Schiffman M, et al. Human papillomavirus infection with multiple types: pattern of coinfection and risk of cervical disease. *J Infect Dis*. 2011; 203(7): 910-20. doi: 10.1093/infdis/jiq139
201. Kanh MJ, Castle PE, Lorincz AT, Wacholder S, et al. The elevated 10-year risk of cervical pre-cancer and cancer in women with HPV type 16 or 18 and possible utility of type. Specific HPV testing in clinical practice. *J Natl Cancer Inst*. 2005; 97: 1072-9.
202. Muñoz N, Bosch FX, Castellsagué X, Díaz M, de Sanjosé S, Hammouda D, et al. Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective. *Int J Cancer*. 2004; 111: 278-85.
203. Catarino R, Vassilakos P, Jinoro J, Broquet C, Benski AC, Meyer-Hamme U, et al. Human papillomavirus prevalence and type-specific distribution of high- and low-risk genotypes among Malagasy women living in urban and rural areas. *Cancer Epidemiol*. 2016 Jun; 42: 159-66. doi: 10.1016/j.canep.2016.04.013
204. Tjalma WA, Fiander A, Reich O, Powell N, Nowakowski AM, Kirschner B, et al for the HERACLES/SCALE Study Group. Differences in human papillomavirus type distribution in high-grade cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer in Europe. *Int J Cancer*. 2013; 132: 854-67.
205. Castle PE, Schiffman M, Wheeler CM, Wentzensen N, Gravitt PE. Human papillomavirus genotypes in cervical intraepithelial neoplasia grade 3. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2010; 19: 1675-81.

BIBLIOGRAFÍA

206. Doménech-Peris A, Conesa-Zamora P, Sahiquillo-Frias L, Ortiz-Reina S, Moya-Biosca J, Acosta-Ortega J, et al. Human Papillomavirus genotyping in histological sections of precursor lesions of cervical carcinoma: its role as a possible adjunct for the evaluation of the oncogenic potential of specific Human Papillomavirus genotypes-a study in a coastal region of southeastern Spain. *Gynecol Obstet Invest.* 2010; 70: 113-19.
207. Otero-Motta A, Ordóñez JL, González-Celador R, Rivas B, García MC, Bullón A, et al. Prevalence of human papillomavirus genotypes in cytologic abnormalities from unvaccinated women living in north-western Spain. *APMIS.* 2011; 119: 204-15.
208. Garcia-Espinosa B, Moro-Rodríguez E, Álvarez-Fernández E. Genotype distribution of human papillomavirus (HPV) in histological sections of cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical carcinoma in Madrid, Spain. *BMC Cancer.* 2012; 12: 533. doi: 10.1186/1746-1596-8-204
209. Kyrgiou M, Tsoumpou I, Vrekoussis T, Martin-Hirsch P, Arbyn M, Prendiville W, et al. 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 Treat Rev.* 2006; 32 (7): 516-23.
210. Hammes LS, Naud P, Passos EP, Matos J, Brouwers K, Rivoire W, et al. Valor de la terminología de la Federación Internacional de Patología Cervical y Colposcopia (IFCPC) en la predicción de la enfermedad cervical. *J Low Genit Tract Dis.* 2008; 1: 14-22.
211. Kietpeerakool C, Srisomboon J, Ratchusiri K. Clinicopathologic predictors of incomplete excision after loop electrosurgical excision for cervical preneoplasia. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2005 Oct; 6(4): 481-4.
212. Dos Santos Melli PP, Duarte G, Quintana SM. Multivariate analysis of risk factors for the persistence of high-grade squamous intraepithelial lesions following loop electrosurgical excision procedure. *Int J Gynaecol Obstet.* 2016 May; 133(2): 234-7. doi: 10.1016/j.ijgo.2015.09.020
213. Jakus S, Edmonds P, Dunton C, King SA. Margin status and excision of cervical intraepithelial neoplasia: a review. *Obstet Gynecol Surv.* 2000 Aug; 55(8):520-7.

BIBLIOGRAFÍA

214. Paraskevaïdis E, Kichener H, Malamou-Mitsi V, Agnanti N, Lois D. Thermal tissue damage following laser and large loop conisation of the cervix. *Obstet Gynecol.* 1994; 84: 752-54.
215. Song SH, Lee JK, Oh MJ, Hur JY, Na JY, Park YK, et al. Persistent HPV infection after conization in patients with negative margins. *Gynecol Oncol.* 2006; 101 (3): 418-22
216. Distéfano AL, Picconi MA, Alonio LV, Dalbert D, Mural J, Bartt O, et al. Persistence of human papillomavirus DNA in cervical lesions after treatment with diathermic large loop excision. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 1998; 6 (5): 214–9.
217. Kreimer AR, Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Gonzalez P, Burk RD, et al. Long-term risk of recurrent cervical human papillomavirus infection and precancer and cancer following excisional treatment. *Int J Cancer.* 2012; 131 (1): 211–8. doi: 10.1002/ijc.26349
218. Söderlund-Strand A, Kjellberg L, Dillner J. Human papillomavirus type-specific persistence and recurrence after treatment for cervical dysplasia. *J Med Virol.* 2014; 86: 634-41. doi: 10.1002/jmv.23806
219. O’Shea AS, Stockdale CK. The impact of LEEP margin status on subsequent abnormal cervical cytology. *Proc Obstet Gynecol.* 2014; 4(2): 5.
220. Leguevaque P, Motton S, Decharme A, Soulé-Tholy M, Escourrou G, Hoff J. Predictors of recurrence in high-grade cervical lesions and a plan of management. *Eur J Surg Oncol.* 2010 Nov; 36(11): 1073-9. doi: 10.1016/j.ejso.2010.08.135
221. Costa S, Venturoli S, Origoni M, Preti M, Mariani L, Cristoforoni P, et al. Performance of HPV DNA testing in the follow-up after treatment of high-grade cervical lesions, adenocarcinoma in situ (AIS) and microinvasive carcinoma. *Ecancermedalscience.* 2015; 9: 528. doi: 10.3332/ecancer.2015.528
222. Gosvig CF, Huusom LD, Deltour I, Andersen KK, Duun-Henriksen AK, Madsen EM, et al. Role of human papillomavirus testing and cytology in follow-up after conization. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2015; 94:405–11
223. Van der Heijden E, Lopes AD, Bryant A, Bekkers R, Galaal K: Follow-up strategies after treatment (large loop excision of the transformation zone (LLETZ)) for cervical intraepithelial neoplasia (CIN): Impact of human

BIBLIOGRAFÍA

- papillomavirus (HPV) test (Review). *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2015; 1: CD010757.
224. Cuschieri K, Bhatia R, Cruickshank M, Hillemanns P, Arbyn M. HPV testing in the context of post-treatment follow up (test of cure). *J Clin Virol.* 2016 Mar; 76 Suppl 1: S56-61. doi: 10.1016/j.jcv.2015.10.008
225. Garutti P, Borghi C, Bedoni C, Bonaccorsi G, Greco P, Tognon M, et al. HPV-based strategy in follow-up of patients treated for high-grade cervical intraepithelial neoplasia: 5-year results in a public health surveillance setting. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2017; 210:236-241. doi: 10.1016/j.ejogrb.2016.12.018
226. Mariani L, Sandri MT, Preti M, Origoni M, Costa S, Cristoforoni P, et al. HPV-Testing in Follow-up of Patients Treated for CIN2+ Lesions. *J Cancer.* 2017; 7: 107-14.
227. Song D, Kong WM, Zhang TQ, Jiao SM, Chen J, Han C, et al. The negative conversion of high-risk human papillomavirus and its performance in surveillance of cervical cancer after treatment: a retrospective study. *Arch Gynecol Obstet.* 2017 Jan; 295(1):197-203. doi: 10.1007/s00404-016-4197-4
228. Rositch AF, Soeters HM, Offutt-Powell TN, Wheeler BS, Taylor SM, Smith JS. The incidence of human papillomavirus infection following treatment for cervical neoplasia: A systematic review. *Gynecol Oncol.* 2014; 132: 767-79.
229. Baser E, Ozgu E, Erkilinc S, Togrul C, Caglar M, Gungor T. Risk factors for human papillomavirus persistence among women undergoing cold-knife conization for treatment of high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Gynaecol Obstet.* 2014; 125: 275-78.
230. Lubrano A, Medina N, Benito V, Arencibia O, Falcón JM, Leon L, et al., Follow-up after LLETZ: a study of 682 cases of CIN 2-CIN 3 in a single institution. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2012; 161(1): 71-4. doi: 10.1016/j.ejogrb.2011.11.023
231. Houfflin Debarge V, Collinet P, Vinatier D, Ego A, Dewilde A, Boman F, et al., Value of human papillomavirus testing after conization by loop electrosurgical excision for high-grade squamous intraepithelial lesions. *Gynecol Oncol.* 2003; 90 (3): 587-92.

BIBLIOGRAFÍA

232. Yu Y, Han L, Yu W, Duan Y, Wang Z, Hu H, et al. High risk factors associated with HPV persistence after loop electrosurgical excision procedure in patients with intraepithelial neoplasia. *Int J Clin Exp Pathol.* 2017; 10(2):1817-24.
233. Costa S, De Simone P, Venturoli S, Syrjänen K. Factors predicting human papillomavirus clearance in cervical intraepithelial neoplasia lesions treated by conization. *Gynecol Oncol.* 2003; 90 (2): 358–65. doi: 10.1016/S0090-8258(03)00268-3
234. Kim YT, Lee JM, Hur SY, Cho CH, Kim YT, Kim SC, et al. Clearance of human papillomavirus infection after successful conization in patients with cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer.* 2010; 126 (8): 1903–9. doi: 10.1002/ijc.24794
235. Pirtea L, Grigoraş D, Matusz P, Pirtea M, Moleriu L, Tudor A, et al. Human Papilloma Virus Persistence after Cone Excision in Women with Cervical High Grade Squamous Intraepithelial Lesion: A Prospective Stud. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2016; 1: 1-6.
236. Venturoli S, Costa S, Barbieri D, Falasca A, Marra E, Garutti P, et al. Time to viral clearance after successful conservative treatment for high-risk HPV-infected high-grade cervical intraepithelial neoplasia and early invasive squamous cervical carcinoma. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2016 Nov; 86(3): 270-272. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2016.08.003
237. Hoffman SR, Le T, Lockhart A, Sanusi A, Dal Santo L, Davis M, et al. Patterns of persistent HPV infection after treatment for cervical intraepithelial neoplasia (CIN): A systematic review. *Int J Cancer.* 2017 Jan 25. doi: 10.1002/ijc.30623. [Epub ahead of print].
238. Kudoh A, Sato S, Itamochi H, Komatsu H, Nonaka M, Sato S, et al. Human papillomavirus type-specific persistence and reappearance after successful conization in patients with cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Clin Oncol.* 2016; 21(3): 580-7. doi: 10.1007/s10147-015-0929-x
239. Gosvig CF, Huusom LD, Andersen KK, Iftner A, Cederkvist L, Svare E, et al. Persistence and reappearance of high-risk human papillomavirus after conization. *Gynecol Oncol.* 2013; 131: 661–66.