

**Sesión conjunta Sociedad Española de Citología-Club de Patología
Ginecológica:**

**CURSO CORTO: Papel del patólogo en el cribado y diagnóstico de las
lesiones premalignas y el cáncer de cérvix: tecnologías clásicas y
propuestas actuales.**

Coordinadores: Jaume Ordi (Club de Patología Ginecológica)
 César Lacruz (Sociedad Española de Citología)

Programa:

1. Cáncer de cérvix, lesiones precursoras y Virus del Papiloma Humano: Relación epidemiológica y futuro del cribado.
Dra. Silvia Sanjosé, Institut Catala d'Oncologia, Barcelona
2. La citología en el cribado y el manejo de las lesiones cervicales.
 - a. Citología convencional: PAP Test.
Dr. Eduardo Vilaplana, Alicante
 - b. Nuevas técnicas en citología: Citología en fase líquida.
Dr. Javier Sáenz de Santamaría
3. La biopsia en el manejo de las lesiones cervicales.
Dr. David Hardisson. Hospital de La Paz, Madrid
4. Técnicas de detección de VPH y su papel en el cribado y el manejo de las lesiones cervicales.
 - a. Hibridación *in situ*.
Dr. Francesc Alameda, Hospital del Mar, Barcelona
 - b. Técnicas basadas en la PCR.
Dra. Belen Lloveras. Hospital de Bellvitge- Institut Català d'Oncologia,
L'Hospitalet de Llobregat
 - c. Captura de Híbridos.
Dr. Jaume Ordi, Hospital Clínic, Barcelona
5. Manejo clínico de las lesiones cervicales intraepiteliales: Valor clínico de la información aportada por las diferentes técnicas.
Dr. Javier Cortés, Palma de Mallorca

EPIDEMIOLOGÍA DE LAS INFECCIONES POR VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH) Y SUS LESIONES ASOCIADAS

Silvia de Sanjosé

Institut Català d'Oncologia

Servei d'Epidemiologia i Registre del Càncer

Las infecciones por virus de papiloma humano (VPH) representan una de las enfermedades de transmisión sexual más comunes. La familia de Papilomavirus Humanos cuenta con más de 100 tipos virales clasificados en tipos de alto riesgo y tipos de bajo riesgo. El paradigma de los primeros lo constituyen los tipos VPH 16 y VPH 18 y el de los segundos los tipos VPH 6 y VPH 11. Los VPH de tipo 6 / 11 rara vez se encuentran en lesiones neoplásicas y cursan predominantemente con los Condilomas Acuminados (CA) y la papilomatosis laríngea. Los tipos de alto riesgo siguen predominantemente un curso silente y una fracción considerable de las infecciones es auto-limitada.

Tanto la mujer como el hombre pueden ser portadores asintomáticos y vehículos de la infección por VPH. La diseminación se produce, principalmente, por contactos sexuales. En las edades de mayor actividad sexual, la prevalencia de infecciones subclínicas por VPH (presencia de ADN viral con morfología normal o de cambios mínimos) puede ser de hasta un 40 % de la población femenina, con tasas de infección de un 10-15 % anual. En los grupos de edad de más de 30 años, la prevalencia se reduce a un 5-10 %.

El VPH se detecta en la mayoría (70 - 90%) de las lesiones precursoras o lesiones intraepiteliales de alto grado y, en una menor proporción (20 - 50%), en las lesiones de bajo grado. Los estudios de casos y controles de carcinoma invasor indican estimaciones del riesgo relativo (factor multiplicador de la probabilidad de enfermar sobre una probabilidad de referencia, también denominada razón de momios y Odds Ratios (OR)) entre 50 y 100 para la detección de ADN de VPH y riesgos (OR) entre 100 y 500 para los tipos 16 y 18. En algunos estudios estas cifras alcanzan valores entre los 500 y los 1000. Las fracciones de cáncer de cuello uterino atribuibles al VPH (proporción de casos en una población en los que el VPH está considerado como un agente causal) calculadas a partir de estos estudios oscilan alrededor del 95-99 %. Las asociaciones observadas entre la infección por VPH y el cáncer cervical son las más fuertes de las identificadas en cancerología humana, existiendo un consentimiento creciente en calificarlas como causa necesaria (ausencia de enfermedad en ausencia de infección) e insuficiente (presencia de infección sin presencia de enfermedad) debido al gran número de infecciones que se resuelven espontáneamente.

La infección persistente por VPH oncogénicos es el primer requisito para la carcinogénesis cervical, aunque en ocasiones se han identificado otros co-factores (ambientales o congénitos) capaces de modular la persistencia de la infección y la progresión de la infección a neoplasia. La evaluación de co-factores es más precisa cuando se comparan los casos de cáncer de cuello uterino a controles expuestos al VPH (correspondientes a mujeres con ADN de VPH y citología normal en los estudios de casos y controles). Los riesgos observados para las mujeres expuestas a VPH que han estado tomando anticonceptivos orales por un período de 5 años o más, que son fumadoras o que han tenido una paridad alta (7 o más embarazos a término) oscilan entre 2 y 5. Los antecedentes de infecciones por Herpes Simplex Virus tipo 2 (HSV-2) y Clamidia Trachomatis también confieren un riesgo elevado en nuestros estudios, aunque la literatura científica sobre estos factores es menos consistente. Es importante indicar que estos factores actúan como promotores de carcinogénesis únicamente en presencia de ADN viral. Estas observaciones

son consistentes con la recomendación de incorporar alguna forma de test de VPH en los programas de vigilancia de las mujeres con alguna de estas exposiciones.

Describir el origen viral del cáncer de cuello uterino y la puesta a punto de técnicas de diagnóstico clínicas ha abierto nuevas e interesantes opciones para mejorar los programas citológicos de cribado. La detección de VPH se utiliza como discriminante pronóstico en los casos de citologías ambiguas (ASCUS, CINI, discariosis leve...). La detección viral en casos de ASCUS predice la coexistencia de una lesión de alto grado con mayor sensibilidad, y con mejor relación coste-beneficio, que la repetición de la citología o incluso que la colposcopia inmediata con o sin biopsia dirigida.

En las mujeres mayores de 30-35 años la detección viral se está evaluando como: 1/ test primario de cribado asociado a la citología en los países con programas de cribado establecidos; o como 2/ test primario en poblaciones donde los programas de cribado citológico son muy deficitarios, en cuyo caso la citología o la biopsia se consideran como test secundario de triage y confirmación de la lesión. En todos los casos, se ha demostrado que la sensibilidad de la detección viral es superior a la de la citología especializada para detectar lesiones prevalentes.

El desarrollo de vacunas profilácticas, terapéuticas o combinadas es una nueva opción para la prevención o el tratamiento de las infecciones por VPH y quizás para el tratamiento de las infecciones establecidas. Los experimentos animales indican que las vacunas profilácticas son eficaces en inducir una respuesta inmunitaria que a su vez protege a los animales de infecciones inducidas por Papilomavirus específicos de especie. Los estudios en grupos humanos están en fase III. Los primeros resultados de “demostración de principio” indican que la vacunación frente al VPH 16 induce una respuesta inmunitaria en todas las mujeres vacunadas y ofrece una protección del 100 % frente a la infección persistente por VPH 16.

En conclusión, la introducción de la tecnología asociada al VPH en estrategias de prevención permite augurar una vía de avance en la reducción de la mortalidad por cáncer de cuello uterino. A medio plazo, la vacunación profiláctica de las adolescentes debería reducir considerablemente el esfuerzo de cribado en edades adultas.

CITOLOGÍA CONVENCIONAL: PAP TEST.

Dr. E. Vilaplana, FIAC.
Instituto de Citodiagnóstico. ALICANTE.

Nadie puede discutir que el peor enemigo del cáncer Cervico-uterino ha sido y es la citología cervicovaginal de rastreo. Su aplicación, de una u otra manera, ha hecho disminuir sensiblemente el número de carcinomas cervicales y ha salvado miles de vidas desde hace 50 años.

En la actualidad es patente la discusión sobre el valor de la técnica citológica convencional. Sabemos que sus resultados combinados con la colposcopia mejoran el diagnóstico de las lesiones cervicales. Sabemos que no ha perdido valor como técnica de rastreo o cribado y sabemos que en este sentido el uso de la citología en medio líquido tiene sus ventajas e inconvenientes. También sabemos que la combinación con los test de investigación y tipificación mejoran la orientación y manejo de sus resultados.

Todo ello no ha logrado desplazar plenamente al llamado “test de Papanicolaou”. Todas las combinaciones con la colposcopia, medio líquido, test VPH, etc... no tienen actual aplicación en los países que eufemísticamente llamamos “ en vías de desarrollo” y que casualmente son los que “gozan” del cervical como primer cáncer de la mujer.

Pese al tiempo que nos separa de las conclusiones de Karita Nanda (2000), éstas siguen estando vigentes: “El Pap test es todavía la única técnica de cribado que ha demostrado reducir la incidencia y mortalidad del cáncer cervical”. Conclusiones basadas en amplio estudio sobre la sensibilidad y especificidad de la prueba.

En España la citología cervicovaginal cumple criterios de calidad. Afirmación contundentemente avalada por nuestra incidencia del problema, y, todo ello, conscientes de que NUNCA se ha desarrollado un CRIBADO POBLACIONAL en nuestro país. Pero es de justicia traer a un primer plano un aspecto sobre el que, generalmente, no se insiste: la citología de cribado cervicovaginal en España es de calidad porque la primera lectura de los extendidos es. Y lo es gracias a la formación, dedicación y criterio de los citotecnólogos. No en balde somos el séptimo país en número de ellos acreditados por la Academia Internacional de Citología, tan sólo detrás de los Estados Unidos de Norteamérica, Japón, Alemania, Hong-Kong, Inglaterra y Australia. Y no sólo ello, algo más: si queremos continuar así sólo debemos fomentar su formación sino facilitarles todos los medios de puesta al día tales como cursos, congresos, etc... y otorgarles la importancia que merecen desde su prácticamente anónimo puesto de trabajo.

¿Porqué decimos que nuestra citología cervico vaginal es de calidad? Por los resultados. Pero...¿utilizamos controles de calidad? Parece ser que son muy variables y no siempre constantes. Los más aceptados son actualmente la llamada “segunda lectura rápida”, realizada por otro observador, y la objetivación porcentual de nuestros resultados comparados con los aceptados por consenso. Para ello precisamos criterios objetivables y transmisibles.

Otro punto a considerar es aquel que, no constando en parte alguna, con el tiempo va raviando y alejándose de los conceptos clásicos. Todos sabemos lo que es un falso positivo y un falso negativo. Pero...¿ quién ha otorgado el título de falso negativo a un resultado que no ha considerado una lesión de bajo grado ó lo que es aún más exigente una anomalía de origen indeterminado ?. Aquí la controversia será interminable porque entrarían en juego criterios que no todos comparten y que ciertamente son difíciles de objetivar y transmitir.

Otra de nuestras ciertas realidades es que no todos los laboratorios elaboran sus resultados con el sistema Bethesda 2001. ¿Cómo vamos a constatar variabilidades entre los observadores si no hablamos todos el mismo idioma?

Finalmente nos gustaría dejar constancia de una muy actual realidad: Estamos en una **SESIÓN CONJUNTA DEL CLUB DE PATOLOGÍA GINECOLÓGICA DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE PATOLOGÍA Y DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE CITOLOGÍA**. Felicitaciones a todos.

La sesión lleva por título: **PAPEL DEL PATÓLOGO EN EL CRIBADO Y DIAGNÓSTICO DE LAS LESIONES PREMALIGNAS Y EL CÁNCER DE CERVIZ: Técnicas clásica y propuestas actuales.**

En mi modesta opinión nos ha faltado una técnica clásica : la colposcopia. ¿Porqué? Ya son muchos los patólogos incorporados a esta técnica en unidades de patología cervical, y no tan sólo eso: en muchos lugares es práctica habitual (cribado oportunista) en manos de patólogos, y en otros muchos existen cursos de COLPOSCOPIA en cursos y congresos de PATOLOGÍA, como recientemente hemos visto en México (Monterrey 2004), Argentina (Buenos Aires 2004), etc...

Concluyo confesando que no podemos dejar atrás técnicas clásicas ni cerrar puertas a las propuestas actuales si nuestro medio y economía nos lo permite.

Bibliografía

Nanda K, y cols.: Accuracy of the Papanicolaou Test in Screening for and Follow-up of Cervical Cytologic Abnormalities: A Systematic Review. Ann Inter Med 2000; 132; 810-819.

NUEVAS TÉCNICAS EN CITOLOGÍA: CITOLOGÍA EN FASE LÍQUIDA

Javier Sáenz de Santamaría
Hospital Universitario Perpetuo Socorro. Badajoz

INTRODUCCIÓN

Desde su introducción en los años 50, la técnica de citología cervico-vaginal por Papanicolaou ha sido la mejor herramienta para reducir significativamente la mortalidad por cáncer de cérvix. Sin embargo, en los países que han puesto en práctica un programa de despistaje, el proceso se ha estabilizado en las dos últimas décadas, posiblemente debido a que esta técnica ha recogido todos los beneficios que ofertaba. La citología cervico-vaginal convencional presenta un número significativo de limitaciones que dan lugar a un índice del 5-15% de falsos positivos y del 15-40% de falsos negativos. Se estima que aproximadamente hasta dos terceras partes de los falsos negativos se deben a limitaciones en la toma de la muestra. En este sentido, no todas las células recogidas del cérvix quedan adheridas al porta-objetos, bien por defecto de la extensión, bien porque parte de las células pueden quedar adheridas al dispositivo de la recogida (cepillo, espátula). Además existen casos donde la adecuada interpretación de los extendidos convencionales se ve comprometida por el exceso de sangre, moco, células inflamatorias, defectos de fijación, artefactos provocados por desecación y ocasionalmente por el escaso componente celular. Para corregir estas limitaciones se ha intentado durante años investigar técnicas alternativas capaces de disminuir significativamente el número de falsos negativos.

En esta línea, la FDA (*Food and Drug Administration*) aprobó en 1996 un sistema basado en la citología líquida, permitiendo una homogeneización de la muestra con adhesión al porta-objeto en capa celular fina y fondo limpio, lo cual facilita sustancialmente su lectura. Los análisis clínicos que condujeron a la FDA a la aprobación de esta técnica se basaron en el estudio de más de seis mil mujeres y concluyeron con un aumento significativo en la detección de lesiones intraepiteliales y una reducción próxima al 30% en el número de muestras no valorables.

TÉCNICA

Una vez recogida la muestra citológica cervicouterina de forma habitual se introduce en un vial que contiene un líquido conservante (base metanol). De este modo prácticamente la totalidad de las células recogidas se transfieren al vial y quedan fijadas inmediatamente. El vial se identifica y se envía al laboratorio para su procesamiento. Los porta-objetos se preparan de forma automatizada, obteniéndose muestras citológicas uniformemente distribuidas, limitada a un área circular del porta-objetos que albergan un número aproximado de 50.000-70.000 células. Las células se disponen en una fina capa, homogénea, libres de moco, sangre y células inflamatorias

VENTAJAS E INCONVENIENTES DE LA CITOLOGÍA DE BASE LÍQUIDA SOBRE LA CONVENCIONAL SEGÚN DOCUMENTO CONSENSO DE LA SEC, SEGO Y AEPCC.

VENTAJAS:

- Muestras más representativas
- Mejor conservación de la muestra
- Disminuye las muestras no satisfactorias
- Aumenta el número de lesiones precursoras (En controversia)
- Disminuye el número de ASC-US y AGC (En controversia)

- Disminuye el tiempo de lectura
- Utilización del material restante para análisis ADN-VPH

INCONVENIENTES

- Tiempo de procesamiento más largo
- Formación especializada para la interpretación de los estudios
- Necesidad de un periodo, variable, para la lectura
- Necesidad de mayor concentración en la lectura
- Sensible aumento del costo en todas las fases del proceso

DISCUSIÓN

Las limitaciones de la técnica de Papanicolaou son debidas a la proporción de muestras no valorables o poco significativas y a una sensibilidad limitada por varios factores. Aproximadamente dos tercios de los falsos negativos se deben a errores en la toma de la muestra. Además, no todas las células recogidas son traspasadas al porta-objetos por defecto de extensión o porque parte de ellas pueden quedar adherida al dispositivo de recogida. De tal forma, se estima que aproximadamente el 80% de la muestra recogida es desechada. El tercio restante de los falsos negativos ocurren en el laboratorio como consecuencia de una difícil interpretación por defecto de fijación o enmascaramiento de la celularidad por exceso de moco, sangre, células inflamatorias u otros artefactos.

En gran parte, la citología de base líquida es capaz de corregir las distintas fuentes responsables de los falsos negativos. En este sentido, casi la totalidad de las células recogidas son transferidas al medio conservante (de acción mucolítica y hemolítica), fijándose inmediatamente. El proceso automatizado de filtración dispersa y homogeneiza la muestra celular obteniéndose como resultado una capa fina de células representativas y libres de artefactos.

Los estudios de comparación en muestras divididas (*Split – sample*), directos y de meta-análisis documentados en la bibliografía concluyen que la citología líquida mejora la calidad de la muestra en todos los casos, disminuye el número de muestras no satisfactorias, ASC-US y células glandulares atípicas (AGC), aumenta la sensibilidad en el diagnóstico de LIP de bajo y alto grado y disminuye el tiempo de lectura.

La formación especializada para la interpretación de los estudios y la necesidad de un periodo de adaptación para la lectura, recogida en el documento consenso como inconveniente de la citología líquida, podría ser cuestionada puesto que la adaptación a una citología de mayor calidad, sin elementos enmascaradores (moco, sangre, inflamación) y sin artefactos de desecación debe ser extraordinariamente rápida o instantánea.

No hay duda que existe un aumento del costo por proceso cuando se compara aisladamente la citología de base líquida con la convencional. Sin embargo, la significativa disminución de muestras no satisfactorias, la disminución del tiempo de lectura, el aumento en la identificación de lesiones precursoras, la disminución de diagnósticos de ASC-US, AGC y la posibilidad de detección y tipaje del ADN-VPH utilizando la misma muestra y, por tanto, evitando una segunda consulta, reducen sustancialmente los costes y ayudan a equilibrar la relación coste-eficacia.

CONCLUSIONES:

La citología de base líquida disminuye significativamente la pérdida de células con respecto a la citología convencional (muestras más representativas) y mejora la calidad con la consecuente disminución del número de muestras insatisfactorias o inadecuadas.

La uniformidad celular y la eliminación de artefactos aumenta la detección de la enfermedad o sensibilidad y disminuye el número de ASC-US (en controversia) y el tiempo de rastreo.

La citología de base líquida aumenta la cantidad de celularidad disponible, permitiendo la repetición de la muestra y la aplicación de técnicas complementarias (detección del ADN del VPH y otras técnicas), ahorrando segundas consultas y la ansiedad de la paciente.

La citología líquida facilita el desarrollo de programas de diagnóstico precoz de cáncer de cérvix.

La relación costo-efectividad debe valorarse de forma global sumando los costes directos e indirectos que se derivan a corto y a largo plazo con la aplicación de la citología de base líquida.

BIBLIOGRAFÍA

- Abulafia O, Pezzullo JC, Sherer DM. Performance of ThinPrep liquid-based cervical cytology in comparison with conventionally prepared Papanicolaou smears: a quantitative survey. *Gynecol Oncol* 2003; 90:137-144
- Ashfaq R, Gibbons D, Vela C, Saboorian MH, Iliya F. ThinPrep test accuracy for glandular disease. *Acta Cytol* 1999; 43:81-85
- Bernstein SJ, Sanchez-Ramos L, Ndubisi B. Liquid-based cervical cytologic smear study and conventional Papanicolaou smears: A metaanalysis of prospective studies comparing cytologic diagnosis and sample adequacy. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185:308-317
- Bolick DR, Hellman DJ. Laboratory implementation and efficacy assessment of ThinPrep cervical cancer screening system. *Acta Cytol* 1998; 42:209-213
- Lee KR, Ashfaq R, Birdsong GG, Corkill ME, McIntosh KM, Inhorn SL. Comparison of conventional Papanicolaou smears and fluid-based, thin-layer system for cervical cancer screening. *Obstet Gynecol* 1997; 90:278-284
- Monsonego J, Autillo-Touati A, Bergeron C, Dachez R, Liaras J, Saurel J, Zerat L, Chatelain P, Mottot C. Liquid-based cytology for primary cervical cancer screening: A multi-centre study. *Br J Cancer* 2001; 84:360-366
- Montz FJ, Farber FL, Bristow RE, Cornelison T. Impact of increasing Papanicolaou test sensitivity and compliance: A modelled cost and outcomes analysis. *Obstet Gynecol* 2001; 97:781-788
- Santamaría M. Conceptos generales de la citología líquida. XXI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Anatomía Patológica. Madrid, Mayo 2003

LA BIOPSIA EN EL MANEJO DE LAS LESIONES CERVICALES.

Dr. David Hardisson
Dpto. de Anatomía Patológica
Hospital Universitario La Paz, Madrid.

Desde la introducción de la citología cervicovaginal por Papanicolau en 1943, los programas de detección precoz del cáncer de cérvix y de sus lesiones precursoras han contribuido a disminuir de modo notable la morbi-mortalidad de este tipo de lesiones. La consecuencia inmediata de estos programas de *screening* cervicovaginal ha sido el incremento significativo en el número de biopsias cervicales realizadas tras la visualización del cuello uterino mediante la colposcopia. El análisis histopatológico de estas muestras es importante, en tanto que determina el manejo clínico y las pautas de seguimiento de las pacientes afectadas por este tipo de lesiones. Por ello, el diagnóstico histológico es considerado el patrón de referencia (“*gold standard*”) en el que el clínico se basa para planificar el tratamiento de estas pacientes. De este modo, el éxito de este tipo de programas radica, fundamentalmente, en dos aspectos: a) una buena concordancia entre los diagnósticos citológico e histológico y, b) la reproducibilidad del diagnóstico histológico.

El diagnóstico histológico se basa en la identificación visual de determinadas características morfológicas asociadas a patologías concretas. La habilidad diagnóstica requiere, por tanto, perspicacia visual y experiencia pero está influenciada por la vaguedad y la incertidumbre asociada con la interpretación de lo que se ve y la subjetividad de la terminología usada para describir los hallazgos morfológicos. Para llegar al diagnóstico de SIL, los patólogos nos basamos en una serie de alteraciones morfológicas, como el grado de pleomorfismo nuclear, el patrón cromatínico nuclear, el número de mitosis y su localización dentro del epitelio, la presencia de mitosis atípicas, la pérdida de polaridad y la desorganización de las células epiteliales, la falta de gradiente madurativo y la presencia de coilocitos. La mayoría de estos criterios son subjetivos y, por tanto, difícilmente reproducibles.

La clasificación inicial de las lesiones escamosas precursoras del cáncer de cuello uterino estableció tres grados: displasia leve (o neoplasia intraepitelial de cérvix, CIN, grado I), displasia moderada (CIN II) y displasia severa (CIN III) o carcinoma intraepitelial. Sin embargo, con el paso del tiempo esta clasificación se mostró escasamente reproducible. Surge así la clasificación de Bethesda, que clasifica las lesiones escamosas precursoras del cáncer de cérvix en dos categorías únicamente: lesión intraepitelial escamosa (SIL) de bajo grado (equivalente a la antigua displasia leve-CIN I) y lesión intraepitelial de alto grado (equivalente al CIN II y CIN III).

Los estudios que analizan la variabilidad interobservador en el diagnóstico histológico de las lesiones del cérvix uterino han demostrado que la concordancia entre patólogos es excelente en el caso de los carcinomas infiltrantes y moderadamente buena en el caso del SIL de alto grado. Sin embargo, en las lesiones de bajo grado, la concordancia entre observadores es baja. En el estudio multicéntrico ALTS (*Atypical Squamous Cell of Undetermined Significance-Low grade Squamous Intraepithelial Lesion*) patrocinado por el Instituto Nacional del Cáncer (NCI) de Estados Unidos se analizaron 2237 biopsias de cérvix obtenidas tras la realización de colposcopia. Tras la revisión realizada por un panel de expertos, el diagnóstico inicial de SIL de bajo grado sólo se mantuvo en el 43% de los casos (Kappa 0,46). Las mayores dificultades se encontraron en el diagnóstico diferencial entre SIL de bajo grado y metaplasia escamosa reactiva, lo que indica que los criterios morfológicos empleados para diferenciar ambas lesiones son claramente insuficientes. En este sentido,

varios estudios han confirmado el valor de la atipia nuclear en la distinción entre la metaplasia reactiva y el SIL de bajo grado. Así, los estudios de correlación entre la infección por HPV y los cambios morfológicos asociados han demostrado casi invariablemente que la presencia de halos perinucleares en ausencia de atipia nuclear es un hallazgo inespecífico y que, por tanto, el diagnóstico de SIL de bajo grado debe hacerse únicamente cuando existe atipia nuclear significativa.

Lo anteriormente expuesto ha llevado a la búsqueda de nuevos biomarcadores útiles en el diagnóstico diferencial entre metaplasia escamosa y SIL de bajo grado y entre SIL de bajo grado y SIL de alto grado. Entre estos marcadores, los que hasta el momento han demostrado mayor utilidad en la práctica clínica diaria han sido el estudio de la expresión de p16 y el índice de proliferación (MIB1). La proteína p16 está codificada por el gen supresor tumoral *CDKN2A* (*MTS1*, *INK4A*), localizado en el cromosoma 9p21 y actúa como inhibidora de las quinasas dependientes de ciclinas (cdk) desacelerando el ciclo celular mediante la inactivación de los complejos cdk4- y cdk6-ciclina D. Estos complejos regulan el punto de control de la fase G1 del ciclo celular mediante la fosforilación y la subsiguiente inactivación de la proteína del retinoblastoma (pRb), lo que libera E2F y permite a la célula entrar en la fase S. En el cáncer de cérvix, pRB está funcionalmente inactivo en las fases iniciales de la carcinogénesis como consecuencia de la expresión del gen *E7* del virus del papiloma humano (VPH). Se ha demostrado la existencia de una correlación recíproca entre pRb y p16, lo que explica la sobreexpresión de p16 observada tanto en los carcinomas de cérvix como en sus lesiones precursoras.

La sobreexpresión de p16 es fácilmente detectable mediante inmunohistoquímica por lo que se ha planteado su utilidad como biomarcador que puede permitir identificar de forma inequívoca las células con cambio neoplásico inducido por el VPH, lo que mejoraría la variabilidad inter- e intra-observador en la valoración de estas lesiones. Así, se observa inmunorreactividad moderada o intensa frente a p16 en cerca del 90% de los casos de SIL (alto y bajo grado), con un valor predictivo positivo del 88,7%. Además, estudios recientes han demostrado que la expresión de p16 se correlaciona con el grado de displasia, siendo más intensa en las lesiones de alto grado, y con la infección por un VPH de alto riesgo.

La valoración del índice de proliferación (MIB1) mediante inmunohistoquímica también ha demostrado su utilidad para diferenciar lesiones reactivas de SIL de bajo grado. El índice de proliferación se incrementa progresivamente desde lesiones reactivas hasta el SIL de alto grado. En este sentido, se ha demostrado la presencia de células con inmunoeexpresión para MIB-1 en los dos tercios superiores del epitelio cervical en el 71,4% de los SIL de bajo grado y en el 94,7% de los SIL de alto grado, mientras que el porcentaje de células MIB-1 positivas era de tan sólo el 7,7% en las metaplasias escamosas y del 0% en los epitelios atróficos.

BIBLIOGRAFÍA.

- Agoff SN, Lin P, Morihara J, et al. p16^{INK4A} expression correlates with degree of cervical neoplasia: a comparison with Ki-67 expression and detection of high-risk HPV types. *Mod Pathol* 2003;17:665-673.
- De Vet HC, Knipschild PG, Schouten HJ, et al. Sources of interobserver variation in histopathological grading of cervical dysplasia. *J Clin Epidemiol* 1992;45:785.
- Keating JT, Cviko A, Riethdorf S, et al. Ki-67, cyclin E, p16^{INKA4} are complementary surrogate biomarkers for human papillomavirus-related cervical neoplasia. *Am J Surg Pathol* 2001;25:884.
- Parker MF, Zahn CM, Vogel KM, et al. Discrepancy in the interpretation of cervical histology by gynecologic pathologists. *Obstet Gynecol* 2002;100:277.

- Pirog EC, Baergen RN, Soslow RA, et al. Diagnostic accuracy of cervical low-grade squamous intraepithelial lesions is improved with MIB-1 immunostaining. *Am J Surg Pathol* 2002;26:70.
- Popiolek D, Ventura K, Mittal K. Distinction of low-grade squamous intraepithelial lesions from high-grade squamous intraepithelial lesions based on quantitative analysis of proliferative activity. *Oncol Rep* 2004;11:687.
- Selvaggi SM. Implications of low diagnostic reproducibility of cervical cytologic and histologic diagnoses. *JAMA* 2001;285:1506.
- Stoler MH, Schiffman M. Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations. Realistic estimates from the ASCUS-LSIL Triage Study. *JAMA* 2001;285:1500.

TECNICAS DE HIBRIDACION IN SITU Y SU PAPEL EN EL CRIBADO Y EL MANEJO DE LAS LESIONES CERVICALES. HIBRIDACION IN SITU.

Francesc. Alameda.

Servicio de Patología. Hospital del Mar.

Una de las técnicas que es posible aplicar sobre células y tejidos es la hibridación in situ sobre portaobjetos. Ello permite detectar positividad o negatividad en células y tejidos que previamente hemos interpretado como patológicos. En consecuencia no es propiamente una técnica de cribado poblacional, sino que debe existir una lesión celular previa reconocible en una biopsia o un extendido citológico. El papel de la citología en fase líquida (TPPT), es importante en este aspecto.

Como es conocido la técnica se basa en la desnaturalización por calor del DNA que contiene la zona problema, y posterior enfrentamiento a una sonda de DNA de secuencia conocida, complementaria al DNA problema. Esta sonda la podemos marcar con distintos productos que puedan ser usados para visualizar la reacción, y en consecuencia los podemos utilizar para demostrar, en definitiva, la presencia del fragmento de DNA en cuestión, en la muestra problema. En consecuencia podríamos utilizar tres hibridaciones in situ, una para detectar VPH, otra para detectar VPH de alto riesgo y una tercera para detectar VPH de bajo riesgo. En la práctica se utilizan solamente sondas de DNA de VPH de alto riesgo. Este método nos permitirá demostrar la presencia de VPH de alto riesgo, pero no permite tipificar y en consecuencia conocer cual es específicamente el tipo de virus que está presente en la muestra problema. En la práctica este es un detalle poco importante.

Las situaciones clínicas en las que se recomienda determinar la presencia de VPH, son las siguientes: ASCUS, en concreto ASC-H de la clasificación de Bethesda, y en los controles post-conización. No está claro si debe determinarse la presencia de VPH de alto riesgo en casos de displasia leve. En este sentido cabe recordar que el estudio ALTS demuestra positividad para VPH-HR en el 80% de los casos de displasia leve y en consecuencia a los ginecólogos no les es útil la determinación de VPH en casos de displasia leve ya que no les discrimina prácticamente dos grupos poblacionales. Sin embargo hay que tener en cuenta que el estudio ALTS está basado en determinación de VPH mediante técnica de captura de híbridos, y que, en comparación con PCR, la captura de híbridos tiene unos falsos positivos de alrededor del 25%. Por tanto cabe pensar que el estudio ALTS realizado con otro tipo de técnica, quizá menos sensible pero más específica hubiera dado otros resultados y quizá sí discriminaría en dos grupos en los casos de displasia leve. En el seguimiento de estas pacientes, cobra importancia la determinación de la presencia de VPH ya que parece que la persistencia de la infección puede ser un dato importante para la progresión de la displasia. La determinación de la presencia de VPH de alto riesgo en casos de displasia moderada, displasia severa y carcinoma infiltrante, es clínicamente irrelevante.

Otro de los datos que puede ser importante en el seguimiento de estas pacientes, es la carga viral, ya que cabe pensar que la carga viral está directamente relacionada con la concentración de oncoproteínas y por tanto podría estar relacionada con la progresión de la displasia. La hibridación in situ sobre muestras citológicas y tisulares no informa sobre la carga viral.

Se han realizado estudios comparativos entre hibridación in situ sobre portaobjetos, PCR e hibridación in situ sobre medio líquido. Carpenter utiliza 120 casos para determinar la

presencia de VPH mediante PCR y hibridación in situ, llegando a la conclusión que ambas técnicas tienen una sensibilidad y especificidad similares, pero que además, la hibridación in situ permite localizar las células infectadas. Quershi et al estudian 762 pacientes diagnosticadas como ASCUS/LSIL para efectuar un estudio comparativo entre Hibridación in situ sobre portaobjetos y captura de híbridos. Usan como gol standard la biopsia. Demuestran que la hibridación in situ tiene mayor sensibilidad, mayor especificidad, mayor valor predictivo positivo mayor valor predictivo negativo y menos falsos negativos que la captura de híbridos.

Nosotros hemos utilizado dos técnicas de hibridación in situ. Existen diferencias de tipo técnico entre ellas, y también diferencias de manejo. La primera es manual y utiliza estreptavidina y biotínil tiamida para amplificar la señal. La segunda es automática.

Ambas técnicas nos proporcionan resultados similares. Sin embargo hemos optado por la automatización. Las razones son varias. En primer lugar el aumento de la importancia de estas técnicas como complemento diagnóstico es evidente. En consecuencia existe un aumento de la demanda de las mismas. La automatización de ésta y de cualquier técnica tiene una serie de ventajas en el laboratorio: Permite estandarizar la técnica con lo que disminuye la posibilidad de errores, permite incrementar el tiempo de respuesta, así como aumentar el número de muestras procesadas por unidad de tiempo, y en consecuencia aumentar la eficacia del laboratorio, elimina la posibilidad de exponer las muestras a productos inadecuados, permite efectuar controles de calidad más fácilmente. Por lo que respecta al personal, no necesita de entrenamiento especial y aumenta la flexibilidad del laboratorio

Nuestros resultados son los siguientes: Estudiando solamente ASCUS y Displasias leves, basados en citología líquida (TPPT) con la técnica manual obtuvimos unas positivities del 43% para ascus y un 78% para displasias leves. Con la técnica automatizada las positivities en los casos de ASCUS ascendieron al 50% y en las displasias leves al 52%. Tomando como gol standard la PCR, para la primera técnica y en casos de ascus, la coincidencia fue del 100% tanto en las positivities como en las negatividades. En casos de displasia leve, obtuvimos dos falsos negativos, y ningún falso positivo. Con la técnica automatizada, nuestros falsos negativos para ascus llegan al 6%. En el momento de realizar este escrito no ha finalizado el estudio de las displasias leves.

La hibridación in situ sobre portaobjetos es el método más caro de los tres (captura de híbridos, PCR e hibridación in situ)

Como conclusiones podríamos decir que en muestras de citología líquida (TPPT), la hibridación in situ es un buen método de detección de VPH en casos de ascus y displasias leves. La HIS no es un método de screening poblacional y que la automatización y estandarización del proceso permite optimizar los recursos del laboratorio, en especial los recursos humanos, a la vez que eliminar las variaciones de los resultados debidos a la manipulación de las muestras y los reactivos.

BIBLIOGRAFIA

- Anderson SM. Adv Lab 2001 Jun, 90-94
- ACOG Prac Bull 45. Ago, 2003
- Carpenter. Univ. Upsala, 2003
- Qureshi Diagn Cytopathol 2003; 29: 149-55

- Menezes. Acta Cytologica 2001; 45: 919-26
- Hesselink. Cancer Cytopathol 2004; 102: 11-18
- Nuovo. Diagn Mol. Pathol 7 (73): 158-63, 1998

TECNICAS DE HIBRIDACION IN SITU Y SU PAPEL EN EL CRIBADO Y EL MANEJO DE LAS LESIONES CERVICALES. TÉCNICAS BASADAS EN LA PCR

Dra. Belén Lloveras

Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario de Bellvitge. Laboratorio de HPV.
Institut Català d'Oncologia.

Las técnicas basadas en la amplificación del ADN del Virus del papiloma humano (VPH) tienen unas aplicaciones concretas que actualmente no se centran en el cribado poblacional. Sin embargo, en este campo se están desarrollando sistemas basados en la PCR en formato de kit comercial para facilitar la estandarización.

La PCR, cuando se estandariza y se determina bien su sensibilidad y especificidad, que depende en gran medida del fragmento que se amplifique, de las condiciones de la reacción y de la calidad del ADN diana (células en fresco o parafina, por ejemplo), puede aportar datos complementarios a los tests de cribado. Especialmente la tipificación post amplificación, generalmente mediante técnicas de hibridación, nos permite conocer el tipo de VPH, información que en algunas situaciones puede ser de interés. Estas situaciones son, por ejemplo, los estudios epidemiológicos, cuando no tenemos datos de la distribución de tipos de VPH en una población determinada, o los estudios de seguimiento de una paciente infectada, para confirmar persistencia de una infección o re-infecciones. Sin embargo, incluso en este caso, el VPH tipo 16 es tan frecuente que sería necesario utilizar una PCR adecuada al estudio de las variantes de VPH. Otra posible indicación de la tipificación está en el campo de la investigación para determinar asociaciones de tipos concretos de VPH a factores potencialmente implicados en la patogénesis del cáncer cervical, como por ejemplo el HLA.

Existen distintas técnicas de PCR la mayoría de las cuales se basan en la amplificación de parte del gen L1, donde se encuentra una mayor homología de la secuencia de ADN entre los distintos tipos de HPV. En este caso, los cebadores "consenso" permiten amplificar una gran variedad de tipos de VPH. La tipificación se realiza posteriormente analizando la secuencia amplificada, que puede ser más o menos larga, pero que debe permitir diferenciar entre tipos. Para tipificar se utiliza preferentemente secuenciación o hibridación con sondas específicas del producto amplificado. Los sistemas de PCR y amplificación para VPHs de mucosas más referenciados son los basados en los tres pares de cebadores siguientes: MY09/11, GP5+/6+ y SPF-10. La mayor diferencia entre ellos es la longitud el segmento que amplifican. El SPF 10 amplifica un fragmento muy corto (65 bp) que lo hace adecuado a ADNs mal conservados, como por ejemplo el de los tejidos incluidos en bloques de parafina, pero por otra parte es el sistema que conlleva una mayor riesgo de contaminaciones. El sistema basado en los cebadores MY09/11, o su modificación PGMY09/11, amplifica por el contrario un segmento largo, de 450 pares de bases (bp), lo que permite tipificar por secuenciación, aunque la hibridación por sondas tipo-específicas inmovilizadas en una tira permite detectar de forma más fácil las infecciones múltiples. Los cebadores GP5+/6+ también se han utilizado en muchos estudios epidemiológicos, amplifican un fragmento de unos 150 bp y sus autores han desarrollado un sistema de hibridación reversa sobre membrana para detectar simultáneamente más de 30 tipos de VPHs.

En resumen, las técnicas de PCR pueden facilitar la tipificación, y en general se considera que ofrecen una mayor sensibilidad, hecho que no se confirma en todos los casos y que nos recuerda la dificultad existente en conseguir una buena reproducibilidad de estas técnicas.

Referencias

- Kleter et al. J Clin Microbiol 1999; 37: 2508-17
- Gravitt PE et al. J Clin Microbiol 2000;38:357-361
- Van den Brule A. et al. J Clin Microbiol 2002;40:779-787

TÉCNICAS DE DETECCIÓN DE VPH Y SU PAPEL EN EL CRIBADO Y EL MANEJO DE LAS LESIONES CERVICALES: CAPTURA DE HÍBRIDOS

Jaume Ordi

Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Clínic, Universitat de Barcelona, Facultat de Medicina, Barcelona

Dada la casi constante relación entre carcinoma de cérvix e infección por virus del papiloma humano (VPH) y el reciente desarrollo de diferentes técnicas moleculares sensibles y reproducibles para la detección de dicho virus, se ha planteado la posibilidad de que estos métodos puedan mejorar los resultados de las estrategias de cribado y diagnóstico convencionales basados en la detección de las alteraciones morfológicas inducidas por el VPH. Entre las numerosas técnicas moleculares de detección del VPH, el test Hybrid Capture II es el único método comercial de detección de VPH aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos. La detección de VPH mediante HCII puede realizarse en secreción cervical utilizando el kit Digene cervical Sampler que incluye cepillo de toma cervical y solución conservante, o bien utilizando el líquido de preservación para citología en fase líquida. El test es una hibridación molecular que utiliza una sonda RNA y cuya reacción se detecta por quimioluminiscencia, en la que la intensidad en unidades lumínicas relativas (URL) es proporcional a la cantidad de DNA viral existente en la muestra. El test se considera positivo cuando las URL emitidas por la muestra son iguales o mayores a las de un control interno, lo que equivale a 1 pg/ml de DNA del VPH. Aunque el kit incluye también una sonda para VPH de bajo riesgo, solamente se utilizó en el estudio la sonda para VPH de alto riesgo, que detecta la presencia de los siguientes trece tipos virales: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68.

El test Hybrid Capture II para VPH-AR es capaz de detectar con gran sensibilidad los casos de H-SIL o carcinoma con un 94,7% de casos positivos en un estudio realizado recientemente por nuestro grupo. Aunque la mayor parte de los estudios publicados corresponden bien a análisis de casos de ASCUS o bien a cribado poblacional primario, la sensibilidad referida en los mismos es similar a los de nuestra serie, variando entre el 83,9% y el 100%. Así, la sensibilidad de esta técnica para el diagnóstico de H-SIL es netamente superior a la sensibilidad de la citología convencional, que se sitúa en la mayoría de las series alrededor del 70%.

La detección de VPH-AR usando esta técnica en los casos de L-SIL resulta en un elevado porcentaje de positividad, que en nuestra serie fue del 86%, porcentaje muy semejante al observado en el estudio ALTS (82,9%) y al de Bergeron y cols. Parece claro, por tanto, que la mayoría de los casos de L-SIL en nuestro medio están causados por VPH-AR, y que esta técnica tiene una escasa utilidad en la práctica clínica para la selección de pacientes con L-SIL con riesgo de progresión.

En prácticamente todas las series publicadas HCII resulta positivo en un porcentaje variable de mujeres en las que no se detecta lesión. En las series de cribado poblacional, dicho porcentaje se sitúa entre el 4,9% y el 14,8%. En las series de pacientes con ASCUS el porcentaje de positividad en mujeres sin lesión evidente llega a alcanzar incluso el 35,1% en la serie de Manos et al. Aunque existe controversia, estudios recientes han referido que la negativización de los tests virológicos es posterior a la normalización de las alteraciones citológicas. Por último, es posible que un pequeño porcentaje de estas pacientes sean realmente portadoras de lesiones cervicales que las técnicas convencionales (colposcopia, citología y biopsia) no pueden detectar. Así, en algunos estudios en los que se realiza

seguimiento de mujeres positivas para VPH sin lesión, se demuestra la aparición de lesiones de alto grado en un porcentaje no despreciable de casos.

Detección de virus del papiloma humano (VPH) en secreción cervical en pacientes referidas por citología cervical anormal en relación con el diagnóstico final.

Diagnóstico final	N	VPH (+) N (%)	Riesgo de lesión O.R. (95% I.C.)
Ausencia de lesión	451	113 (25%)	1
L-SIL	286	246 (86%)	18,7 (12,6-27,7) p<0,001
H-SIL	219	211 (96%)	80,1 (38,3-167,3) p<0,001
Carcinoma cervical	44	38 (86%)	19,2 (19,6-39,6) p<0,001
Carcinoma metastásico	5	0	-

Resulta especialmente destacable el alto valor predictivo negativo de esta técnica para la existencia de H-SIL o carcinoma, que en nuestra serie se ha situado en el 96,5%, porcentaje similar al de las series publicadas. Por tanto, la detección de VPH-AR mediante Hybrid Capture II puede ser de utilidad en la evaluación de pacientes referidas por lesiones citológicas, puesto que su negatividad permite excluir con un elevado grado de certeza la existencia de una lesión premaligna de alto grado o de un carcinoma invasor y remitir de nuevo estas mujeres a la asistencia primaria.

Estadísticos de exactitud y odds ratios de la positividad para VPH-AR para lesión de cualquier grado y para la detección de H-SIL o carcinoma.

	Para L-SIL o más	Para H-SIL o más
Sensibilidad	90,2 %	94,7 %
Especificidad	75,2 %	51,6 %
Valor predictivo positivo	81,4 %	40,9 %
Valor predictivo negativo	86,4 %	96,5 %
Odds ratio (95% intervalo de confianza)	27,8 (19,6-39,6)	18,9 (10,9-33,1)

La utilidad de las técnicas moleculares de detección del VPH-AR más contrastada en la literatura es la orientación clínica de las pacientes con citología de ASCUS. En nuestra serie, la negatividad del VPH prácticamente descartó la existencia de lesión cervical, mientras que la positividad permitió identificar a pacientes con alta probabilidad de lesión cervical (64% de lesiones intraepiteliales) y salvo una única excepción, todos los casos de H-SIL fueron positivos para VPH (valor predictivo negativo para este grupo de 98,2%). Nuestros datos, similares a los de la literatura, apoyan la utilización de la técnica de captura de híbridos en el manejo de estas pacientes.

Detección de virus del papiloma humano (VPH) en secreción cervical en mujeres con citología de atipia no concluyente (ASCUS) y su relación con el diagnóstico final.

Diagnóstico final	VPH (+) n=66 (55%)	VPH (-) n=54 (45%)
Ausencia de lesión	24 (36%)	51 (94%)
L-SIL	28 (43%)	2 (4%)
H-SIL	14 (21%)	1 (2%)

En nuestro estudio se evidenció un incremento progresivo de carga viral evaluada en unidades lumínicas relativas (ULR), paralelo a la gravedad de la lesión. La presencia de niveles superiores a 100 ULR se asoció a lesión cervical en más del 90% de los casos y esta asociación fue prácticamente constante para niveles superiores a 1000 ULR. Por el contrario, un elevado porcentaje de casos con determinaciones inferiores a las 10 ULR, no presentaba lesión cervical. Los resultados de las escasas series de la literatura en las que se evalúa este aspecto, concuerdan con nuestros datos. Sin embargo, la presencia de una baja carga viral no debe considerarse excluyente de lesión grave, puesto que un porcentaje significativo de pacientes con diagnóstico de H-SIL o carcinoma presentaron niveles de detección inferiores a 100 ULR (30% de H-SIL y 46% de carcinomas invasores) o incluso inferiores a las 10 ULR (solo un 8% de los H-SIL pero hasta un 15% de los carcinomas invasores). Es importante reseñar en este sentido que aunque los datos de carga viral obtenidos mediante la técnica Hybrid Capture son indudablemente orientativos, esta cuantificación solamente indica un número de copias virales que no puede ser corregida en función del número de células obtenida en la misma, sobre el cual la técnica no aporta datos.

BIBLIOGRAFÍA

- ALTS group. Human papillomavirus testing for triage of women with cytologic evidence of low-grade squamous intraepithelial lesions: baseline data from a randomised trial. The atypical squamous cells of undetermined significance/low-grade squamous intraepithelial lesions triage study (ALTS) group. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 397-402.
- Bergeron C, et al. Human papillomavirus testing in women with mild cytologic atypia. *Obstet Gynecol* 2000; 95:821-827.
- Clavel C, 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; 84:1616-1623.
- Herrero R, et al. Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92:464-474.
- Lorincz AT, et al. Viral load of human papillomavirus and risk of CIN3 or cervical cancer. *Lancet* 2002; 360:228-9
- Manos MM, et al. Identifying women with cervical neoplasia: using human papillomavirus DNA testing for equivocal Papanicolaou results. *JAMA* 1999; 281:1605-.
- Muñoz N, 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;348:518-27
- Ordi J, Puig-Tintoré LM, Torné T, et al. Contribución de la detección de 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.
- Schiffman M, et al. HPV DNA testing in cervical cancer screening: results from women in a high-risk province of Costa Rica. *JAMA* 2000; 283:87-93.
- Solomon D, et al. ALTS study group. Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: baseline results from a randomized trial. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93:293-299.
- Torne A, Ordi J, Puig-Tintore LM, et al. Determinación del papiloma virus por hibridación in situ. Correlación clinicopatológica y virológica en pacientes con lesiones escamosas intraepiteliales del cérvix uterino. *Med Clin (Barc)* 1997; 109:691-695.
- Torné A, Puig-Tintoré LM, Ordi J, et al. Concordancia diagnóstica entre citología, colposcopia y pequeña biopsia en pacientes con lesiones escamosas del cérvix uterino. *Prog Obstet Ginecol* 1996; 39:520-528.
- Walboomers JM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189:12-19.

Al diagnóstico de CIN se llega habitualmente por el uso combinado de citología, colposcopia y test de HPV. Usados aisladamente su sensibilidad diagnóstica no es muy alta.

El punto de partida para el manejo del CIN es asegurar qué grado de lesión estamos valorando: hay un alto porcentaje de discordancia entre la histología de la pequeña biopsia y la de la pieza definitiva. Los principales factores asociados a esta discordancia son:

1. Colposcopia satisfactoria o no
2. Tamaño lesional
3. Índice lesional

Asegurado el punto de partida y conociendo la historia natural de las lesiones intraepiteliales, las opciones dominantes son:

*CIN I Observación y seguimiento. (9 de cada 10 van a regresar espontáneamente).

Deben cumplirse los siguientes requisitos:

- Edad inferior a 40 años
- Citología concordante
- Colposcopia satisfactoria con cambios menores
- Competencia inmunitaria
- No sospecha de lesión glandular
- Garantía de seguimiento

La presencia de HPV podría constituir un determinante nuevo en este proceso de decisión. La determinación de carga viral fuera de ensayos controlados no está validada como variable vinculada a toma de decisiones. Los resultados disponibles son contradictorios.

*CIN II / III: Tratamiento excisional. Únicamente la paciente en la que se reúnan los siguientes requisitos podrá ser considerada candidata a tratamiento destructivo:

- Citología, colposcopia y biopsia concordantes
- Lesión totalmente visible
- Estudio endocervical negativo
- Invasión no sospechada
- Alteraciones glandulares no sospechadas
- Garantía de seguimiento

Es irrelevante que técnica excisional practiquemos si está correctamente usada: bisturí, asa o láser presentan los mismos resultados en cuanto a complicaciones y recidivas.

El “see and treat”, ver y tratar, podrá ser utilizado como recurso cuando el seguimiento sea muy improbable y el grupo de trabajo, pilotando sus resultados, haya obtenido más de un 90% de CIN en la histología definitiva.

La reactuación quirúrgica en los casos de márgenes afectados no es aceptable, salvo en casos de afectación masiva exo y endocervical o del margen endocervical en mujeres mayores de 50 años.

El seguimiento deberá ser siempre cito-colposcópico.

Una determinación de HPV positiva a los 6 meses post-tratamiento es un marcador muy potente de riesgo de recidiva y su práctica debe ser recomendada.