



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

"Impacto de la vacuna frente al Virus del
Papiloma Humano en mujeres conizadas
por lesión premaligna de cérvix"

Autora:

Paloma Ortega Quiñonero

Directores:

Juan Pedro Martínez Cendán

Manuel Remezal Solano

Murcia, junio de 2018



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

"Impacto de la vacuna frente al Virus del
Papiloma Humano en mujeres conizadas
por lesión premaligna de cérvix"

Autora:

Paloma Ortega Quiñonero

Directores:

Juan Pedro Martínez Cendán

Manuel Remezal Solano

Murcia, junio de 2018



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS PARA SU PRESENTACIÓN

El Dr. Juan Pedro Martínez Cendán y el Dr. Manuel Remezal Solano como Directores de la Tesis Doctoral titulada "Impacto de la vacuna frente al Virus del Papiloma Humano en mujeres conizadas por lesión premaligna de cérvix" realizada por D.^a Paloma Ortega Quiñonero en el Departamento de Ciencias de la Salud, autorizan su presentación a trámite dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

Lo que firmamos, para dar cumplimiento a los Reales Decretos 99/2011, 1393/2007, 56/2005 y 778/98, en Murcia a 4 de junio de 2018.

Dr. Juan Pedro Martínez Cendán

Dr. Manuel Remezal Solano

RESUMEN

OBJETIVOS

Comprobar, si en nuestro medio, la vacuna frente al Virus del Papiloma Humano en las pacientes sometidas a una conización con asa de diatermia, por neoplasia intraepitelial cervical de alto grado, es efectiva para prevenir la tasa de infección y/o la recurrencia de lesión premaligna.

MÉTODOS

Se realizó un estudio retrospectivo de 252 pacientes (media de edad 37,3 años) sometidas a conización por CIN 2-3 entre Enero de 2011 y Mayo de 2015 en el Complejo Hospitalario Universitario de Cartagena. El 47,5% de la población había recibido la vacuna (bivalente o tetravalente), inmediatamente antes o después de la conización, frente al 52,5% que no fueron vacunadas. Tras el tratamiento se realizaba un seguimiento a los 6, 12, 18 y 24 meses para detectar posible infección o recurrencia de la lesión cervical de alto grado.

RESULTADOS

Independientemente del tipo de virus del Papiloma Humano, 26 pacientes (10,3%) desarrollaron recurrencia de lesión de alto grado durante el seguimiento postconización. De las 69 vacunadas con bivalente, 2 (2,9%) presentaron recurrencia, de las 33 vacunadas con tetravalente, 3 pacientes (9%) y de las 115 no vacunadas, 21 pacientes (18,2%) desarrollaron recurrencia. La vacunación, en general, demostró moderada eficacia para la reducción de recurrencia ($P < 0,1$). Las pacientes que habían recibido la vacuna bivalente, a diferencia de las no vacunadas, presentaban, de manera significativa, un menor riesgo de recurrencia ($P \leq 0,05$). En cuanto a la tasa de infección después de la conización, las mujeres que habían recibido la vacuna tetravalente presentaron menor tasa de infección para el virus del papiloma de alto riesgo ($P < 0,1$) que las no vacunadas. El estado negativo de los márgenes postconización y la detección de virus vacunal (16/18) asociado a la lesión, aumentaban la eficacia de la vacuna, tanto para infección,

como para recurrencia ($P \leq 0,05$). El momento de la vacunación no demostró influir en la aparición de eventos tras la conización.

CONCLUSIONES

La vacuna frente al Virus del Papiloma Humano ha demostrado ser una estrategia preventiva recomendable en pacientes tratadas por lesión cervical premaligna, al disminuir el riesgo de nuevas infecciones y de enfermedad recurrente. El uso personalizado de la vacuna podría ser la opción más rentable.

Palabras clave: Vacuna frente al Virus del Papiloma Humano; Neoplasia Intraepitelial Cervical; Conización; Enfermedad Recurrente.

SUMMARY

OBJECTIVES

To test whether the Human Papillomavirus vaccination in patients undergoing loop diathermy conization for high-grade intraepithelial neoplasia is effective in preventing infections/premalignant lesions after treatment in our area.

METHODS

A retrospective review was conducted on 252 patients (Mean: 37,3 years) undergoing loop diathermy conization for high-grade intraepithelial neoplasia between January 2011 and May 2015 in the Cartagena University Hospital. 47,5% had received the human papillomavirus vaccine (bivalent or quadrivalent), immediately before or after conization. Follow up was conducted at 6, 12, 18 and 24 months to detect infection or recurrence.

RESULTS

Regardless of the human papillomavirus type, 26 patients (10,3%) developed high grade recurrence during post-treatment follow up. Of the 69 vaccinated with bivalent vaccine, 2 (2.9%) showed recurrence, of the 33 vaccinated with quadrivalent vaccine, 3 patients (9%), and of the 115 unvaccinated, 21 patients (18.2%) developed recurrence. The vaccination group, in general, had a lower recurrence rate ($P < 0,1$). Patients who had received the bivalent vaccine, had a significantly lower recurrence rate ($P \leq 0,05$) that those not vaccinated. Regarding infection rate after conization, women who received the quadrivalent vaccine showed lower infection rate after treatment that those not vaccinated ($P < 0,1$). Negative cone margins and vaccine human papillomavirus types (16/18) were associated with a significantly lower risk of recurrent disease/infection rate in vaccinated women ($P \leq 0,05$). The time of vaccination was not decisive for the events after conization.

CONCLUSIONS

Human Papillomavirus vaccine showed to be an advisable preventive strategy in reducing the risk of recurrent disease and new infections for patients treated for premalignant cervical lesions. However, a personalized use of the vaccination could be the most efficient option.

Keywords: Human Papillomavirus Vaccine; Cervical Intraepithelial Neoplasia; Conization; Recurrent Disease.

A mis hijos, Carlos y Paloma, para que nunca olviden que "Poder es Querer".

A Ramón, mi marido, por caminar siempre a mi lado.

A mis padres, por su ejemplo de vida.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero hacer mención a mis Directores de Tesis, los Doctores Juan Pedro Martínez Cendán y Manuel Remezal Solano, por su orientación científica y apoyo incondicional desde el más lejano inicio de este proyecto, lleno de ilusión y esfuerzo.

A los Doctores Carmen Carazo y David Prieto del Departamento de Estadística de la UCAM, por su entusiasmo a la hora de escuchar y entender el objetivo de mi estudio y por su gran profesionalidad en el análisis de los datos.

A mis queridas compañeras las ginecólogas Maribel Urbano y Alba Jiménez, por su ayuda inestimable en el arduo proceso de revisión de historias clínicas, prolongando nuestras horas de trabajo en el Hospital.

A mi compañero y amigo el Doctor Luis García de Guadiana, por haberme ayudado a revisar una y otra vez los resultados estadísticos del estudio, necesarios para la publicación de nuestro artículo en una revista de alto impacto científico.

Al Servicio de Anatomía Patológica del Complejo Hospitalario Universitario de Cartagena, imprescindible en nuestro trabajo diario en Patología Cervical y especialmente al Doctor Sebastián Ortiz por su interés en ayudarme a recopilar las imágenes más representativas de lesiones de cérvix uterino.

A mi sobrina, Aura Ortega, una gran-pequeña mujer y futura investigadora, por su gran ayuda en temas de soporte gráfico.

Al Doctor Antonio Moreno Docón, gran virólogo y experto en Virus del Papiloma Humano, por sus valiosas aclaraciones en este tema.

A Lorena por su ayuda en la recogida de los datos epidemiológicos.

A Ana de Patología Molecular, por su colaboración en el conocimiento de las bases técnicas del estudio molecular para la detección del Virus del Papiloma Humano.

A mi familia, mi mayor tesoro, por su confianza absoluta en mí. Espero que puedan disculparme por todo el tiempo que les he robado en todos estos años de estudio.

A todas aquellas personas que, de alguna manera, han colaborado para que este trabajo haya podido ver su luz.

“El Conocimiento empieza en el asombro”

Sócrates 480 aC–399 aC

ÍNDICE GENERAL

| | |
|--|-----------|
| AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES | 5 |
| RESUMEN | 7 |
| SUMMARY | 9 |
| AGRADECIMIENTOS | 13 |
| ÍNDICE GENERAL | 17 |
| SIGLAS Y ABREVIATURAS | 23 |
| ÍNDICE DE FIGURAS | 27 |
| ÍNDICE DE TABLAS | 35 |
| ÍNDICE DE ANEXOS | 39 |
| CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN | 41 |
| 1.1. CÁNCER DE CUELLO UTERINO Y LESIONES PRENEOPLÁSICAS ... | 42 |
| 1.1.1. Concepto y Generalidades | 42 |
| 1.1.2. Epidemiología: Incidencia y Mortalidad | 45 |
| 1.1.3. Etiología del cáncer de cuello uterino y sus lesiones precursoras | 48 |
| 1.1.4. Prevalencia de la infección VPH | 50 |
| 1.1.5. Duración de la infección por VPH..... | 52 |
| 1.1.6. Vías de infección del VPH..... | 53 |
| 1.1.7. Función de los cofactores en la carcinogénesis cervical..... | 53 |
| 1.2. VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO | 55 |
| 1.2.1. Definición | 55 |
| 1.2.2. Clasificación de los VPH: tipos, subtipos y variantes | 56 |
| 1.2.3. Estructura Genómica del VPH | 58 |
| 1.2.4. Ciclo de vida del VPH e interacción virus-huésped..... | 59 |
| 1.2.5. Infecciones Productiva, Transformante y Latente | 62 |

| | |
|---|-----|
| 1.2.6. Oncogénesis por VPH..... | 63 |
| 1.2.7. Relación con la patología oncológica | 66 |
| 1.2.8. Mecanismos de inmunotolerancia viral..... | 67 |
| 1.2.9. Resolución de la infección..... | 68 |
| 1.3. PREVENCIÓN PRIMARIA. VACUNAS..... | 69 |
| 1.3.1. Concepto de Vacuna..... | 69 |
| 1.3.2. Partículas semejantes a virus (<i>Virus Like Particle</i> , VLP)..... | 70 |
| 1.3.3. Inmunogenicidad..... | 74 |
| 1.3.4. Eficacia..... | 75 |
| 1.3.5. Recomendaciones de la WHO (Organización Mundial de la Salud)..... | 80 |
| 1.3.6. Recomendaciones de Vacunación frente al cáncer de cérvix en mujeres fuera de los programas de vacunación sistemática | 82 |
| 1.4. PREVENCIÓN SECUNDARIA..... | 83 |
| 1.4.1. Citología cervical | 83 |
| 1.4.2. Biopsia cervical..... | 93 |
| 1.4.3. Técnicas de detección de VPH | 95 |
| 1.4.4. Técnicas moleculares para detección de proteínas del ciclo celular | 99 |
| 1.5. COLPOSCOPIA..... | 101 |
| 1.5.1. Concepto e historia..... | 101 |
| 1.5.2. Indicaciones | 103 |
| 1.5.3. Metodica de la exploración..... | 105 |
| 1.5.4. Indicaciones de estudio histológico durante la realización de la colposcopia..... | 106 |
| 1.5.5. Hallazgos colposcópicos..... | 107 |
| 1.6. PREVENCIÓN SECUNDARIA. CRIBADO DEL CÁNCER DE CÉRVIX | 111 |
| 1.6.1. Estrategias de cribado | 112 |
| 1.6.2. Protocolo de cribado del carcinoma de cuello uterino..... | 113 |
| 1.6.3. Conducta ante resultados anormales en las pruebas de cribado .. | 116 |
| 1.6.4. Conducta ante resultados histológicos anormales..... | 122 |
| 1.6.5. Cribado y vacunación | 125 |
| 1.7. TRATAMIENTO DE LAS LESIONES PREMALIGNAS..... | 126 |
| 1.7.1. Tratamientos destructivos | 126 |
| 1.7.2. Tratamientos escisionales | 127 |
| 1.7.3. Complicaciones de los tratamientos escisionales | 130 |

| | |
|--|------------|
| 1.7.4. Seguimiento postconización..... | 131 |
| 1.8. NUEVAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN: VACUNAS TERAPÉUTICAS. | 133 |
| 1.8.1. Introducción..... | 133 |
| 1.8.2. Concepto..... | 134 |
| 1.8.3. Vacunas Terapéuticas contra el VPH: Principales Estrategias | 136 |
| | |
| CAPÍTULO II: JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS | 141 |
| | |
| CAPÍTULO III: OBJETIVOS | 143 |
| 3.1. OBJETIVO PRINCIPAL..... | 143 |
| 3.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS | 143 |
| | |
| CAPÍTULO IV: MATERIAL Y MÉTODO | 145 |
| 4.1. DISEÑO DEL ESTUDIO | 145 |
| 4.2. COMITÉ ÉTICO | 145 |
| 4.3. ÁMBITO DEL ESTUDIO..... | 145 |
| 4.4. POBLACIÓN DEL ESTUDIO..... | 147 |
| 4.5. PROTOCOLO DE ESTUDIO..... | 147 |
| 4.6. DEFINICIONES..... | 148 |
| 4.7. VARIABLES DEL ESTUDIO..... | 149 |
| 4.7.1. Variables demográficas | 149 |
| 4.7.2. Variables relacionadas con los cofactores implicados en el desarrollo de lesión preneoplásica y cáncer cervical..... | 149 |
| 4.7.3. Variables relacionadas con la vacunación frente a VPH..... | 150 |
| 4.7.4. Variables clínicas | 150 |
| 4.7.5. Variables diagnósticas | 150 |
| 4.8. SEGUIMIENTO CLÍNICO..... | 151 |
| 4.8.1. Márgenes negativos de la pieza de conización..... | 151 |
| 4.8.2. Márgenes positivos de la pieza de conización o legrado endocervical en el momento de la conización positivo..... | 152 |
| 4.8.3. Margen endocervical positivo en mujeres mayores de 50 años | 153 |
| 4.9. METODOLOGÍA LABORATORIO | 153 |
| 4.9.1. Estudio histopatológico (citología y biopsia)..... | 153 |
| 4.9.2. Estudio molecular. Test de VPH..... | 154 |
| 4.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS..... | 155 |

| | |
|---|---------|
| CAPÍTULO V: RESULTADOS | 157 |
| 5.1. RESULTADOS DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DESCRIPTIVO | 157 |
| 5.1.1. Datos descriptivos de las pacientes en estudio | 157 |
| 5.1.2. Datos descriptivos de las pacientes estudiadas en función de su estado de vacunación y tipo de vacuna..... | 159 |
| 5.1.3. Relación del estado de vacunación y el tipo de infección inicial de las pacientes con presencia de eventos tras la conización | 163 |
| 5.1.4. Relación entre la presencia de infección posterior a la conización y el desarrollo de lesión residual/recurrencia..... | 169 |
| 5.2. RESULTADOS DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO INFERENCIAL..... | 171 |
| 5.2.1. Estudio de la asociación del estado de vacunación con la presencia de eventos tras la conización | 171 |
| 5.2.2. Estudio de la asociación del estado de vacunación con la presencia de infección tras la conización..... | 172 |
| 5.2.3. Estudio de la asociación del estado de vacunación con el desarrollo de lesión residual/recurrente | 173 |
| 5.2.4. Estudio de la asociación del estado de vacunación con el desarrollo de lesión residual/recurrencia en pacientes infectadas tras la conización..... | 174 |
| 5.2.5. Estudio de la influencia del estado de los márgenes en la relación entre el estado de vacunación y la presencia de eventos tras la conización..... | 175 |
| 5.2.6. Estudio de la influencia del tipo de virus basal en la relación entre el estado de vacunación y la presencia de eventos tras la conización..... | 177 |
| CAPÍTULO VI: DISCUSIÓN | 179 |
| 6.1. VARIABLES DEMOGRÁFICAS DE LA POBLACIÓN..... | 184 |
| 6.1.1. Edad | 184 |
| 6.1.2. Origen geográfico | 185 |
| 6.2. VARIABLES RELACIONADAS CON LOS COFACTORES IMPLICADOS EN EL DESARROLLO DE LESIÓN PRENEOPLÁSICA Y CÁNCER CERVICAL..... | 186 |
| 6.2.1. Tabaco | 186 |
| 6.2.2. Paridad..... | 186 |

| | |
|---|-----|
| 6.2.3. Menopausia..... | 187 |
| 6.2.4. Uso de Anticonceptivos Hormonales..... | 187 |
| 6.2.5. Uso de DIU..... | 188 |
| 6.2.6. Uso de Preservativo..... | 188 |
| 6.3. VARIABLES RELACIONADAS CON LA VACUNACIÓN..... | 189 |
| 6.3.1. Estado de vacunación..... | 189 |
| 6.3.2. Tipo de vacuna recibida..... | 189 |
| 6.3.3. Momento de la vacunación..... | 190 |
| 6.4. VARIABLES CLÍNICAS..... | 191 |
| 6.4.1. Motivo de la conización..... | 191 |
| 6.4.2. Tipo de conización..... | 191 |
| 6.4.3. Estado de los márgenes de la pieza de conización..... | 192 |
| 6.4.4. Test de VPH basal (preconización)..... | 192 |
| 6.4.5. Aclaramiento VPH postratamiento..... | 192 |
| 6.4.6. Seguimiento postconización..... | 193 |
| 6.5. EVALUAR SI LA VACUNACIÓN FRENTE AL VPH DISMINUYE LA INCIDENCIA DE LESIÓN PREMALIGNA RESIDUAL/RECURRENTE Y/O LA TASA DE INFECCIÓN VPH EN PACIENTES CONIZADAS POR CIN 2-3..... | 194 |
| 6.5.1. Estudio de la asociación de la vacunación con la presencia de infección tras la conización..... | 194 |
| 6.5.2. Estudio de la asociación del estado de vacunación con el desarrollo de lesión residual/recurrente..... | 195 |
| 6.5.3. Estudio del momento de la vacunación con el desarrollo de eventos tras la conización..... | 196 |
| 6.6. CONOCER SI SOBRE EL EFECTO DE LA VACUNACIÓN EN MUJERES TRATADAS POR CIN 2-3 PUEDEN INFLUIR CIERTAS VARIABLES CLÍNICAS (ESTADO DE LOS MÁRGENES DEL CONO Y/O TIPO DE VPH ASOCIADO A LA PRIMERA LESIÓN)..... | 197 |
| 6.6.1. Influencia del estado de los márgenes en relación entre el estado de la vacunación y la presencia de infección tras conización..... | 197 |
| 6.6.2. Influencia del estado de los márgenes en la relación entre el estado de vacunación y la presencia de lesión residual/recurrente..... | 197 |
| 6.6.3. Influencia del tipo de VPH basal, asociado a la lesión, en la relación entre el estado de vacunación y la presencia de infección tras conización..... | 198 |

| | |
|--|------------|
| 6.6.4. Influencia del tipo de VPH basal, asociado a la lesión, en la relación entre el estado de vacunación y el desarrollo de lesión residual/recurrente..... | 199 |
| CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES | 201 |
| CAPÍTULO VIII: LIMITACIONES DEL ESTUDIO | 203 |
| CAPÍTULO IX: FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN..... | 205 |
| CAPÍTULO X: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 207 |
| CAPÍTULO XI: ANEXOS | 237 |

SIGLAS Y ABREVIATURAS

| | |
|----------|---|
| CCU: | Cáncer de cuello uterino o cáncer de cérvix |
| CHUC: | Complejo Hospitalario Universitario de Cartagena |
| REDECAN: | Red Española de Registros del Cáncer |
| VPH: | Virus del Papiloma Humano |
| AR: | Alto Riesgo |
| BR: | Bajo Riesgo |
| CIN: | Neoplasia cervical intraepitelial |
| L-SIL: | Lesión epitelial de bajo grado |
| H-SIL: | Lesión epitelial de alto grado |
| AEPCC: | Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia |
| IARC: | Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer |
| PCR: | Reacción de Cadena de Polimerasa |
| ITS: | Infeción de Transmisión Sexual |
| ACH: | Anticonceptivos Hormonales |
| NK: | Natural Killer |
| ADN: | Ácido desoxinucleico |
| ARNm : | Ácido reboxinucleico de tipo mensajero |
| p 53: | Proteína 53 |
| Rb: | Proteína del Retinoblastoma |
| hTERT: | Telomerasa transcriptasa inversa |
| VEGF: | Factor de crecimiento del endotelio vascular |
| FGF : | Factor de crecimiento de fibroblastos |
| PCR: | Reacción de cadena de polimerasa |
| VLP: | <i>Virus Like Particle</i> . Partículas semejantes a virus |
| WHO: | <i>World Health Organization</i> . Organización Mundial de la Salud |

| | |
|----------|--|
| TGI: | Tracto genital inferior |
| EFC: | Federación Europea de Colposcopia |
| ADC: | Adenocarcinoma |
| ZT: | Zona de Transformación |
| VEGF-C: | Factor C de crecimiento del endotelio vascular |
| HC2: | Test de captura de híbridos para la detección del virus del papiloma humano |
| PIAM: | Plan Integral de Atención a la Mujer |
| SEGO: | Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia |
| IFCPC: | Federación Internacional de Patología Cervical y Colposcopia |
| SEAP: | Sociedad Española de Anatomía Patológica |
| SEC: | Sociedad Española de Citología |
| TAR: | Tratamiento anti-retroviral VIH |
| ASC-US: | Atipia en células escamosas de significado incierto |
| ASC-H: | Atipia en células escamosas que no permite descartar lesión intraepitelial de alto grado |
| AGC: | Atipia en células glandulares |
| AGC-N: | Atipia en células glandulares que no permite descartar neoplasia |
| PAIN: | Neoplasia del área perianal |
| VIH: | Virus de la Inmunodeficiencia Humana |
| CIS: | Carcinoma in situ |
| AIS: | Adenocarcinoma in situ |
| VPN: | Valor predictivo negativo |
| Co-test: | Citología y test para detección de VPH |
| LLETZ: | <i>Large Loop Excision of the Transformation Zone</i> . Conización o Escisión de la zona de transformación con asa de diatermia. |
| LEEP: | <i>Loop Electrical Excision Procedure</i> . Escisión con asa de diatermia |

| | |
|-----------|--|
| FDA: | Administración de Alimentos y Medicamentos |
| MHC: | Complejo mayor de histocompatibilidad |
| HGUSL: | Hospital General Universitario Santa Lucía |
| HGUSMR: | Hospital General Universitario Santa María del Rosell |
| SMS: | Servicio Murciano de Salud |
| AMM: | Asamblea Médica Mundial |
| LAST: | <i>Lower Anogenital Squamous Terminology</i> |
| PATRICIA: | <i>PApilloma Trial against Cancer In Young Adults</i> |
| FUTURE: | <i>Females United to Unilaterally Reduce Endo/Ectocervical Disease</i> |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | | |
|-----------|--|----|
| Figura 1. | Pieza de histerectomía con doble anexectomía con Cáncer de cuello uterino. Cedida por Servicio de Anatomía Patológica del Complejo Hospitalario Universitario de Cartagena CHUC..... | 42 |
| Figura 2. | Esquema de un modelo matemático que simula la historia natural del virus del papiloma humano y el cáncer de cuello de útero. Obtenido de Guía de Cribado de Cáncer de Cuello en España. AEPCC 2014 | 43 |
| Figura 3. | Historia natural del cáncer cervical y sus lesiones preinvasoras. Obtenido de Puig Tintoré et al., 2011. Prevención del cáncer cervical: vacunación y colposcopia | 44 |
| Figura 4. | Tasas estimadas de Incidencia y Mortalidad asociadas al carcinoma de cérvix estandarizadas por edad (mundial) por 100.000. Obtenido de Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC) http://globocan.iarc.fr/default.aspx . (Accessed on March 18, 2018) | 46 |
| Figura 5. | Incidencia del Cáncer de Cérvix estimada a nivel mundial. Obtenido de Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC) http://globocan.iarc.fr/default.aspx . (Accessed on March 18, 2018) | 46 |
| Figura 6. | Mortalidad del Cáncer de Cérvix estimada a nivel mundial. Obtenido de Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC) http://globocan.iarc.fr/default.aspx . (Accessed on March 18, 2018) | 47 |
| Figura 7. | Mortalidad estimada para el cáncer de cérvix en Europa. Obtenido de EUCAN, WHO 2012..... | 47 |
| Figura 8. | Carga de enfermedad cervical asociada al virus del papilloma humano en España. Obtenido de Guía de Cribado del Cáncer de Útero en España. Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia, Torné A et al., 2014..... | 50 |
| Figura 9. | Prevalencia por edad de infección por HPV en mujeres con citología normal a nivel mundial. Adaptado de ICO Information Centre on Human Papilloma Virus (HPV) and Cancer | 51 |

| | | |
|------------|---|----|
| Figura 10. | Clasificación filogenética del VPH. (Obtenida de Villiers et al., 2004)..... | 58 |
| Figura 11. | Organización genómica del VPH 16 (Obtenida de “The Biology and Life-Cycle of Human Papillomaviruses”. Stanley y col. Vaccine 2012)..... | 59 |
| Figura 12. | Internalización del HPV en la célula. Obtenida de http://www.Inmunopaedia.org | 60 |
| Figura 13. | Replicación viral dentro de las células epiteliales. Obtenida de www.Inmunopaedia.org | 61 |
| Figura 14. | Inhibición de p53 y pRB por las oncoproteínas E6,E7 del VPH. Obtenida de zur Hausen, 2002..... | 64 |
| Figura 15. | Árbol filogenético de tipos de VPH anogenitales, según riesgo (Modificado de “Analysis of genomic sequences of 95 papillomavirus types” Chan SY et al., J. Viol-1995)..... | 67 |
| Figura 16. | Modo de producción de las VLP de las vacunas frente a VPH. Obtenida de Tatti et al., 2017. Enfoque integral de las Patologías relacionadas con el VPH. Editorial Panamericana | 71 |
| Figura 17. | Cervarix®. Vacuna bivalente frente a VPH 16 y 18. Obtenida de http://www.beevoz.com/wp-content/uploads/2015/03/vacuna_virus_papiloma_humano.jpg | 72 |
| Figura 18. | Gardasil®. Vacuna tetravalente frente a VPH 6, 11, 16 y 18. Obtenida de http://www.radioh2o.ca/wp-content/uploads/2012/03/2007-10-4-gardasil72634864-640x480_c.jpg | 72 |
| Figura 19. | Gardasil 9®. Vacuna nonavalente frente a VPH 6/11/16/18/31/33/45/52/58. Obtenida de https://www.newswire.ca/news-releases/mercks-hpv-vaccine-gardasil9-now-available-in-canada-517470221.html | 73 |
| Figura 20. | Países con programa nacional de inmunización contra el virus del papiloma y con introducciones previstas, 2013 (fuente: Organización Mundial de la salud) | 74 |
| Figura 21. | Método de realización de citología convencional con doble toma sobre portaobjetos. Obtenida de http://drbenjamingloria.com/img/images/thumbs/1286292645.jpg | 85 |

| | |
|--|-----|
| Figura 22. Método de procesamiento de la citología líquida Thin prep®. Obtenida de http://image.slidesharecdn.com/cellblockandliquidbasescytology | 86 |
| Figura 23. Atipia escamosa de significado indeterminado (AS-CUS). Cedida por Servicio de Anatomía Patológica CHUC | 89 |
| Figura 24. Atipia escamosa, sin poder excluir HSIL. Cedida por Servicio de Anatomía Patológica CHUC | 89 |
| Figura 25. Lesión intraepitelial de bajo grado (L SIL). Cedida por Servicio de Anatomía Patológica CHUC | 90 |
| Figura 26. Lesión intraepitelial de alto grado (H SIL). Cedida por Servicio de Anatomía Patológica CHUC | 91 |
| Figura 27. Atipia glandular de significado indeterminado. Cedida por Servicio de Anatomía Patológica de CHUC | 92 |
| Figura 28. Lesión de bajo grado (CIN 1) en histopatología. Cedida por Servicio de Anatomía Patológica del CHUC | 93 |
| Figura 29. Lesión de bajo grado (CIN 1) en histopatología. Cedida por Servicio de Anatomía Patológica del CHUC | 94 |
| Figura 30. Terminología de la Neoplasia Intraepitelial Cervical (CIN). Adaptado de Darragh et al., 2012 | 95 |
| Figura 31. Algoritmo de cribado poblacional basado en el genotipo parcial. Obtenida de Mateos- Lindemann et al, 2016..... | 99 |
| Figura 32. Tinción dual positiva en Citología. Cedida por Servicio de Anatomía Patológica del CHUC..... | 100 |
| Figura 33. Tinción dual positiva en histopatología. Cedida por Servicio de Anatomía Patológica del CHUC..... | 101 |
| Figura 34. Colposcopio de Hinselmam. Obtenida de https://image.slidesharecdn.com/historiadela-colposcopia-151107012445-lva1-app6892/95/historia-de-lacolposcopia-11-638.jpg?cb=1446860060 | 102 |
| Figura 35. Videocolposcopio. Obtenida de http://img.medicaexpo.es/images_me/photo-mg/67980-10290377.jpg | 102 |
| Figura 36. Esquema del ectocérvix en cuadrantes y sectores. Modificado de Puig-Tintoré et al., 2011 | 105 |

| | | |
|------------|---|-----|
| Figura 37. | Espéculo endocervical de Kogan. Tomado de https://www.bing.com/images/search?view=detailV2&iss=VS&imgurl=http%3a%2f%2fwww.gyneas.es%2f906-home_default%2fspeculum-endo-cervical-kogan-avec-cremaillere.jpg&mid=88E1DF581CBE4A49C150E6A757B267A24A522D73&ccid=jwc0iOE1&simid=608028673834355280&thid=OIP.jwc0iOE1Z2sbno3vgQdh nQHaha&exph=250&expw=250&first=1&cal=0.14933333333333334&cat=0.14933333333333334&car=0.8506666666666667&ab=0.8506666666666667 | 108 |
| Figura 38. | Zona de transformación tipo II no totalmente visible que hace necesario el empleo de un espéculo de Kogan. Obtenida de Guía Práctica de Iconografía Colposcópica 2ª Edición (Coloma et al., 2016)..... | 108 |
| Figura 39. | Cuello normal. Obtenida de Guía Práctica de Iconografía Colposcópica 2ª Edición (Coloma et al., 2016)..... | 110 |
| Figura 40. | Hallazgos colposcópicos anormales (Grado 1): epitelio acetoblanco débil y mosaico fino con punteado débil en labio anterior. Obtenida de Guía Práctica de Iconografía Colposcópica 2ª Edición (Coloma et al., 2016)..... | 110 |
| Figura 41. | Hallazgos colposcópicos anormales (Grado 2): epitelio acetoblanco denso entre la 1 y las 6 h, además de grietas hemorrágicas entre las 2-3 h, que podrían indicar microinvasión. Obtenida de Guía Práctica de Iconografía Colposcópica 2ª Edición (Coloma et al., 2016)..... | 110 |
| Figura 42. | Colposcopia de cáncer invasor. Epitelio acetoblanco muy denso y perlado con vasos atípicos de 3-5 h. Obtenida de Guía Práctica de Iconografía Colposcópica 2ª Edición (Coloma et al., 2016)... | 111 |
| Figura 43. | Esquema de cribado. Obtenida de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello de Útero, 2014 | 113 |
| Figura 44. | Algoritmo Conducta ante Citología negativa y prueba de VPH positiva. Obtenido de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014 | 116 |
| Figura 45. | Algoritmo Conducta ante Citología NO Satisfactoria. Obtenido de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014..... | 117 |

| | | |
|------------|---|-----|
| Figura 46. | Algoritmo Conducta ante ASC-US. Obtenido de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014..... | 117 |
| Figura 47. | Algoritmo Conducta ASC-H. Obtenido de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014..... | 119 |
| Figura 48. | Algoritmo Conducta LSIL. Obtenido de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014..... | 119 |
| Figura 49. | Algoritmo Conducta LSIL en mujeres menopáusicas. Obtenido de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014..... | 120 |
| Figura 50. | Algoritmo Conducta Citología HSIL. Obtenido de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014..... | 120 |
| Figura 51. | Algoritmo Conducta ante Citología HSIL en mujeres menores de 25 años. Obtenido de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014 | 121 |
| Figura 52. | Algoritmo Conducta ante citología Atipia de células glandulares. Obtenido de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014..... | 121 |
| Figura 53. | Algoritmo Conducta ante Biopsia LSIL/CIN 1 (Citología previa ASC-US, LSIL o VPH persistente). Obtenido de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014..... | 122 |
| Figura 54. | Algoritmo Conducta ante Biopsia LSIL/CIN 1 (Citología previa HSIL, ASC-H o ACG). Obtenida de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014..... | 122 |
| Figura 55. | Algoritmo Conducta ante Biopsia LSIL/CIN 1 endocervical. Obtenida de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014..... | 123 |
| Figura 56. | Algoritmo Conducta ante Biopsia LSIL/CIN en menores de 25 años. Obtenida de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014..... | 123 |
| Figura 57. | Algoritmo Conducta ante Biopsia HSIL/CIN 2-3. Obtenida de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014..... | 124 |

| | |
|---|-----|
| Figura 58. Algoritmo Conducta ante Adenocarcinoma in situ (Citología/Biopsia). Obtenida de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014 | 124 |
| Figura 59. Protocolo de Cribado en mujeres vacunadas. Modificado de Cortés et al., 2010 | 125 |
| Figura 60 . Técnica del LLETZ. Obtenida de Prendiville at al., 1989..... | 128 |
| Figura 61. Distintos tamaños de asas de diatermia para LEEP . Obtenida de http://www.eymsa.mx/system/product_images/prod_imgs/000/000/065/original/P1020994.JPG?1459798838 | 128 |
| Figura 62. Técnica de conización con asa de diatermia. Obtenida de https://www.karlstorz.com/static/file_pics/pic_editorial/es/HM_GYN/3438453_rdax_80.jpg | 129 |
| Figura 63. Resultado inmediato tras conización con asa de diatermia. Obtenida de https://i.ytimg.com/vi/LSIbwTUqMjo/hqdefault.jpg .. | 129 |
| Figura 64. Protocolo de control postratamiento de CIN. Obtenido de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014..... | 133 |
| Figura 65. Diferencias en cuanto a inmunidad de las vacunas VPH preventivas y terapéuticas. Obtenido de <i>Therapeutic DNA Vaccines for Human Papillomavirus and Associated Diseases</i> (Cheng MA et al., 2017)..... | 134 |
| Figura 66. Mecanismos de formulación y actuación de las vacunas terapéuticas VPH. Obtenida de <i>Therapeutic DNA Vaccines for Human Papillomavirus and Associated Diseases</i> (Cheng et al., 2017)..... | 136 |
| Figura 67. Mapa sanitario de la Región de Murcia. Obtenida de http://www.murciasalud.es/salud_mental.php?c=pagina&a=ver&iddoc=247314&idsec=898 | 146 |
| Figura 68. Pirámides de población de los cuatro municipios que engloban el Área 2 de Salud. Obtenida de https://www.foro-ciudad.com/murcia/cartagena/habitantes.html | 146 |

| | |
|---|-----|
| Figura 69. Procesador PrepStain para citología líquida: http://www.bd.com/scripts/europe/ds/productsdrilldown.asp?CatID=191&SubID=925&siteID=20089&d=&s=europe%2Fds&sTitle=Diagnostic+Systems&metaTitle=1+-+Cervical+Cytology+%C2%BB&dc=europe%2Fds&dcTitle=Diagnostic+Systems | 153 |
| Figura 70. Diagrama de flujo de pacientes seleccionadas para el estudio ... | 157 |
| Figura 71. Porcentaje de mujeres con edades comprendidas en cada categoría..... | 159 |
| Figura 72. Porcentaje de mujeres con CIN 2 y CIN 3 en el momento de la conización en el grupo de vacunadas, no vacunadas, con vacuna bivalente y con vacuna tetravalente | 160 |
| Figura 73. Distribución del porcentaje de mujeres en distintos grupos (estado de vacunación y el tipo de vacuna) según el estado de sus márgenes en el momento de la conización..... | 161 |
| Figura 74. Porcentaje de mujeres en distintos grupos (estado de vacunación y el tipo de vacuna) sin virus en el momento basal, con virus de tipo vacunal (16 y/o 18) y con virus de tipo no vacunal | 162 |
| Figura 75. Árbol con eventos (infección) tras la conización en las pacientes por estado de vacunación (Si/No) y tipo de infección al inicio .. | 165 |
| Figura 76. Árbol con eventos (infección) tras la conización en las pacientes por estado de vacunación (con Bivalente, con Tetravalente, No vacunados) y tipo de VPH detectado al inicio..... | 166 |
| Figura 77. Árbol con eventos (lesión residual/recurrente) tras la conización en las pacientes por estado de vacunación (Si/No) y tipo de VPH al inicio | 167 |
| Figura 78. Árbol con eventos (lesión residual/recurrente) tras la conización en las pacientes por estado de vacunación (con Bivalente, con Tetravalente, No vacunados) y tipo de infección al inicio | 168 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | | |
|-----------|---|-----|
| Tabla 1. | Distribución en frecuencia de los cánceres atribuibles a VPH. Modificada de Bonanni et al., 2015 | 56 |
| Tabla 2. | Clasificación carcinogénica de los tipos de VPH, basada en el grupo de trabajo de la Agencia Internacional para Investigación del Cáncer (IARC, 2009)..... | 66 |
| Tabla 3. | Resumen de los resultados principales de los ensayos de las vacunas VPH. Obtenida de Bruni et al., 2015 | 79 |
| Tabla 4. | Clasificación de hallazgos citológicos según “Sistema Bethesda 2001 (modificado)” | 88 |
| Tabla 5. | Indicaciones clínicas de las técnicas VPH-AR aprobadas por la FDA. Obtenida de Mateos- Lindemann et al., 2016 | 96 |
| Tabla 6. | Indicaciones Citológicas de la Colposcopia. Adaptado de Prevención del cáncer cervical: vacunación y colposcopia. Puig-Tintoré et al., 2011 | 103 |
| Tabla 7. | Indicaciones Clínicas de la Colposcopia. Modificado de Prevención del cáncer cervical: vacunación y colposcopia. Puig-Tintoré et al., 2011 | 104 |
| Tabla 8. | Terminología Colposcópica de la Federación Internacional de Patología Cervical y Colposcopia 2011. Adaptada de Bornstein J, Bentley J, Bosze P, Girardi F, Haefner H, Menton M, Perrotta M, Prendiville W, Russell P, Sideri M, Strander B, Torne A, Walker P. 2011 | 109 |
| Tabla 9. | Vacunas terapéuticas en ensayos clínicos Fase II. Obtenida de Tatti et al., 2017. Enfoque integral de las Patologías relacionadas con el VPH. Editorial Panamericana..... | 135 |
| Tabla 10. | Cronograma de seguimiento en casos de Márgenes Negativos de la pieza de conización | 152 |
| Tabla 11. | Cronograma de seguimiento en casos de Márgenes Positivos de la pieza de conización | 152 |
| Tabla 12. | Datos descriptivos de las pacientes estudiadas | 158 |
| Tabla 13. | Parámetros clínico-demográficos de las pacientes estudiadas | 160 |

| | | |
|-----------|--|-----|
| Tabla 14. | Cofactores de adquisición de infección HPV en las pacientes estudiadas..... | 161 |
| Tabla 15. | Factores carcinogénicos de las pacientes estudiadas | 162 |
| Tabla 16. | Distribución porcentual de las mujeres muestreadas en las distintas categorías de algunas de sus características en función de si han presentado o no lesión residual/recurrencia tras la conización..... | 163 |
| Tabla 17. | Número de pacientes (porcentaje) por estado de vacunación (no vacunada, vacunada, tipo de vacuna) y tipo de VPH al inicio que presentan infección tras la conización (sin considerar las pacientes que no tienen virus en el momento basal)..... | 166 |
| Tabla 18. | Número de pacientes (porcentaje) por estado de vacunación (no vacunada, vacunada, tipo de vacuna) y tipo de infección al inicio que desarrollaron lesión residual/recurrencia (sin considerar las pacientes que no tienen virus en el momento basal)..... | 168 |
| Tabla 19. | Número de pacientes (porcentaje) por genotipo de VHP basal (ausencia de HPV vacunal y al menos un HPV vacunal) y presencia o no de infección tras la conización que desarrollaron lesión residual /recurrente | 169 |
| Tabla 20. | Número de pacientes (porcentaje) por genotipo de VHP basal (ausencia de VHP, ausencia de HPV vacunal y al menos un HPV vacunal) y presencia o no de infección tras la conización que desarrollaron lesión residual /recurrente | 170 |
| Tabla 21. | (a): Porcentaje de pacientes infectadas con virus tras la conización, (b): porcentaje con lesión residual/recurrente tras la conización y (c): porcentaje con lesión residual/recurrente entre las infectadas tras la conización $(b)=(a)*(c)$ | 171 |
| Tabla 22. | Efecto (Odds Ratio (OR) e Intervalo de confianza al 95%) en la presencia de infección tras la conización, sin ajustar y ajustado por la edad, de: (a) vacunarse frente a no vacunarse, (b) no vacunarse frente a vacunarse con cada una de las vacunas y vacunarse con tetravalente frente a bivalente | 173 |
| Tabla 23. | Efecto (Odds Ratio (OR) e Intervalo de confianza al 95%) en el desarrollo de lesión residual/recurrencia, sin ajustar y ajustado | |

| | | |
|-----------|--|-----|
| | por la edad, de: (a) vacunarse frente a no vacunarse, (b) no vacunarse frente a vacunarse con cada una de las vacunas y vacunarse con tetravalente frente a bivalente | 174 |
| Tabla 24. | En pacientes infectadas tras la conización, efecto (Odds Ratio (OR) e Intervalo de confianza al 95%) en el desarrollo de lesión residual/recurrente, sin ajustar y ajustado por la edad, de: (a) vacunarse frente a no vacunarse, (b) no vacunarse frente a vacunarse con cada una de las vacunas y vacunarse con tetravalente frente a bivalente..... | 175 |
| Tabla 25. | Porcentaje de pacientes infectadas tras la conización según el estado de vacunación y estratificando por el estado de los márgenes en el momento del cono. P-valores obtenidos con modelo de regresión logística ajustado por la edad de conización..... | 176 |
| Tabla 26. | Porcentaje de pacientes con lesión residual/recurrente, según el estado de vacunación y estratificando por el estado de los márgenes en el momento del cono. P-valores obtenidos con modelo de regresión logística ajustado por la edad de conización | 176 |
| Tabla 27. | Porcentaje de pacientes infectadas tras la conización según el estado de vacunación y estratificando por estar o no infectada con el virus 16 y/o el 18 en el momento del cono. P-valores obtenidos con modelo de regresión logística ajustado por la edad de conización | 177 |
| Tabla 28. | Porcentaje de pacientes con lesión residual/recurrente, según el estado de vacunación y estratificando por estar o no infectada con el virus 16 y/o el 18 en el momento del cono. P-valores obtenidos con modelo de regresión logística ajustado por la edad de conización | 178 |
| Tabla 29. | Resumen de los estudios publicados sobre el Efecto de la Vacunación frente a VPH en pacientes tratadas por lesión cervical | 180 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | |
|--|-----|
| ANEXO 1. Informe de Consulta de Patología Cervical | 235 |
| ANEXO 2. Consentimiento Informado de la Conización Cervical | 236 |
| ANEXO 3. Información para la paciente sobre la Conización..... | 238 |
| ANEXO 4. Recomendaciones de la Vacuna frente a VPH tras Conización.... | 239 |

I. INTRODUCCIÓN

El cáncer de cérvix es un importante problema de salud, ya que es el segundo en frecuencia diagnosticado en mujeres menores de 40 años y el segundo en mortalidad en mujeres entre 20-39 años (Siegel and Naishadham, 2013).

Uno de los descubrimientos más importantes en la investigación etiológica del cáncer en los últimos años ha sido la demostración de que una infección persistente por un virus era capaz de desarrollar un cáncer (zur Hausen, 2002). En efecto, el Virus del Papiloma Humano (VPH), tras haber sido postulado durante mucho tiempo como simple cofactor del cáncer de cuello uterino, pudo demostrarse su papel oncogénico, al ser aislado en casi la totalidad de las biopsias de útero con cáncer de cérvix (Dürst et al., 1983). Este descubrimiento despertó la curiosidad en toda la Comunidad Científica por el estudio de este tema e hizo posible diseñar estrategias preventivas de gran magnitud, como el lanzamiento de una vacuna para la prevención de un cáncer con alta incidencia en mujeres jóvenes y para la infección de transmisión sexual más frecuente en el mundo (Paavonen et al., 2007; Garland et al., 2007).

El científico y virólogo alemán Harald zur Hausen recibió merecidamente el Premio Nobel de Medicina en 2008 por sus investigaciones relacionadas con el mecanismo de la carcinogénesis producida por el VPH, los factores que predisponen la persistencia viral y la transformación celular, compartido ese año con los descubridores del Virus de la Inmunodeficiencia Humana, los franceses Françoise Barré-Sinoussi y Luc Montagnier. Casi simultáneamente a este acontecimiento veían la luz las dos vacunas sintetizadas para prevenir la infección del virus del Papiloma Humano.

Parece que está claro el papel preventivo de la vacuna, tanto para el cáncer de cérvix como para las lesiones precursoras, que afectan a muchas más mujeres en el mundo y que suponen un problema sociosanitario importante y de gran impacto emocional. Sin embargo, la vacuna podría tener también efecto inmunoprotector, al disminuir la reinfección/reactivación viral en mujeres que ya han sido tratadas por lesiones cervicales causadas por el VPH y de esta forma disminuir el riesgo de recidiva de estas neoplasias, no sólo en el cérvix, sino en todo el tracto genital inferior.

1.1. CÁNCER DE CUELLO UTERINO Y LESIONES PRENEOPLÁSICAS

1.1.1. Concepto y Generalidades

El cáncer de cuello uterino (CCU) o cáncer de cérvix (*cervix uteri*) se define, según el Instituto Nacional del Cáncer de EEUU, como el “cáncer que se forma en los tejidos del cuello uterino” (porción inferior del útero que se introduce en el interior de la vagina). Existen dos tipos fundamentales y diferentes de CCU, según el epitelio a partir del cual se desarrollan (de la Fuente, 2005):

- ✓ Carcinoma epidermoide (epitelio pavimentoso poliestratificado del exocérvix)
- ✓ Adenocarcinoma (epitelio glandular del endocérvix)

Del 85 al 90% de los CCU son del tipo epidermoide. La frecuencia del Adenocarcinoma oscila alrededor del 10-15% y son de diagnóstico más tardío por su localización profunda en el canal cervical. Otros tumores malignos como el sarcoma, melanoma y linfoma son muy raros.



FIGURA 1. Pieza de histerectomía con doble anexectomía con Cáncer de cuello uterino. Cedida por Servicio de Anatomía Patológica del Complejo Hospitalario Universitario de Cartagena CHUC.

El CCU está producido por una infección persistente por el virus del papiloma humano (VPH), que conlleva a la transformación oncogénica de las células del epitelio cervical (Cox et al., 1995). El VPH puede ser detectado en

el 99,7% de los CCU. La presencia del VPH en la práctica totalidad de los cánceres cervicales implica la más alta fracción a nivel mundial, hasta ahora publicada, dentro de los cánceres de causa específica (Walboomers et al., 1999). Los genotipos 16 y 18 causan aproximadamente el 70% de los CCU y el 50% de las lesiones cervicales precancerosas (Konno et al., 2008). Cerca del 90% de los CCU se generan sobre la zona de transición del epitelio cervical pavimentoso, en el epitelio columnar endocervical, punto de máxima vulnerabilidad para la carcinogénesis.

El precursor del carcinoma es la displasia cervical, que requiere de 3 a 20 años para transformarse en cáncer invasivo. Al menos el 20% de los carcinomas in situ desarrollan invasión celular más allá de la membrana basal, dando lugar al carcinoma microinvasivo.

En la mayor parte de los casos de cáncer de cérvix existe una fase previa de preinvasión, con una evolución relativamente lenta, denominada **neoplasia cervical intraepitelial (CIN)**, la cual no tiene poder metastatizante. Si se detecta en esta fase y se realiza un tratamiento adecuado, se producirá la curación del proceso y prevención de su evolución a carcinoma. Debido a que se conoce la historia natural del CCU, es posible su diagnóstico en fase precoz, potencialmente curable; de ahí la importancia de implementar un cribado poblacional dentro de las políticas sanitarias, para disminuir la incidencia de este tumor.

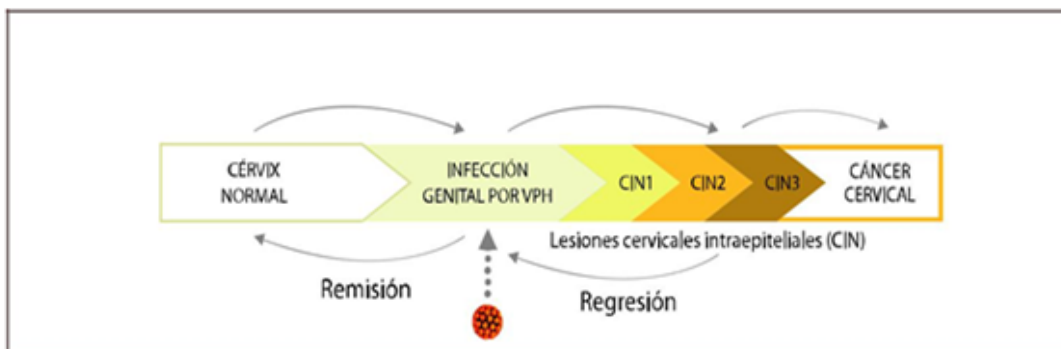


FIGURA 2. Esquema de un modelo matemático que simula la historia natural del virus del papiloma humano y el cáncer de cuello de útero. Tomado de Guía de Cribado de Cáncer de Cuello en España. AEPCC 2014.

Históricamente, los cambios escamosos premalignos del cuello uterino eran descritos como displasia leve, moderada o severa. En 1998, aparece una nueva terminología, el Sistema Bethesda, revisado posteriormente en 1991 y 2001. En este sistema se utiliza diferente terminología para los hallazgos de citología (test Papanicolau) que para los de histología (biopsia) (Solomon et al., 2002). Los hallazgos citológicos fueron descritos con los términos “Squamous Intraepithelial Lesion” (SIL) y los hallazgos histológicos como “Cervical Intraepithelial Neoplasia” (CIN). El término CIN tiene tres grados de severidad: CIN 1, 2 y 3.

El CIN 1 es una lesión de bajo grado que suele ser consecuencia de la infección por VPH. En ausencia de tratamiento, esta lesión remite a los 12 meses en un 61% en pacientes jóvenes y en el 91% a los 36 meses (Moscicki et al., 2004). La probabilidad de remisión es menor en edades más avanzadas (Nobbenhuis et al., 2001). Ostör en 1993 realizó una revisión de la infección por el VPH, en ella muestra que las lesiones CIN1 remiten en el 60% casos, persisten en el 30%, progresan a CIN 3 en el 10% y al cáncer invasivo en el 1%.

Las lesiones de alto grado (CIN 2-3) son típicamente diagnosticadas en mujeres de 25 a 35 años, mientras que el cáncer invasor suele ser diagnosticado por encima de los 40 años, 8-13 años después del diagnóstico de una lesión de alto grado.

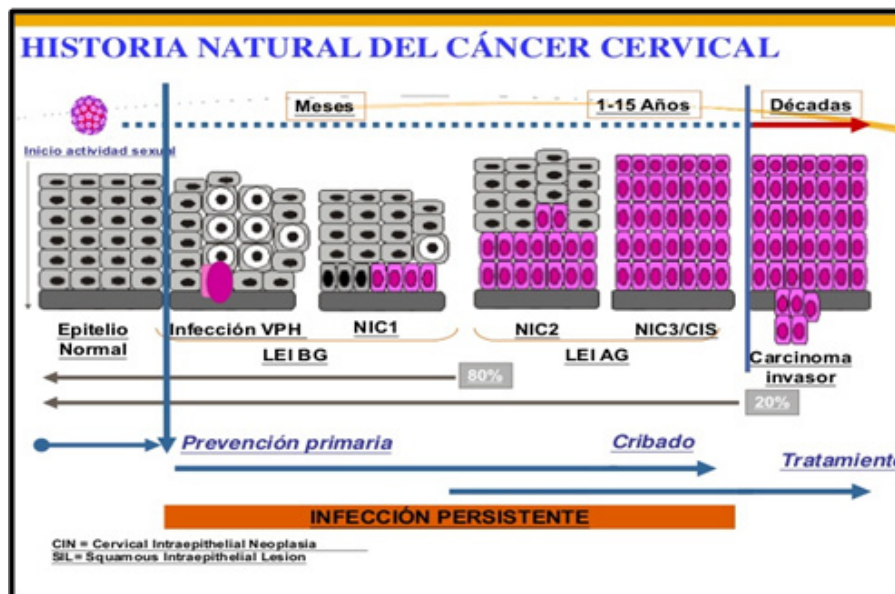


FIGURA 3. Historia natural del cáncer cervical y sus lesiones preinvasoras. Tomada de Puig Tintoré et al, 2011. Prevención del cáncer cervical: vacunación y colposcopia.

1.1.2. Epidemiología: Incidencia y Mortalidad

El cáncer de cérvix o de cuello uterino (CCU) es un importante problema de salud, que al afectar frecuentemente a mujeres jóvenes, implica una morbilidad y mortalidad prematura, potencialmente evitable mediante la realización de determinadas actuaciones sanitarias. Se considera la tercera neoplasia más frecuente entre las mujeres a nivel mundial (Schiffman et al., 2007; Ferlay et al., 2010).

La tasa global de incidencia y mortalidad depende de los programas de screening y de vacunación frente al VPH que están implementadas en los países desarrollados. Gracias a ellos se ha reducido un 75% la incidencia y mortalidad en los países desarrollados en los últimos 50 años (Willoughby et al., 2006). En el mundo se registraron 528.000 nuevos casos con 266.00 muertes en 2012 (Globocan 2012).

En mujeres en países en vías de desarrollo el CCU es el segundo tumor más frecuente y el tercero en mortalidad. El 84% de los CCU se registraron en países menos desarrollados (Torre et al., 2015). En África y en América Central supone la principal causa de muerte por cáncer en mujeres (WHO/ICO, 2010).

En países desarrollados en 2012 ocupa el undécimo puesto en incidencia y el noveno en mortalidad. Según algunas estimaciones, si la tasa de vacunación del 70 por ciento se alcanza en todo el mundo, esperaríamos ver una disminución de 344.520 nuevos casos de cáncer cervical anualmente y evitaríamos 178.182 muertes relacionadas con el CCU (Van Krieking et al., 2014). En Europa ocupa el séptimo lugar en incidencia; en el grupo de mujeres jóvenes de 15-44 años representa el segundo cáncer más común y la segunda causa de mortalidad por cáncer (Ferlay et al., 2013). En España se diagnosticaron unos 2.399 casos en 2015, encontrándose en frecuencia por debajo de los diez tumores más frecuentes en mujeres (REDECAN (Red Española de Registros del Cáncer) working group, 2015) y se producen unas 848 muertes, es decir, aproximadamente 2 mujeres cada día (Castellsagué et al, 2008). Estas cifras son extremadamente altas para una enfermedad totalmente prevenible actualmente en cualquier país desarrollado.

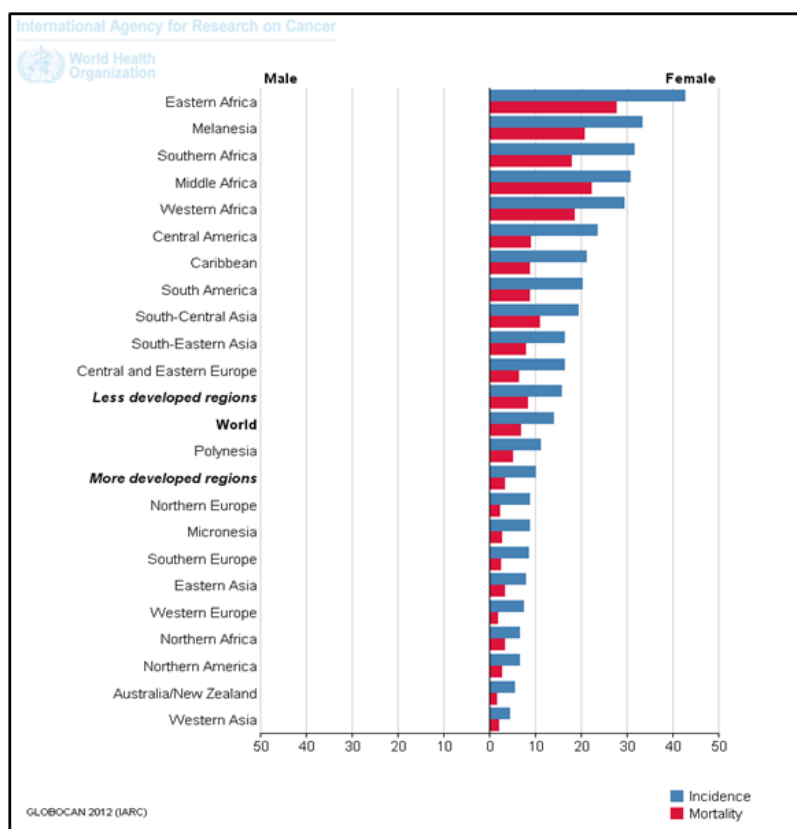


FIGURA 4. Tasas estimadas de Incidencia y Mortalidad asociadas al carcinoma de cérvix estandarizadas por edad (mundial) por 100.000. Obtenido de Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC)
<http://globocan.iarc.fr/default.aspx>. (Accessed on March 18, 2018).

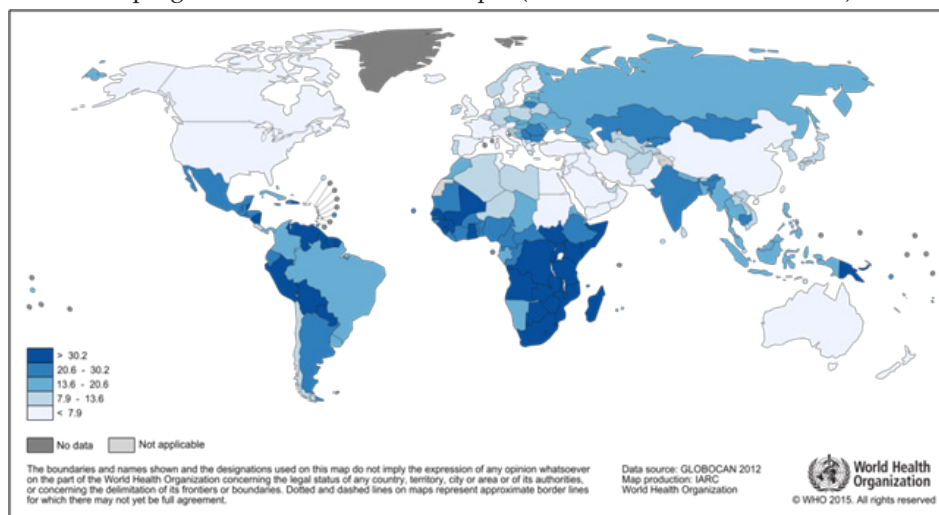


FIGURA 5. Incidencia del Cáncer de Cérvix estimada a nivel mundial. Obtenido de Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC)
<http://globocan.iarc.fr/default.aspx>. (Accessed on March 18, 2018).

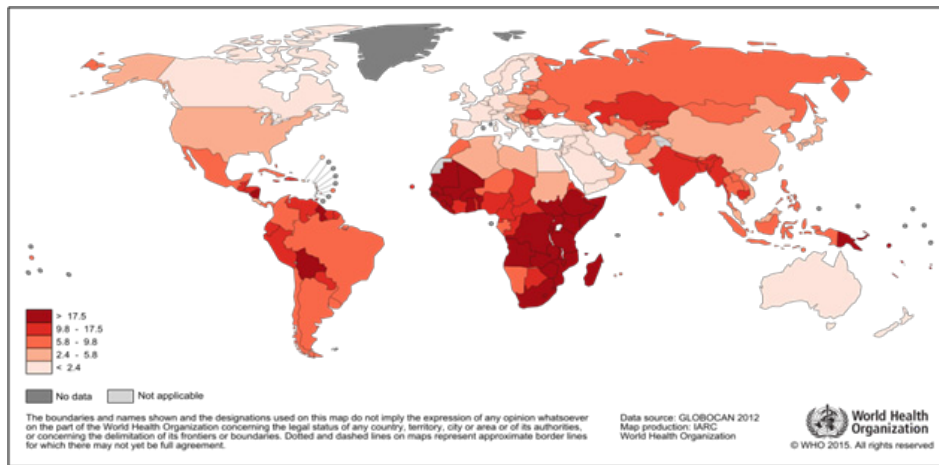


FIGURA 6. Mortalidad del Cáncer de Cérvix estimada a nivel mundial. Obtenido de Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC) <http://globocan.iarc.fr/default.aspx>. (Accessed on March 18, 2018).

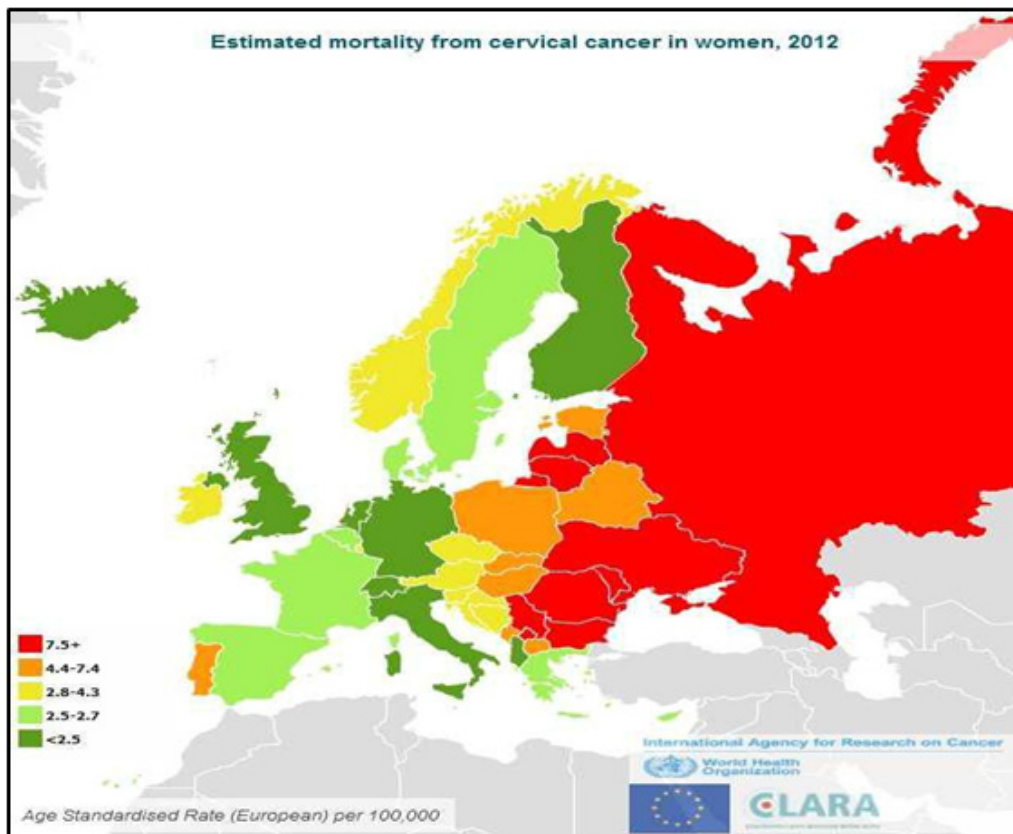


FIGURA 7. Mortalidad estimada para el cáncer de cérvix en Europa. Obtenido de EUCAN, WHO 2012.

1.1.3. Etiología del cáncer de cuello uterino y sus lesiones precursoras

El concepto de que una enfermedad infecciosa (viral) participe en la génesis de ciertos procesos oncogénicos es aceptado. En 1908, Ellerman observó como una determinada leucemia que afectaba a las aves era capaz de transmitirse de un animal a otro, como si de una enfermedad infecciosa se tratara, y en 1964, Epstein y Barr observaron partículas virales pertenecientes a la familia herpesvirus en células linfoblásticas de linfoma de Burkitt. La primera constatación de que el cáncer de cuello de útero tenía un posible origen infeccioso fue la observación, en 1842, de que este tipo de cáncer se solía presentar en mujeres casadas de Florencia, pero era excepcional entre las monjas de los monasterios de las afueras de la misma ciudad (Scotto et al., 1969). Analizando retrospectivamente, este patrón de comportamiento ya reflejaba la existencia de un agente transmisible por vía sexual. Durante los siguientes 140 años, la hipótesis de que un agente infeccioso era el causante de la carcinogénesis del cuello de útero fue ganando credibilidad. Durante algún tiempo, el virus del herpes tipo 2 e incluso *Chlamydia Trachomatis* fueron propuestos como agentes causales del carcinoma de cuello de útero, aunque posteriormente fue descartado (Vonka et al., 1987). A partir de la mitad de la década de 1970, los trabajos de zur Hausen dejaron patente la estrecha vinculación entre la infección por el VPH y las lesiones escamosas intraepiteliales e invasivas cervicales (zur Hausen, 1975; Dürst et al., 1983; Boshart et al., 1984). En 1976 Meisels y Fortin postularon que las *células koilocíticas* encontradas en citologías cervicales de pacientes con displasia representaban los cambios citopatogénicos de una infección por papilomavirus (Meisels et al., 1976; 1977). Gracias a la utilización de procedimientos de detección viral más fiables y precisos, como la PCR, la etiología viral, a favor del VPH es claramente incontrovertible (Terry et al., 1993; Bosch et al., 1994). Pero además, desde mediados de la década de 1980 y sobre todo a partir de la de 1990 la etiología viral se fundamenta no sólo en clave epidemiológica, sino sobre sólidas bases biológicas representadas esencialmente por la existencia de proteínas oncogénicas como E6, E7 que son capaces de iniciar alteraciones en el ciclo natural de la célula huésped (Werness et al., 1990; Dyson et al., 1992).

La demostración de la relación causal entre la infección persistente por ciertos genotipos del Virus del Papiloma Humano (VPH) y el posterior desarrollo del cáncer de cuello uterino y sus lesiones precursoras ha sido uno de los descubrimientos más importantes en la investigación etiológica del cáncer de los últimos 25 años

(Schiffman et al., 1993; Kaufman et al., 1997). La evidencia científica acumulada a partir de estudios virológicos, moleculares, clínicos y epidemiológicos ha permitido demostrar y descubrir de forma inequívoca que el CCU es en realidad una secuela a largo plazo de una infección de transmisión sexual no resuelta, por genotipos oncogénicos del VPH (Bosch et al., 2013). Podemos establecer que la infección por VPH es necesaria para el desarrollo de la neoplasia cervical, sin embargo la extensa mayoría de mujeres infectadas por HPV no desarrollarán lesión cervical de alto grado ni cáncer (Beutner et al., 1997; Moscicki et al., 2001). Los dos mayores factores asociados con el desarrollo de CIN de alto grado y de cáncer cervical es el subtipo de VPH y la persistencia del virus. Asimismo, la etiología infecciosa permitía plantear la posibilidad de una inmunoprotección inducida frente al cáncer mediante una vacuna dirigida hacia el VPH responsable.

El VPH representa una de las infecciones de transmisión sexual más comunes, aunque todavía no del todo conocida. La familia de los VPH cuenta con más de 200 tipos virales que, en relación con su patogenia oncológica, se clasifican en tipos de alto y bajo riesgo oncogénico:

- VPH de bajo riesgo (BR), genotipos 6,11: No se integran en el genoma de la célula huésped y suelen causar lesiones de bajo grado (CIN 1) en un 10% y condilomas en un 90% (Muñoz et al., 2003; Clifford et al., 2003; Mao et al., 2003 ; Bosch et al., 2006).
- VPH de (AR), tales como los genotipos 16,18: están fuertemente asociados con las lesiones de alto grado (CIN 2-3), con la persistencia y con la progresión a cáncer invasor, aunque pueden asociarse también con lesiones de bajo grado. Suponen el 25% de los CIN 1, 50-60% de CIN 2-3 y el 70 % de los CCU (Clifford et al., 2003). Los subtipos de VPH-AR más frecuentemente encontrados difieren según el tipo histológico de CCU (Li et al., 2011):
 - Escamoso: 16(59%), 18(13%), 58(5%), 33(5%) y 45 (4%)
 - Adenocarcinoma: 18(37%), 16 (36%), 45(5%), 31(2%), 33(2%)

Una fracción considerable de las infecciones por VPH es autolimitada, particularmente las que se asocian con variaciones morfológicas de tipo CIN 1-2, sobre todo en mujeres menores de 30 años. Los VPH de tipo 6/11 rara vez se encuentran en lesiones neoplásicas y cursan predominantemente con infecciones clínicamente visibles, denominadas verrugas genitales o condilomas acuminados.

Algunos de los tipos virales de AR están también asociados a tumores en otras localizaciones anogenitales (ano, pene, vulva y vagina), incluso en regiones como lengua, amígdala y laringe (Löning et al., 1985). También se ha podido demostrar la presencia de VPH anogenitales en cánceres de esófago, próstata, vejiga, mama, pulmón y otros órganos (IARC Human Papillomaviruses, Volume 90, 2008). Ocasionalmente las infecciones por VPH-BR se transmiten de la madre al recién nacido dando lugar a infecciones de las vías respiratorias superiores y ocasionando una rara entidad clínica denominada papilomatosis laríngea recurrente.

1.1.4. Prevalencia de la infección VPH

La infección genital por el VPH es la infección de transmisión sexual (ITS) más frecuente en todo el mundo y su prevalencia es muy elevada en hombres y mujeres sexualmente activos (Harper and DeMars, 2017). El VPH infecta las áreas mucosas del cuello del útero, la vagina, la vulva, el ano y el pene. La detección de los tipos de VPH mediante técnicas de reacción en cadena de polimerasa (PCR) presenta una gran variabilidad en la población general, según la edad y la situación geográfica (Moscicki et al., 1998). Se ha estimado que al menos el 50% de las mujeres y hombres sexualmente activos están expuestos al VPH una vez a lo largo de su vida <http://www.cdc.gov/std/HPV/STDFact-HPV.htm>. Accessed on April 20, 2018).

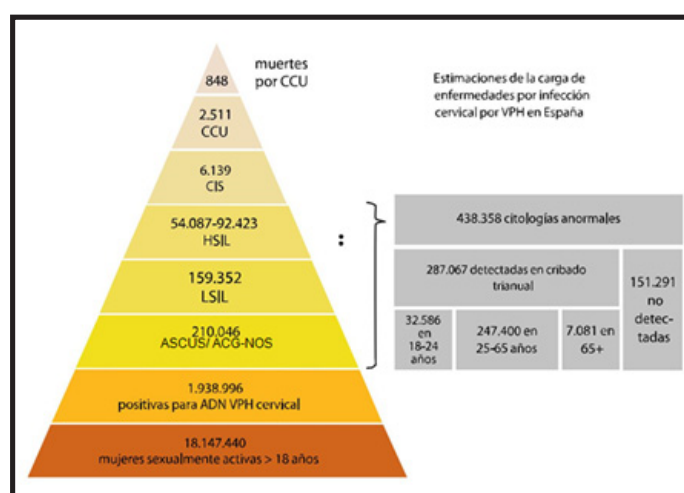


FIGURA 8. Carga de enfermedad cervical asociada al virus del papilloma humano en España. Obtenido de Guía de Cribado del Cáncer de Útero en España. Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia, Torné A et al., 2014.

En mujeres asintomáticas de la población general, la prevalencia de infección por VPH oscila entre un 2 y un 44% (Trottier et al., 2006). Un metanálisis publicado por De San José ha estimado que la prevalencia del VPH en mujeres con resultados normales en la citología de Papanicolau es del 10,41% (de San José et al., 2006). Este resultado se ha obtenido a partir de datos procedentes de 78 estudios publicados. Se estima que alrededor de 105 millones de estas infecciones serán debidas a los VPH 16 ó 18. Se pone de manifiesto en el metanálisis que la prevalencia es máxima en mujeres jóvenes y disminuye en los grupos de mediana edad. Los motivos del segundo pico de prevalencia a partir de los 65 años no están claros, pero pueden estar relacionados con uno o varios factores. Por ejemplo, por una reactivación de infecciones previamente no detectables adquiridas a una edad más temprana, causadas por una pérdida gradual de la inmunidad tipo específica ocasionada por influencias hormonales durante los años de la postmenopausia. Este segundo pico también podría explicarse por la adquisición de infecciones nuevas a través de contactos sexuales con parejas nuevas a una edad más madura.

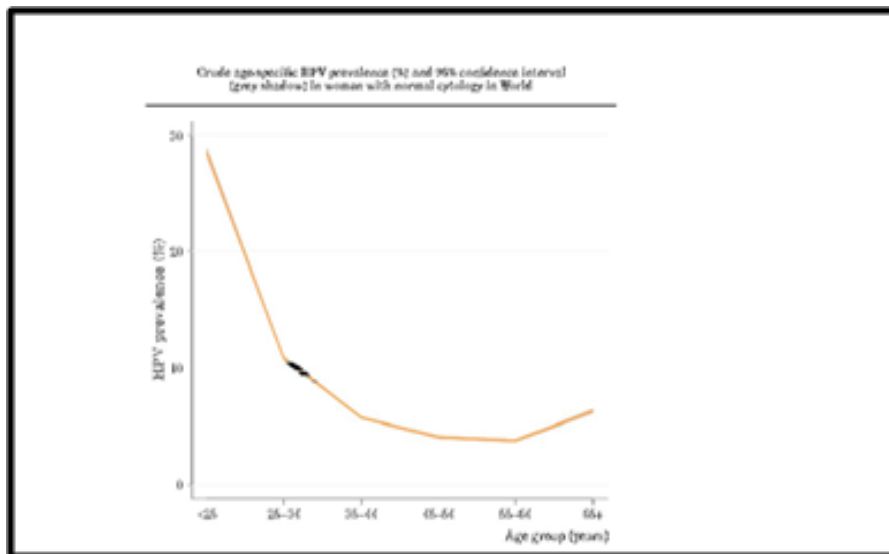


FIGURA 9. Prevalencia por edad de infección por HPV en mujeres con citología normal a nivel mundial. Adaptado de ICO Information Centre on Human Papilloma Virus (HPV) and Cancer.

El estudio AFRODITA es un amplio estudio transversal de base poblacional, diseñado para estimar el grado del uso de la citología cervical 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 (de San José et al., 2008). El estudio incluyó una muestra de 6852 mujeres entre 18 y 70 años representativa por comunidades autónomas, edad, nivel socio-económico y tamaño del municipio. Los resultados obtenidos fueron, entre otros, la tendencia a iniciar las relaciones sexuales más precozmente en las mujeres más jóvenes (media de edad se ha reducido 5,6 años), así como el de haberse multiplicado por cuatro el porcentaje de mujeres con 2-4 parejas sexuales.

Los datos disponibles sobre el VPH en los hombres sugieren que la prevalencia del VPH es menor en éstos (7,9%) que en las mujeres (17,9%) y que el epitelio del pene puede ser menos receptivo a los tipos del VPH de AR.

1.1.5. Duración de la infección por VPH

La duración de la infección es un marcador importante de la tasa de propagación de una ITS en la población, ya que las infecciones de mayor duración tienen un impacto potencialmente mayor. Las investigaciones longitudinales llevadas a cabo hasta la fecha han demostrado de forma consistente que la mayoría de las infecciones por el VPH detectadas mediante técnicas de hibridación molecular son transitorias, pasando a no ser detectables al cabo de 1-2 años (de San José et al., 2006). Se acepta actualmente que la **persistencia de la infección por VPH** es esencial para el desarrollo de lesiones cervicales premalignas y cáncer. Se entiende como persistente, una infección por VPH cuando es posible detectar el mismo tipo viral en dos o más ocasiones en un periodo de tiempo determinado. No existe consenso sobre cual debe ser la duración de este periodo, y hay quienes entienden que se requieren al menos de 6 a 12 meses (Ho et al., 1998) y otros prolongan hasta dos años (Richardson et al., 2003). Las infecciones por tipos de VPH de AR parecen persistir durante más tiempo que las producidas por tipos de BR. Entre los tipos de AR, existe cierta evidencia de que el VPH 16 puede persistir durante más tiempo que los otros tipos (Pirtea y col., 2016). Las infecciones persistentes de VPH carcinogénicos suponen un riesgo de desarrollar lesiones preneoplásicas, aunque no todas las infecciones progresan. En Estados Unidos, la edad media de detectar lesiones preneoplásicas es aproximadamente 10 años después del comienzo de las relaciones sexuales (Castle y col., 2009)

La infección por el VPH en los hombres también parece tener una duración corta y la mayoría de las infecciones no son detectables transcurrido 1 año, aunque

se dispone de cierta evidencia de una mayor persistencia de infecciones masculinas de alto riesgo frente a las de bajo riesgo.

1.1.6. Vías de infección del VPH

Los datos que hacen concluir que el coito (vaginal o anal) es la vía primaria de infección genital por VPH están respaldados por:

- a) La transmisión documentada de verrugas genitales entre parejas sexuales.
- b) La concordancia observada entre parejas sexuales en la detección de ADN.
- c) Las bajas tasas de infección genital por VPH observadas en mujeres vírgenes.
- d) Las asociaciones documentadas entre el número de parejas sexuales a lo largo de la vida y la prevalencia del VPH en las mujeres y en los hombres.
- e) El riesgo aumentado de adquisición de VPH mediante la práctica de relaciones sexuales con parejas nuevas y recientes.

Otras vías de transmisión genital distintas al coito son probables. El riesgo de infección oral y digital de tipos de VPH genitales es un hecho establecido, pero parece ser mínimo. La transmisión a partir de fómites, aunque ha sido detectada, no parece una importante vía de infección (Liu y col., 2016). De modo similar, la infección por VPH mediante transmisión perinatal o en niños también ocurre, ya que se ha detectado ADN de VPH y anticuerpos séricos en bebés y niños. Los datos disponibles sugieren que se trata de casos poco frecuentes y con escasas probabilidades de desencadenar una infección persistente.

1.1.7. Función de los cofactores en la carcinogénesis cervical

Aunque muchas mujeres contraen infecciones cervicales por el VPH, la mayoría de éstas no progresan a CCU. Existe consenso mundial en que “el HPV es la causa necesaria, pero no suficiente, del cáncer de cérvix y de sus lesiones precursoras...”, ya que se observan gran número de infecciones por HPV que se resuelven espontáneamente (Puig-Tintoré et al., 2011). Por lo tanto, es probable que otros cofactores intervengan en el proceso patológico. Los tres grupos de cofactores potenciales son:

- 1) Cofactores medioambientales o exógenos, incluyendo anticonceptivos hormonales (ACH), hábito tabáquico, paridad y coinfección con otras infecciones de transmisión sexual.
- 2) Cofactores virales, como infecciones por tipos específicos, coinfección con otros tipos del VPH, variantes del VPH, carga viral e integración viral.
- 3) Cofactores del huésped, incluyendo hormonas endógenas, factores genéticos y otros factores relacionados con la respuesta inmunitaria.

Con respecto a los cofactores medioambientales, el tabaco aumenta el riesgo de progresión de la infección por VPH entre 2-4 veces frente a no fumadores, sobre todo para la variante histológica del carcinoma escamoso, frente al adenocarcinoma (International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer et al., 2006; Syrjänen et al., 2007). El tabaco tiene un efecto carcinogénico directo y además produce alteración de la inmunidad local en el cuello uterino, contribuyendo a la persistencia de la infección.

El consumo de anticonceptivos orales durante 10 años se asoció a un aumento en aproximadamente el doble de riesgo de CCU, comparado con las mujeres que nunca habían usado anticonceptivos orales. Como hipótesis, se postula que los estrógenos y progestágenos pueden potenciar la expresión de genes del VPH en el cérvix a través de mecanismos mediados por receptores de progesterona y elementos de respuesta hormonal en el genoma viral (Brake et al., 2005; Spurgeon et al., 2014). Otros estudios, en cambio, defienden que los anticonceptivos no son un riesgo independiente para CIN o infecciones de VPH de alto riesgo; sino que los resultados observados se debían al comportamiento sexual diferente en este grupo de mujeres (Syrjänen et al., 2006).

La alta paridad se ha relacionado con un aumento de los casos de lesiones de alto grado CIN3 y cáncer de cérvix. Se ha postulado que el mantenimiento durante muchos años de la zona de transformación en el exocérvix, puede facilitar la exposición al VPH, aunque podrían también estar implicados factores hormonales que lo justifiquen (International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer et al., 2006).

Los agentes de transmisión sexual más estudiados y para los que se ha demostrado alguna asociación con el cáncer de cérvix son *Chlamydia trachomatis*, virus *Herpes simplex 2* (VHS-2) 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 (Castle et al., 2003). 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.

La evidencia disponible hasta la fecha a favor de una asociación entre dieta, estado nutricional y carcinogénesis por VPH todavía no es convincente, aunque hay cierto respaldo para la hipótesis de que los nutrientes antioxidantes podrían desempeñar un papel protector en la carcinogénesis cervical (Catle et al., 2003).

Con respecto a los cofactores virales, el 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 mayor riesgo de progresar (Castellsagué et al., 2002). Por otro lado, se ha observado que además de los genotipos 16 y 18, el genotipo 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 grado (Vinokurova et al., 2008). Las distintas variantes del VPH 16 se han relacionado con un mayor riesgo de cáncer, es posible que las mínimas variaciones en la secuencia de bases del ADN de estas variantes, permitan una evasión del sistema inmunológico del huésped y su progresión esté relacionada con polimorfismos genéticos (Grodzki et al., 2006). Se ha sugerido que una carga viral elevada indica una mayor posibilidad de 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, ya que la presencia de una baja carga viral no debe ser excluyente de una lesión de alto grado (Clavel et al., 2001).

En relación al estado inmunológico, se ha visto mayor riesgo de cánceres atribuibles al VPH tanto en población con VIH como en los pacientes trasplantados. En el caso de los VIH el riesgo es inversamente proporcional al recuento de CD4 y directamente proporcional a la carga viral de VIH (Grulich et al., 2007).

1.2. VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

1.2.1. Definición

Los VPH son pequeños virus de doble cadena de ADN encapsidado de escasamente 8.000 pares de bases que han convivido con la especie humana durante decenas de milenios, presentando pocos cambios en su composición genética. Se

conocen más de 200 genotipos. Se pueden clasificar según su tropismo cutáneo o mucoso. Los genotipos cutaneotrópicos se aíslan frecuentemente en verrugas cutáneas y plantares, en lesiones cutáneas en pacientes con epidermodisplasia verruciforme, en pacientes inmunodeprimidos postrasplante y en algunos tumores epiteliales. Los genotipos mucosotrópicos se identifican en lesiones neoplásicas no sólo de cuello de útero sino también de otras localizaciones (vagina, vulva, ano y pene). Ocasionalmente, estos tipos virales se aíslan en tejidos y lesiones malignas de la cavidad oral, orofaringe, laringe y esófago. Actualmente el VPH es considerado uno de los principales carcinógenos, incluido en el grupo 1, siguiendo los criterios de la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer. Diferentes tipos de VPH de alto riesgo se consideran factores etiológicos del 5% de todos los cánceres, 10% de los cánceres en mujeres y 16% de los cánceres en países con escasos recursos (de Flora and Bonanni et al., 2011) (tabla 1).

TABLA 1. Distribución en frecuencia de los cánceres atribuibles a VPH.

Modificada de Bonanni et al., 2015

TABLE 1. Proportion of cancers attributable to persistent human papilloma virus infection

| |
|--|
| 5% of cancers |
| 10% of cancers in women |
| 16% of cancers in women living in developing countries |

1.2.2. Clasificación de los VPH: tipos, subtipos y variantes

El Comité Internacional para Taxonomía de los Virus (*International Committee on Taxonomy of Viruses*, ICTV) ha reconocido y separado oficialmente a los miembros de la antigua familia *Papovaviridae* en dos familias distintas: *Papillomaviridae* y *Polyomaviridae* (de Villiers et al., 2004). Los VPH son un grupo de virus que infecta varios animales desde pájaros hasta mamíferos, incluyendo al hombre. La mayoría de los papilomavirus (y entre ellos el VPH) tienen especificidad celular, y sólo afectan a células del epitelio escamoso, cutáneas o mucosas, dando lugar sólo a lesiones proliferativas de origen epitelial. Sólo los papilomavirus bovinos 1 y 2 han demostrado tener capacidad para infectar células mesenquimales y de transmitirse entre varias especies. Hasta la fecha, existen más de 200 tipos de VPH, de los cuales al menos 150 tipos virales se han aislado y caracterizado mediante la

secuenciación de ADN de la región L1 del genoma viral, región bien conservada en todos los papilomavirus (Bernard, 2005). La clasificación actual del VPH se basa en las diferencias de las secuencias de nucleótidos dentro de las regiones codificadoras de las proteínas E6, E7 y L1 (de Villiers et al., 2004). Se define un nuevo tipo viral cuando la secuencia de la región L1 difiere más de un 10% del tipo conocido más similar. Las diferencias entre un 2% y un 10% definirían un subtipo, y las inferiores al 2%, una variante. Hasta la fecha se han descrito al menos tres aislamientos que cumplen la definición de subtipo: VPH 46, 55 y 64 (Moreno-Docón, 2014). Con respecto a las variantes, existe un número limitado para cada tipo de VPH y presentan una divergencia máxima cuando pertenecen a grupos étnicos diferentes. El mejor ejemplo para las variantes lo constituye el tipo VPH 16, del cual se conocen cuatro variantes ampliamente estudiadas en su distribución mundial y en su relación con la neoplasia cervical invasora: E (Europea), As (Asiática), AA (Asiática-Americana) y Af (Africana) (Villa y col., 2000). Se pueden agrupar en grandes géneros, se define un *género* como un conjunto de tipos de VPH que comparten al menos el 60% de la secuencia de la región L1. Dentro de un género hay varias *especies*, y en cada una de ellas se distinguen varios tipos de VPH, que guardan entre un 60 y 70% de similitud en la secuencia de L1. Dentro de cada especie, asimismo, existen varias subespecies, que incluyen tipos de VPH que comparten entre un 71% y un 91% de la secuencia de L1. En primer lugar el género Alfa-papilomavirus, de gran importancia clínica ya que agrupa a los VPHs que están asociados con lesiones mucosas, genitales y no genitales. Otros géneros son los Beta, Gamma y Mu papilomavirus que agrupan a los VPHs asociados a lesiones cutáneas, benignas o malignas (Pfister et al., 1978).

De todos ellos, aproximadamente 40 tipos han sido aislados de lesiones del tracto genital inferior, y entre 15-20, según diferentes estudios, han sido detectados en carcinomas.

Dentro del género *Alpha-papillomavirus* existen diferentes especies, destacamos la especie 7 que incluye el VPH 18 y la especie 9 que incluye el VPH 16.

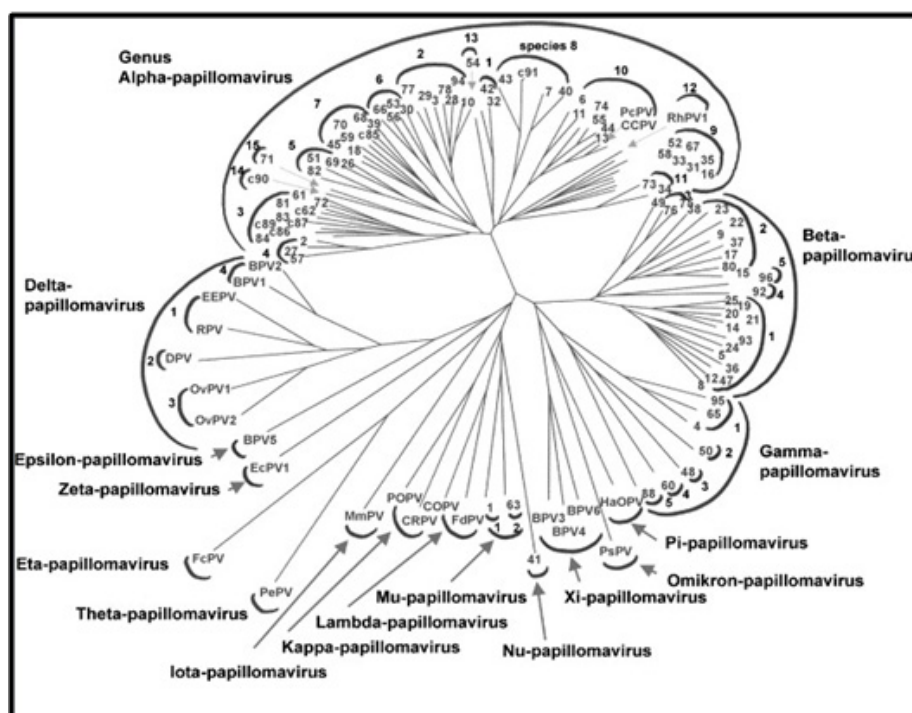


FIGURA 10. Clasificación filogenética del VPH. (Obtenida de Villiers et al., 2004).

1.2.3. Estructura Genómica del VPH

Todos los Papillomavirus comparten una organización genómica común y para completar su ciclo de vida productivo precisan infectar a células de un epitelio diferenciado. El virus del papiloma humano es un pequeño virus de ADN de doble cadena circular de 7.900 pares de bases. Las partículas virales son proteínicas y carecen de envoltura, de ahí que se conozcan como virus desnudos, siendo muy estables a condiciones adversas del medio externo y con capacidad de infección duradera. Tienen un diámetro de 55-60 nm, con una cápside viral que consta de 72 capsómeros ordenados de forma icosaédrica (Baker et al., 1991). Su estructura genómica está constituida por varios genes u ORF (*“Open Reading Frames”*) de dos tipos diferentes: hasta ocho genes de expresión temprana (E1-E8) (*“Early”*), cuya expresión se traduce en proteínas implicadas en la regulación y replicación viral; y dos genes de expresión tardía (L1, L2) (*“Late”*) cuya expresión genera las proteínas de la cápside. Una región de control, denominada LCR (*“Long Control Region”*) o URR (*“Upstream regulatory región”*) será la encargada de controlar la expresión E6 y E7 (Schwarz et al., 1985).

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 utiliza genes con alta variabilidad entre tipos como E6 y E7.

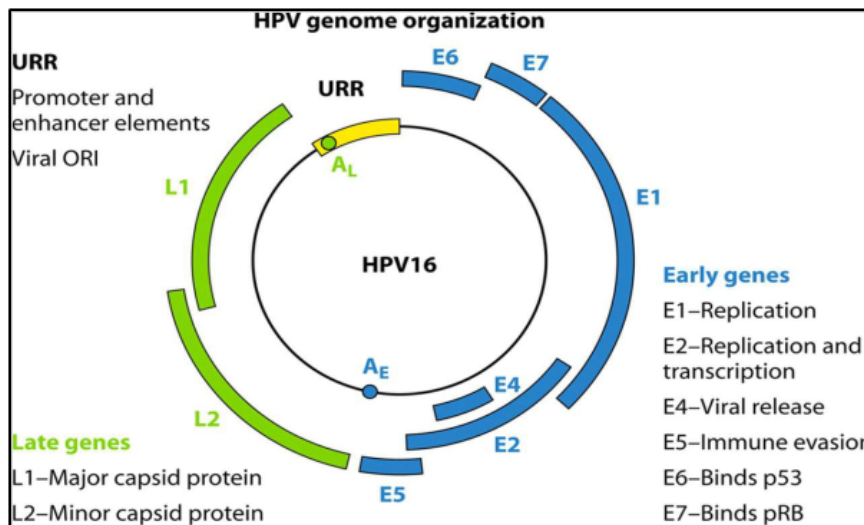


FIGURA 11. Organización genómica del VPH 16. Obtenida de “The Biology and Life-Cycle of Human Papillomaviruses”. Stanley et al., Vaccine 2012.

1.2.4. Ciclo de vida del VPH e interacción virus-huésped

En general, el desarrollo de una infección productiva (de alto o bajo riesgo) requiere que el virus acceda a la capa basal del epitelio, a través de la zona de transformación, una vez que la barrera epitelial ha sido comprometida (figura 12). En la mayoría de las ocasiones, estas partículas virales son eliminadas al ser arrastradas durante la descamación propia del epitelio estratificado, o bien por los agentes de la inmunidad inespecífica, como los macrófagos. En ambos casos, las partículas virales pasan desapercibidas a los agentes de la vigilancia inmune específica y no provocan efecto citopático ni respuesta inmunológica alguna (Patel et al., 2009). De este modo, un resultado positivo de ADN para VPH es una prueba sensible que indica la presencia o depósito de partículas virales en el epitelio, más que una verdadera infección. La presencia de RNAm puede ser un marcador más específico de infección (Plummer et al., 2016).

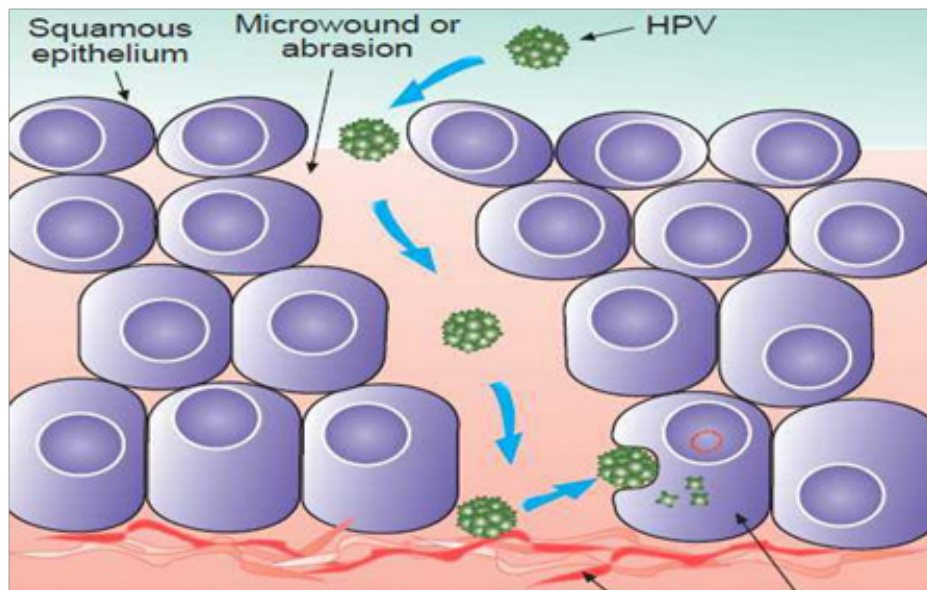


FIGURA 12. Internalización del HPV en la célula. Obtenida de <http://www.Inmunopaedia.org>

El VPH por ser un patógeno intracelular estricto, requiere internalizarse en la célula huésped para que se considere una infección verdadera. La internalización celular de las partículas virales se realiza a través de un receptor de superficie que permite la endocitosis de las mismas. Los anticuerpos neutralizantes, generados de forma natural (casi en la mitad de los casos) o por la vacuna, actúan sobre el complejo receptor-partícula viral uniéndose a una región específica que evita el cambio conformacional necesario para la internalización de la partícula y, con ello, impiden la entrada de esta partícula viral en el interior de la célula (Einstein et al., 2009). Una vez que la partícula se internaliza en la célula, todos los mecanismos de anticuerpos naturales o vacunales son inútiles para resolver la infección siendo, en individuos competentes, la inmunidad celular la encargada de eliminar al conjunto de células infectadas (Day et al., 2003; Volpers et al., 1995).

La infección de una célula madre es la clave para el desarrollo de una infección persistente. Los factores de crecimiento liberados en la fase de inflamación serían la clave para establecer un reservorio de la infección en el estrato basal (Cladel et al., 2008). En la capa parabasal ocurre la expresión génica, vinculada a la diferenciación, mientras que la amplificación del genoma viral tiene lugar en las capas intermedias del epitelio. El ensamblaje de las partículas virales y su liberación ocurre en la superficie del epitelio (Bernard et al., 2013) (figura 13).

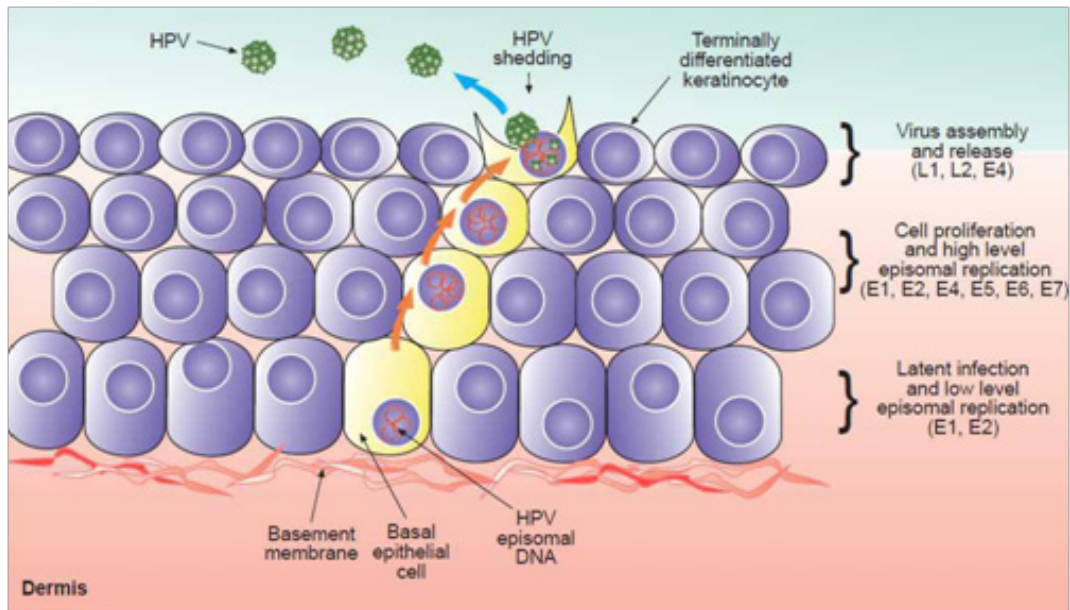


FIGURA 13. Replicación viral dentro de las células epiteliales.
Obtenida de www.Inmunopaedia.org

Aunque la amplificación del genoma requiere la combinación de múltiples productos de los genes virales E6, E7, E2 y E1, el mantenimiento de la replicación en la capa basal podría ser dependiente de factores de replicación de la célula huésped (Hoffmann et al., 2006; Egawa et al., 2012). A pesar de que todos estos pasos descritos del ciclo celular de los VPH son comunes tanto para los de alto como para los de bajo riesgo, los tipos de alto riesgo tienen una habilidad única de conducir a la célula a la proliferación en los estratos basal y parabasal (Isaacson Wechsler et al., 2012). De hecho, las lesiones de bajo grado, clasificadas como CIN 1, se pueden considerar a nivel microscópico como una infección con mayor carga viral y heterogeneidad que una infección simple, basada en la proliferación de células mediadas por VPH a través de los estratos basales del tejido infectado. En las lesiones de alto grado, CIN 2-3, los cambios en las proteínas E6 y E7 comprometen a la proliferación celular en estratos medios del epitelio. A nivel molecular, las consecuencias de la actividad y expresión de E6, E7 son el incremento de la división celular y la menor sensibilidad a la inhibición de la diferenciación celular normal programada (Doorbar et al., 2012).

En la mayoría de infecciones por VPH existe escasa liberación de citocinas pro-inflamatorias que activen a células presentadoras de antígenos como las

células de Langerhans. Este puede ser un mecanismo viral de evasión de la respuesta inmune tanto innata como adaptativa, responsable de la infección y enfermedad persistente por VPH. Las proteínas E6 y E7 del VPH 16 inhiben a la CCL20 (citokina ligando 20) (Sperling et al., 2012) que es necesaria para el reclutamiento de E-cadherina y células de Langerhans (Matthews et al., 2003), que posteriormente se unirían a los queratinocitos. Las células de Langerhans del epitelio escamoso son insensibles a la absorción de la cápside del VPH, que a diferencia de las células dendríticas estromales o dérmicas son activadas por la cápside viral y pueden iniciar una respuesta de células T como respuesta a la proteína viral L1 (Fausch et al., 2005).

Los queratinocitos son los centinelas inmunológicos que inician un estado antiviral (Stanley et al., 2012) en respuesta a los patógenos virales. Estas células expresan unos receptores de la respuesta inmune innata que se llaman PRRs (receptores que reconocen patrones moleculares asociados a patógenos). Estos receptores activados se unen mediante proteínas al ligando, reclutando proteín-kinasas e iniciando la cascada de transducción que activará los factores de transcripción celular. Estos factores entran en el núcleo y estimulan la transcripción de genes antivirales, generando interferones (IFNs) y citocinas inflamatorias. La unión del IFN a su receptor estimula la transcripción de cientos de genes que comprometen a las células vecinas a un estado antiviral. E6 y E7 de los VPH de AR 16, 18 y 31 interfieren directamente con los componentes de esta cascada de transcripción del IFN en múltiples puntos (Tummers y col., 2015).

1.2.5. Infecciones Productiva, Transformante y Latente

Una vez el virus ha logrado internarse en la célula que le ha de servir como huésped, utilizará la maquinaria biológica de ésta para desarrollar un ciclo vital que le permita su replicación y diseminación lo que origina una *infección productiva*. El tiempo de replicación, su cinética, su capacidad de interactuar con proteínas celulares y la posibilidad de destrucción de su huésped dependerán no sólo del tipo o subtipo de virus, sino de las interacciones con su entorno. La capacidad de los VPHs de bloquear la función de las proteínas p53 y Rb, ambas reguladoras del ciclo celular con una función supresora tumoral, requiere una permisividad inmunológica y, en muchos casos, complejos procesos de integración viral e interrelación con otras proteínas del ciclo celular (Oh et al., 2004) lo que

dará origen a una *infección transformante*. Este efecto de las proteínas E6 y E7 en el ciclo de vida del virus, incrementando la producción de viriones, al conducir a la célula a la reentrada del ciclo celular y al amplificar su genoma en las diferentes capas epiteliales, no es exclusivo de los VPH de AR, aunque en el caso de los de BR tienen un efecto más limitado en las vías desreguladoras que llevan al desarrollo de precáncer y cáncer (Cornall et al., 2013).

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. Por ello, podemos distinguir *infección latente*, que no mostrará sus efectos durante largos períodos de tiempo (Maglennon y col., 2012) e infección productiva con efectos citopáticos casi inmediatos. Además hay evidencia de reactivación en mujeres infectadas por el VIH y en mujeres mayores (Theiler et al., 2010; Rositch et al., 2012).

Estos hallazgos han hecho posible establecer un nuevo paradigma en la carcinogénesis cervical, que reemplaza al antiguo modelo patológico de progresión escalonada desde los cambios morfológicos de bajo grado hasta los de alto grado, que puede ser resumido en cuatro estadios detectables:

- Adquisición de VPH
- Persistencia de VPH (frente al Aclaramiento viral)
- Progresión de una infección persistente a lesión precancerosa
- Invasión local

1.2.6. Oncogénesis por VPH

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, inherentes al proceso de replicación y favorecidos por ciertos cofactores como el tabaco, se acumulen en el genoma celular. Cada cambio genético es detectado por un complejo sistema de vigilancia del ciclo celular y reparado a través de proteínas como p53 y Rb. Si la acumulación de errores es irreparable, la nueva célula recién formada, al no poder ser “reparada” es eliminada en un proceso activo de muerte celular programada denominado **apoptosis**. Esto ha conducido al desarrollo de una estrategia defensiva, por parte de los VPH-AR, encaminada a la evasión del

sistema inmune a través de una serie de mecanismos de inmunotolerancia que pueden facilitar la persistencia y predisponer a la transformación neoplásica.

Las regiones virales denominadas E6 y E7 de los VPH de AR son capaces de traducir sendas proteínas del mismo nombre que tienen capacidad de bloquear y degradar respectivamente a las proteínas del ciclo celular p53 y Rb (figura 14). Con estas proteínas degradadas la célula es incapaz de reparar los errores genéticos derivados de su replicación o de conducir a la célula a la muerte celular por apoptosis, dejando en consecuencia un estado celular de susceptibilidad a la transformación neoplásica.

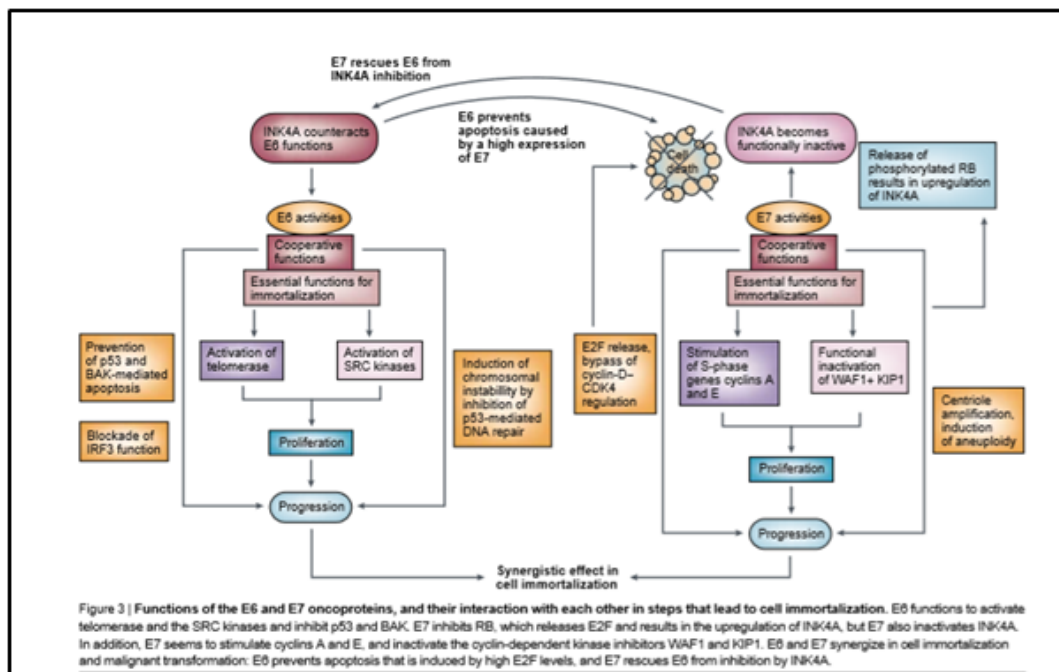


FIGURA 14. Inhibición de p53 y pRB por las oncoproteínas E6, E7 del VPH. Obtenida de zur Hausen, 2002.

Se ha demostrado que la expresión basal de E6 y E7 en los VPH es muy baja comparada con la proteína E2, gracias a la acción reguladora negativa de la región LCR que mantiene prácticamente silenciada la expresión de estos genes. En ciertos casos y generalmente tras ocurrir un proceso de integración viral en el genoma celular, se produce la disrupción de la región E2 y con ello la región reguladora LCR se altera e impide la represión de la transcripción de E6 y E7,

con la consiguiente sobreexpresión de sus proteínas y el riesgo de transformación neoplásica (Zehbe et al., 2009).

Aunque el proceso de integración viral es un evento favorecedor del proceso de transformación neoplásica, no es imprescindible, ya que el hecho de que existan elevadas cargas virales, puede ser suficiente para desencadenar el proceso de transformación neoplásica (Ziegert et al., 2003).

De este modo, bien por procesos de integración, o por la intervención de rutas biológicas diferentes, la pérdida de E2, represor de la transcripción viral, desregula la expresión de los genes VPH E6 /E7, siendo las proteínas E6 y E7 las únicas proteínas virales que se expresan constantemente en los carcinomas cervicales. 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, activaría 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 potentes modificadores de la mitosis, aumentando la probabilidad de adquirir mutaciones celulares adicionales que contribuyen a la progresión carcinogénica durante cada ciclo de la división celular (Scheffner y col. 1991). Las mutaciones mediadas por proteínas APOBEC (*APOLipoprotein B mRNA editing Enzyme Catalytic subunit*) pueden mejorar la diversidad genómica viral durante la infección productiva (Warren et al., 2015).

La expresión de las oncoproteínas E6 y E7 también se han implicado en la desregulación de otros eventos celulares asociados con la progresión maligna, como la angiogénesis, al activar factores de crecimiento celular como el VEGF y el FGF, y la transición del epitelio al estroma, asociada, esta última, con la producción de metástasis (McLaughlin-Drubin et al., 2009). En efecto, para que se llegue a un fenotipo de cáncer invasor es necesario que la célula vaya acumulando errores genéticos a lo largo del tiempo como la disrupción del ciclo de duplicación del centrosoma (Duensing et al., 2009) e inducción de la inestabilidad cromosómica (Vinokurova et al., 2008).

1.2.7. Relación con la patología oncológica

Según su riesgo oncogénico, los VPH se clasifican actualmente en tipos de elevada, moderada o baja y nula carcinogenicidad (tabla 2). Se debe tener en cuenta que ciertos tipos virales pueden aparecer en lesiones cancerosas como resultado de una coinfección y no ser los agentes etiológicos causales de la transformación tumoral.

En general, los tipos 16 y 18 tienen gran prevalencia e implicación en las patologías epiteliales de alto grado y en los carcinomas, mientras que los tipos 6 y 11 se aíslan en las patologías benignas de tipo condilomatoso y en tan sólo raras ocasiones se relacionan con patología de alto grado (Cornall et al., 2013).

TABLA 2. Clasificación carcinogénica de los tipos de VPH, basada en el grupo de trabajo de la Agencia Internacional para Investigación del Cáncer (IARC, 2009)

| Grupo | Tipo de VPH | Comentarios |
|---|--|---|
| Tipos de VPH Alfa | | |
| 1 | 16 | Tipo de VPH más potente, factor etiológico de varios cánceres conocidos |
| 1 | 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 | Evidencia suficiente para cáncer cervical |
| 2A | 68 | Evidencia limitada en humanos y fuerte evidencia para cáncer cervical |
| 2B | 26, 53, 66, 67, 70, 73, 82 | Evidencia limitada de cáncer cervical en humanos |
| 2B | 30, 34, 69, 85, 97 | Clasificado por agrupación filogenética a tipos de VPH con evidencia suficiente o limitada en humanos |
| 3 | 6, 11 | |
| Tipos de VPH Beta | | |
| 2B | 5, 8 | Evidencia limitada para cáncer de piel en pacientes con Epidermodisplasia verruciforme |
| 3 | Otros | |
| Grupo I: Elevada carcinogenicidad | | |
| Grupo II: Moderada o baja carcinogenicidad | | |
| Grupo III: No carcinogénico | | |

Las técnicas de Biología Molecular han permitido la secuenciación de grandes series de muestras infectadas, lo que ha revelado diferencias polimórficas en los genes de expresión temprana E6 y en la región de control LCR, que pueden ser las responsables de diferencias en cuanto a la progresión de las lesiones .

El conocimiento de la relación filogenética entre los diversos tipos de VPH de bajo y alto riesgo oncogénico permite explicar las distintas reacciones cruzadas observadas al emplear las vacunas frente al VPH para la prevención del cáncer cervical y sus lesiones precursoras, de gran importancia para ampliar su capacidad preventiva (figura 15).

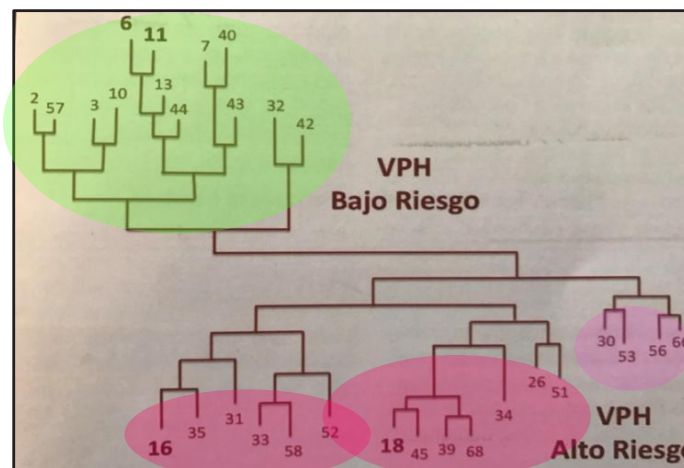


FIGURA 15. Árbol filogenético de tipos de VPH anogenitales, según riesgo (Modificado de "Analysis of genomic sequences of 95 papillomavirus types" Chan SY et al., J. Virol-1995)

1.2.8. Mecanismos de inmunotolerancia viral

Aunque la mayoría de las mujeres aclaran la infección en unos pocos meses, el virus puede inducir un cambio hacia la inmunotolerancia que puede facilitar la persistencia (Einstein et al., 2009). Algunos de los mecanismos del VPH propuestos para evadir la inmunovigilancia incluyen:

- Infectar sólo la capa basal del epitelio cervical.
- Limitar la expresión de proteínas virales hasta las últimas etapas de la diferenciación celular.
- Supresión, mediada por los virus, de proteínas proinflamatorias que activan linfocitos T citotóxicos que destruyen las células infectadas.

En mujeres con prevalencia para la infección VPH y CIN, parecen tener una reducción del número y cambios en la distribución fenotípica de las células presentadoras de antígenos (células de Langerhans). Escaso número de CD4 y linfocitos T citotóxicos (CD 8) contra los antígenos del VPH parecen estar asociados con la infección de VPH y la enfermedad cervical.

Estudios epidemiológicos en diversas poblaciones han demostrado que el antígeno leucocitario DRB1*1301 está asociado con una disminución del riesgo de precáncer y cáncer (Wang et al., 2003).

1.2.9. Resolución de la infección

A pesar de los esfuerzos del virus de evadir la defensas del huésped, la mayoría de infecciones detectables son controladas inmunológicamente o resueltas a través del tiempo. Aunque el aclaramiento de la mayoría de las infecciones puede lograrse por la inmunidad innata sola, la regresión de las lesiones establecidas requiere una respuesta efectiva de las células T, representada por células antígeno específicas como las células CD 8 citotóxicas y las CD 4 T *helper* 1 (Th 1) que producen IL-2 e IFN gamma que reconocen a las proteínas E6, E7 y E2 (Woo et al., 2008). Esta circulación de CD 8 y CD 4 T infiltran la lesión y superan el número de células reguladoras CD 25 que en caso de progresión de las lesiones dominan el infiltrado local (Visser et al., 2007). En contraposición, la regresión de lesiones CIN 1 asociadas a HPV 16 se correlacionan con la presencia intraepitelial de granzima B en células citotóxicas como CD 8 y CD 56 (Woo et al., 2007). A pesar de la intensa respuesta local, la respuesta sistémica antígeno-específica de células T es relativamente débil, incluso transitoria y difícil de medir (van der Burg et al., 2002). En casos de inmunodepresión se ha visto una reducción de los receptores de esta respuesta de células T (Trimble et al., 2010).

Curiosamente, el aclaramiento de una infección productiva VPH asociada a lesiones de bajo grado no va necesariamente ligada al completo aclaramiento del genoma de la capa epitelial basal. En su lugar, puede sobrevivir o reactivarse un estado latente, lo que se demuestra al observar que el mantenimiento del genoma viral requiere sólo la expresión de limitados genes virales (Maglennon et al., 2011). En esta situación, la inmunovigilancia llevada a cabo por las células localizadas en el estroma, debajo de la capa basal, previenen la reactivación, que se lleva a cabo por el incremento del número de copias virales. La

reactivación de VPH es observada frecuentemente después de un trasplante, por la inmunosupresión inducida por el VIH y posiblemente a mayor edad (Maglennon et al., 2014).

El microambiente de la mucosa del huésped juega un doble papel, como una barrera limitando la infección por VPH y en la modulación de la respuesta inmune a dicha infección. Sin embargo, este tema permanece aún desconocido. El medio de las secreciones mucosas, la respuesta hormonal y la microbiota son diferentes en el cérvix, vagina, vulva, pene, ano y orofaringe y son probablemente una influencia para que una infección se aclare o persista y progrese. El riesgo de una una infección por VPH y precáncer puede estar asociado con cambios en la microbiota vaginal (Brotman et al., 2014).

La proteína alfa-defensiva 5 humana (HD5), con propiedades antivirales, es pobremente expresada en la unión escamocolumnar del cérvix, pero es abundante en el epitelio de exocérvix, vagina y vulva (Hubert et al., 2014). HD5 bloquea la infección viral al impedir la escisión de la proteína L2, paso esencial en la entrada del virus, este hallazgo sugiere que la unión escamocolumnar sea vulnerable tanto a la infección por VPH como al desarrollo de una respuesta innata efectiva. Además las hormonas sexuales modulan la respuesta inmune innata y adaptativa en el tracto genital femenino y la protección inmunológica varía con la fase del ciclo (Wira et al, 2015). El estradiol suele promover la producción de interferones y de citokinas pro-inflamatorias, mientras que el receptor estrogénico puede mejorar la señalización o reducir la inmunidad innata y adaptativa (Kovats et al., 2015).

1.3. PREVENCIÓN PRIMARIA. VACUNAS

1.3.1. Concepto de Vacuna

Una vacuna es una preparación biológica que nos ofrece una respuesta inmune adquirida y específica hacia una determinada enfermedad. En general, pueden contener bacterias o virus vivos, atenuados, toxoides o partículas recombinantes mediante ingeniería genética. Se clasifican en dos grupos: vacunas profilácticas y terapéuticas. Los términos vacuna y vacunación derivan de *variola vaccinae* (viruela de la vaca), término utilizado por Edward Jenner, médico rural inglés, quien en 1796 desarrolló un método de inoculación de

partículas de la viruela bovina, forma menos virulenta, como protector de la viruela humana. En 1881, en su honor, Louis Pasteur propuso que el término vacuna se ampliara al resto. Los programas de vacunación durante la infancia han permitido el control y erradicación de múltiples enfermedades infecciosas que han supuesto verdaderas plagas en la historia con elevadas tasas de mortalidad. El VPH supone la infección de transmisión sexual más frecuente en el mundo y los adolescentes en su debut sexual son el grupo más expuesto a desarrollarla. Está científicamente aceptado que la infección persistente por VPH es un factor indispensable para el desarrollo del cáncer de cuello de útero (CCU) y de algunos otros anogenitales (Hoots et al., 2009) así como de orofaringe (Gillison et al., 2012) y laringe (Li X et al., 2013). Los genotipos del VPH 16 y 18 causan aproximadamente el 70% de los CCU y el 50% de lesiones precursoras (CIN 2-3) (Konno et al., 2008). Los genotipos 31, 33, 45, 52 y 58 serían responsables de un 19 % adicional (de San José et al., 2010).

1.3.2. Partículas semejantes a virus (*Virus Like Particle*, VLP)

La vacuna frente al VPH fue por primera vez desarrollada por la Universidad de Queensland en Australia. En 2006, la FDA aprobó la licencia de la primera vacuna VPH (Gardasil®).

Las vacunas profilácticas utilizan como inmunógenos los antígenos de la cápside viral que son capaces de desarrollar la respuesta humoral de anticuerpos neutralizantes. Mediante sistemas de recombinación genética se inserta un fragmento de ADN en células eucariotas, obteniendo proteínas del antígeno mayor de la cápside L1 que posee la capacidad intrínseca de autoensamblaje formándose partículas semejantes a virus o pseudovíricas denominadas VLP (*Virus Like Particle*) carentes de capacidad infectiva y oncogénica, al carecer de ADN viral, pero de enorme poder antigénico y capaces de promover una potente respuesta humoral (Stanley et al., 2012). Existen actualmente dos modelos de vacuna, bivalente (16/18) y tetravalente (6/11/16 y 18) ampliamente desarrollados y otro de reciente comercialización, nonavalente y que viene a ser un refuerzo de la carga viral de la tetravalente, dirigida a otros cinco genotipos (31/33/45/52 y 58).

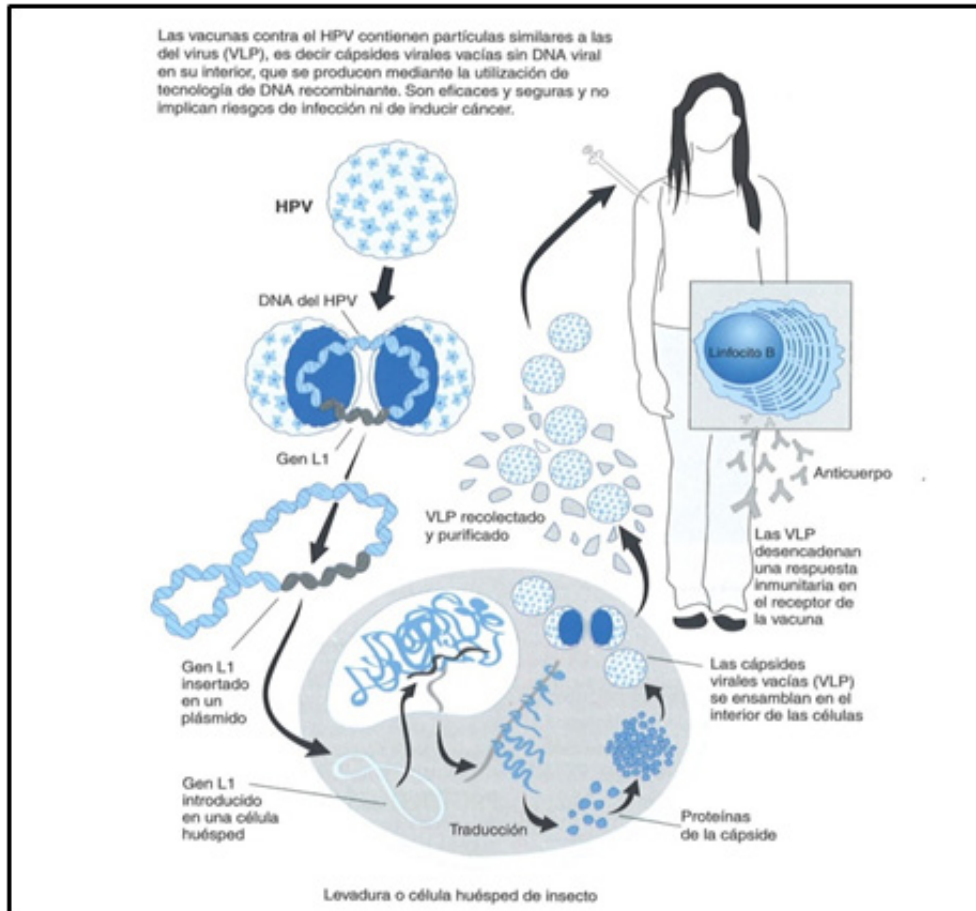


FIGURA 16. Modo de producción de las VLP de las vacunas frente a VPH. Obtenida de Tatti et al., 2017. Enfoque integral de las Patologías relacionadas con el VPH. Editorial Panamericana

❖ Vacuna VPH 16/18 o bivalente (*Cervarix*®)

Desarrollada por GlaxoSmithKline Biologicals, Rixensart, Belgium.2007. Utiliza un sistema de producción de ADN recombinante en Baculovirus con células Hi- 5 Rix4446 derivadas de *Trichoplusia ni* y que utiliza como adyuvante el AS04, que contiene MPL (lipopolisacárido detoxificado obtenido de la *Salmonella minnesota*), absorbido en hidróxido de aluminio hidratado e incluye VLPs de los tipos 16 (20 microgramos) y 18 (20 microgramos). Dicha vacuna se administra por vía intramuscular 0.5 ml en 3 dosis a los 0, 1 y 6 meses. Está recomendada para mujeres a partir de los 9 años para la prevención de lesiones genitales premalignas (cérvix, vulva y vagina) y cáncer de cervix. No está estudiada en hombres (*Cervarix*®, ficha técnica).



FIGURA 17. Cervarix®. Vacuna bivalente frente a VPH 16 y 18. Obtenida de http://www.beevoz.com/wp-content/uploads/2015/03/vacuna_virus_papiloma_humano.jpg

❖ Vacuna VPH 6/11/16/18 o tetravalente (*Gardasil®*)

Desarrollada por Merck & Co.Inc., West Point, Pennsylvania, USA. 2006. Se trata de una vacuna recombinante con VLPs altamente purificadas de la proteína mayor de la cápside L1, expresadas en células de levadura *Saccharomyces cerevisiae* CANADE 3C-5 (Cepa 1895) y con hidroxifosfato sulfato de aluminio amorfo como adyuvante. Contiene VLP de los tipos 6 (20 microgramos), 11 (40 microgramos), 16 (40 microgramo) y 18 (20 microgramos) y su administración es intramuscular 0.5 ml en tres dosis a los 0, 2 y 6 meses. Tiene su indicación de uso en mujeres y hombres a partir de los 9 años para la prevención de lesiones genitales premalignas (cérvix, vulva y vagina), lesiones premalignas anales y cánceres de cervix y ano. Además ha sido estudiada en hombres (Giuliano et al., 2011) y también previene los condilomas (*Gardasil®*, ficha técnica).



FIGURA 18. Gardasil®. Vacuna tetravalente frente a VPH 6,11,16 y 18. Obtenida de http://www.radioh2o.ca/wp-content/uploads/2012/03/2007-10-4-gardasil72634864-640x480_c.jpg

❖ Vacuna VPH 6/11/16/18/ 31/33/45/52/58 o nonavalente (*Gardasil 9*®)

Desarrollada por Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, NJ, Estados Unidos. 2015. Está formulada igual que la tetravalente con VLPs altamente purificadas de la proteína mayor de la cápside L1 y su adyuvante es el hidroxifosfato de aluminio amorfo. 0.5 ml de vacuna nonavalente contiene VLP de los tipos 6 (30 µg), 11 (40µg), 16 (60µg), 18 (40µg), 31 (20µg), 33 (20µg), 45 (20µg), 52 (20µg) y 58 (20µg) con 500 µg de hidroxifosfato de aluminio amorfo. Se administra como inyección intramuscular 0.5 ml en tres dosis a los 0, 2 y 6 meses (*Gardasil 9*®, ficha técnica).



FIGURA 19. Gardasil 9®. Vacuna nonavalente frente a VPH 6/11/16/18/ 31/33/45/52/58. Obtenida de <https://www.newswire.ca/news-releases/mercks-hpv-vaccine-gardasil9-now-available-in-canada-517470221.html>

Por tanto, son tres vacunas profilácticas diferentes en cuanto a su composición (bivalente, tetravalente o nonavalente), carga antigénica y el adyuvante utilizado. GlaxoSmithKline ha publicado que los títulos de anticuerpos anti-VLP en mujeres se doblan cuando las VLP se formulan con AS04 respecto a cuando lo hacen con hidróxido de aluminio (Giannini et al., 2006).

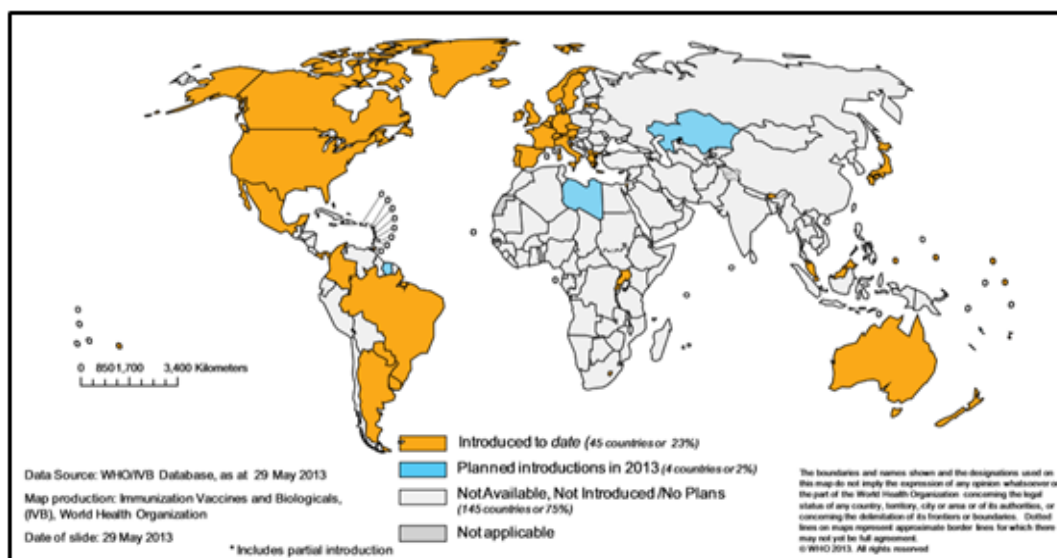


FIGURA 20. Países con programa nacional de inmunización contra el virus del papiloma y con introducciones previstas, 2013 (fuente: Organización Mundial de la salud)

1.3.3. Inmunogenicidad

El mecanismo de protección que confieren las vacunas es a través de anticuerpos policlonales neutralizantes contra la proteína L1 de la cápside viral (Breitburd et al., 1995, Suzich et al., 1995). En ensayos clínicos con las dos vacunas de la primera generación, un pico de anticuerpos era observado a las 4 semanas de la tercera dosis y disminuía en el primer año, entrando a un título meseta. La respuesta serológica tras la vacunación es mucho más fuerte (más de 40 veces) que la respuesta después de la infección natural que no asegura protección frente a nuevas infecciones. El motivo de estas diferencias puede ser debido a una mejor activación selectiva en los órganos linfoides por parte de los antígenos vacunales, por vía parenteral, que a través de infecciones mucosas y posiblemente por el uso de adyuvantes en las vacunas. Las células plasmáticas producen continuamente anticuerpos Ig G que son los responsables de la respuesta VPH específica a largo plazo (Mamani-Matsuda et al., 2008, Ahuja et al., 2008). Las células B memoria que se obtienen tras la primera dosis de la vacuna requieren al menos 4-6 meses para madurar y diferenciarse a células B de alta afinidad. Esto implica que en los programas de vacunación debe haber al menos un intervalo de 4 meses entre la primera y la última dosis para asegurar un buen nivel de anticuerpos, que generalmente aparecen entre 6-30 meses después de la última dosis vacunal. Todas

las formulaciones ensayadas muestran una elevada inmunogenicidad, con tasas de seroconversión próximas al 100%. Sesenta meses después de la vacunación casi el 100% de las mujeres vacunadas se mantenían seropositivas para el VPH 16. Respecto al VPH 18, mientras que el 100% de las vacunadas con bivalente se mantenían seropositivas, la seropositividad para las vacunadas con tetravalente descendía al 61-77% a los 44 meses, esto no se ha relacionado con pérdida de eficacia (de Vincenzo et al., 2014). En general, la vacuna bivalente indujo títulos de anticuerpos neutralizantes superiores a los de la tetravalente tanto para VPH 16 como 18 (Romanowski, 2011).

La presencia de anticuerpos neutralizantes en el tracto genital inferior es crítica para la prevención de las infecciones VPH. Estos anticuerpos migran desde el suero hasta la mucosa cérvico-vaginal mediante trasudación o exudación, obteniéndose así niveles de anticuerpos suficientemente elevados en el cérvix para prevenir la infección, en el lugar de entrada de la misma (Schwartz et al., 2008).

1.3.4. Eficacia

Se han llevado a cabo diversos estudios multicéntricos de fase II y de fase III para analizar la eficacia de las vacunas VPH, destacando los estudios FUTURE I, FUTURE II, FUTURE III para la vacuna tetravalente, y los estudios PATRICIA (Lehtinen et al., 2012), Costa Rica Vaccine Trial (CVT) (Herrero et al., 2008) y VIVIANE para la vacuna bivalente. Todos estos estudios son ensayos clínicos aleatorizados, doble ciego, con uso de placebo en el grupo control, diseñados para hacer un seguimiento de las mujeres durante al menos 4 años y generalmente realizados en mujeres jóvenes (15-25 años), excepto los ensayos VIVIANE y FUTURE III, que incluyeron a mujeres de más de 25 años y de 24 a 45 años, respectivamente.

En estos estudios, la variable de eficacia utilizada fue la neoplasia intraepitelial cervical (CIN) grado 2 ó más grave (CIN2+). El CIN2+ se considera el verdadero precursor del carcinoma invasivo de útero y fue recomendado por la FDA como la variable clínica sustituta. Sin embargo, basándose en las últimas evidencias científicas, la International Agency for Research on Cancer (IARC) recomienda que para los nuevos estudios se use la infección persistente por VPH durante 6 meses o más como criterio de valoración para evaluar la eficacia de la vacuna. Los resultados de los ensayos clínicos se expresan según el tipo de población estudiada:

a) análisis por protocolo (ATP): solo incluyen a los participantes que cumplen todos los criterios del protocolo del ensayo clínico y se considera que son los que mejor evalúan la eficacia de la vacuna cuando se administra en condiciones idóneas; b) análisis por intención de tratar (ITT): incluyen a todos los participantes en el ensayo que hayan recibido al menos una dosis de la vacuna independientemente de la existencia de infección prevalente o lesiones asociadas a los tipos vacunales y pueden considerarse una aproximación de la efectividad de la intervención en la población general, y c) análisis por intención de tratar modificada (MITT-naïve): ocupan un terreno intermedio entre los 2 anteriores y sirven para estimar la efectividad real en distintos subgrupos de la población. En estos análisis no se tiene en cuenta el cumplimiento del protocolo, pero se incluyen solamente a las mujeres naïve, es decir, las que son negativas para VPH al inicio del estudio.

1.3.4.1. Eficacia profiláctica frente a los tipos del VPH incluidos en la vacuna en mujeres jóvenes (16-26 años)

❖ Vacuna tetravalente

Los análisis finales de los estudios FUTURE I/II demostraron una eficacia del 100% de la vacuna tetravalente frente a CIN3 relacionado con los tipos de VPH vacunales (VPH 6, 11, 16 y 18) en mujeres susceptibles o naïve al genotipo relevante (MITT-naïve) (Muñoz et al., 2010). La eficacia frente a CIN3 fue menor en el análisis por intención de tratar (ITT), del 45,1%. Se observó una eficacia superior al 95% y al 75% para VIN2/3 y/o VaIN2/3+ y verrugas genitales relacionadas con los tipos vacunales en las cohortes naïve y por intención de tratar, respectivamente.

❖ Vacuna bivalente

El ensayo PATRICIA muestra una eficacia frente a CIN 3+ del 100% en el análisis de la cohorte naïve para los tipos de VPH relevantes al inicio de la vacunación (MITT-naïve) (Lehtinen et al., 2012). Cabe destacar la elevada eficacia, del 93,2% frente a CIN3+, en el análisis de las mujeres naïve, independientemente del tipo de VPH. Esta eficacia frente a CIN3+ disminuyó hasta el 45,7% si se incluían las mujeres con infección prevalente al inicio del estudio (análisis ITT). La vacuna también ha demostrado una eficacia frente VIN1+ y VaIN1+ relacionados con VPH 16 y 18 del 75,1% en el análisis por protocolo y del 73,1% en el análisis por intención de tratar (Garland et al., 2011).

1.3.4.2. Protección cruzada: eficacia profiláctica frente a tipos de VPH no vacunales

La protección cruzada es de especial importancia, puesto que los tipos de VPH no incluidos en estas vacunas se asocian aproximadamente con el 30% de los cánceres cervicales a nivel mundial (Castellsagué et al., 2011).

En los estudios FUTURE I/II y PATRICIA, realizados en mujeres jóvenes, la vacuna bivalente demostró eficacia significativa frente a VPH 31, 33, 45 y 52 (Wheeler et al., 2012) y la vacuna tetravalente frente al VPH 31 (Brown et al., 2009). En las mujeres adultas (≥ 26 años) la vacuna bivalente demostró eficacia significativa frente a infección persistente a los 6 meses por los VPH 31 y 45 en el análisis por protocolo. Cuando se tenía en cuenta la cohorte ITT, se observó protección significativa frente al VPH 45 pero no frente al VPH 31 (Skinner et al., 2014). No se han presentado resultados de protección cruzada de la vacuna tetravalente para mujeres adultas (Bruni et al., 2015).

Merece la pena destacar el efecto inesperado observado para la vacuna bivalente y recientemente descrito en los participantes en el estudio PATRICIA frente a infecciones persistentes por los tipos responsables de las verrugas genitales. Se observó a los 6 meses posteriores a la administración de la vacuna una eficacia del 34,5% contra los VPH 6/11, y del 49,5% para el VPH 74 (resultados estadísticamente significativos). Estos resultados parecen confirmarse en un estudio en el Reino Unido, donde a partir de la implantación de la vacuna bivalente (entre 2008 y 2011) se observó una disminución en la incidencia de verrugas genitales en los grupos de edad en los que se había introducido la vacuna (Bonanni y col., 2015).

1.3.4.3. Eficacia en mujeres con exposición previa a los tipos vacunales

Los estudios realizados en estas mujeres muestran que la infección prevalente por algún tipo de VPH no impide la inducción de protección por parte de la vacuna frente a la infección incidente por otro tipo de VPH (Olsson et al., 2009).

1.3.4.4. Eficacia terapéutica

La actividad terapéutica de la vacuna bivalente, que parecía observarse en modelos animales, se examinó en un análisis secundario del ensayo costarricense (CVT) en el que no se detectaron diferencias significativas en la tasa de remisión de infecciones prevalentes por VPH 16 ó 18 ni por otros tipos de VPH en el grupo

que recibió la vacuna (Hildesheim et al., 2007; 2014). La actividad terapéutica de la vacuna tetravalente se analizó en el ensayo FUTURE II, no detectándose diferencias significativas en la tasa de progresión de infecciones VPH16/18 a CIN 2+. Por lo tanto, las vacunas VLP parecen carecer de un efecto significativo sobre las tasas de regresión o progresión de infecciones cervicales prevalentes en el momento de la vacunación.

1.3.4.5. Eficacia en mujeres adultas de 24 a 45 años

Se han publicado los resultados de un ensayo multicéntrico con la vacuna tetravalente (FUTURE III) en 3.819 mujeres con edades comprendidas entre los 24 y los 45 años de edad (Castellsagué et al., 2011) y de otro con la vacuna bivalente (VIVIANE) en 5.752 mujeres mayores de 25 años (Skinner et al., 2014). Los resultados confirman que las mujeres adultas sin evidencia previa de exposición a los tipos vacunales se podían beneficiar de la vacunación: HPV-FASTER (Bosch et al., 2016). En el análisis por protocolo, la eficacia de la vacuna tetravalente para la combinación de infección persistente, CIN y/o lesiones genitales externas relacionados con los tipos de VPH vacunales fue del 88,7%, y la eficacia de la vacuna bivalente para la combinación de infección persistente y/o CIN fue del 81,1%. El perfil de seguridad de ambas vacunas fue similar al de las mujeres más jóvenes, con un ligero aumento del número de efectos adversos locales en el lugar de la inyección en las vacunadas en comparación con los controles.

1.3.4.6. Eficacia en hombres

Los resultados de este estudio han permitido la autorización de la vacuna tetravalente en hombres para la prevención de lesiones genitales externas en diversos países, y en algunos de ellos, como Estados Unidos, Canadá, Austria o Australia, incluso se ha incluido en el calendario de vacunación para adolescentes. En hombres que declararon mantener relaciones sexuales con otros hombres, la vacuna tetravalente demostró una eficacia del 77,5% para prevenir neoplasia intraepitelial anal (AIN) debida a los tipos vacunales en la cohorte ATP y disminuyó al 50,3% en la cohorte ITT (Palefsky JM et al., 2011). La menor eficacia en la cohorte ITT refuerza la conveniencia de vacunar antes del inicio de la actividad sexual.

1.3.4.7. Estudios de eficacia de la vacuna nonavalente

Recientemente se han publicado los resultados de un estudio de fase IIB y III de eficacia, seguridad e inmunogenicidad, en el que se comparaban las vacunas nonavalente y tetravalente en 14.215 mujeres de 16 a 26 años (Joura EA et al, 2015). La vacuna nonavalente demostró una alta eficacia frente a infección y lesiones relacionadas con los VPH 31, 33, 45, 52 y 58, no incluidos en el resto de vacunas VPH. Además demostró que la respuesta frente a VPH 6, 11, 16 y 18 era equivalente a la vacuna tetravalente. En las mujeres naïve la vacuna nonavalente incrementó la eficacia un 42,5% (7,9-65,9) respecto a la vacuna tetravalente para CIN2+, VIN2+ y VaIN2+ ocasionados por cualquier tipo de VPH (incluidos o no en la vacuna).

La respuesta de anticuerpos frente a VPH 6, 11, 16 y 18 demostró ser no inferior a la generada por la vacuna tetravalente en el análisis de la cohorte ATP. Los efectos adversos locales fueron más frecuentes en el grupo de la vacuna nonavalente que en el de la tetravalente (90,7% vs. 84,9%). Los síntomas más frecuentes fueron dolor, inflamación, eritema y prurito, y probablemente están relacionados con la mayor cantidad de adyuvante contenido en la vacuna. La aparición de efectos adversos sistémicos fue similar en ambos grupos y no fue causa de abandono del estudio.

TABLA 3. Resumen de los resultados principales de los ensayos de las vacunas

| Población estudiada | Resultado | Vacuna tetravalente | Vacuna bivalente | Vacuna nonavalente |
|-------------------------------|---|---------------------|------------------|--------------------|
| Mujeres jóvenes (16-26 años) | Eficacia frente a infección | ✓ | ✓ | ✓ |
| | Eficacia frente a CIN2+ | ✓ | ✓ | ✓ |
| | Eficacia frente a CIN3 | ✓ | ✓ | ✓ ^a |
| | Eficacia frente a VIN/VaIN 2/3 | ✓ | ✓ ^a | ? |
| | Eficacia frente a verrugas genitales | ✓ | NA | ✓ |
| | Eficacia frente a infección anal | ? | ✓ | ? |
| | Eficacia frente a infección oral | ? | ✓ | ? |
| | Protección cruzada parcial frente a infección | ✓ | ✓ | ? |
| | Protección cruzada parcial frente a CIN2+ | ✓ | ✓ | ? |
| | Eficacia terapéutica | x | x | x |
| Seguridad | +++ | +++ | +++ | |
| Mujeres adultas (25-45 años) | Eficacia frente a infección | ✓ | ✓ ^a | ? |
| | Eficacia frente a CIN2+ | ✓ | ? | ? |
| | Inmunogenicidad | ✓ | ✓ | ? |
| | Protección cruzada parcial frente a infección | ? | ✓ | ? |
| | Seguridad | +++ | +++ | ? |
| Hombres jóvenes (16-26 años) | Eficacia frente a infección | ✓ | ? | ? |
| | Eficacia frente a verrugas genitales | ✓ | NA | ? |
| | Eficacia frente a infección anal | ✓ | ? | ? |
| | Eficacia frente a AIN2+ | ✓ | ? | ? |
| | Seguridad | +++ | +++ | ? |
| Pre-adolescentes (10-14 años) | Inmunogenicidad | ✓ | ✓ | ? |
| | Seguridad | +++ | +++ | ? |

/: demostrada; ?: no demostrada; +++: muy alta; x: ninguna; NA: no aplica porque no era objetivo.
 AIN: neoplasia intraepitelial anal; CIN: neoplasia intraepitelial cervical; VaIN: neoplasia intraepitelial vaginal; VIN: neoplasia intraepitelial vulvar; VPH: virus del papiloma humano.
^a Comunicación a congresos, pero todavía sin publicar.

1.3.5. Recomendaciones de la WHO (Organización Mundial de la Salud)

La WHO reconoce la importancia del cáncer cervical y otras enfermedades relacionadas con el VPH y recomienda que la vacunación contra el VPH debe estar incluida en los programas nacionales de salud (WHO, 2014). Ambas vacunas, bivalente y tetravalente tienen unos excelentes perfiles de seguridad y eficacia. La estrategia de implementación de las vacunas debería estar incluida en una campaña de educación sanitaria acerca del conocimiento de las conductas sexuales de riesgo para la adquisición de la infección del VPH, programas de screening, diagnóstico y tratamiento de las lesiones precancerosas y del cáncer. En efecto, la vacunación VPH es una herramienta de prevención primaria, pero no evita la necesidad de continuar realizando screening, ya que existirían tipos de VPH- AR fuera de la cobertura de las vacunas

1.3.5.1. Grupos de población diana para la vacunación

Para la prevención del cáncer de cérvix se considera prioritario el grupo de niñas de 9-13 años, antes del comienzo de las relaciones sexuales. Un segundo grupo de recomendación pueden ser las adolescentes mayores y mujeres jóvenes hasta los 26 años, siempre y cuando sea factible y costo-efectivo sin desviar recursos de la población prioritaria y de los programas de screening del cáncer cervical. La vacunación de hombres no es recomendada como prioridad, ya que el objetivo primordial lo constituye la reducción del cáncer de cérvix.

1.3.5.2. Programa especial de 2 dosis

Para ambas vacunas, bivalente (Romanowski et al., 2011) y tetravalente (Dobson et al., 2013) se recomiendan 2 dosis con un intervalo de 6 meses en mujeres menores de 15 años. En mayores de 15 años, pacientes inmunodeprimidos o infectados por VIH se recomiendan 3 dosis.

Se recomienda un intervalo entre dosis no mayor de 12-15 meses. Si el intervalo entre dosis es menor de 5 meses, se recomienda una tercera dosis al menos 6 meses después de la primera dosis.

1.3.5.3. Coadministración con otras vacunas

Ambas vacunas pueden ser administradas con otras vacunas, usando diferentes jeringuillas y sitios de administración.

1.3.5.4. Intercambio de tipo de vacuna VPH

Las vacunas bivalente y tetravalente tienen diferentes características, componentes e indicaciones, por tanto debería administrarse el mismo tipo de vacuna en todas sus dosis. Sin embargo, si el tipo utilizado en la primera dosis es desconocida o no disponible, cualquiera de las dos vacunas podría ser administrada para completar el calendario recomendado.

1.3.5.5. Determinación VPH previo a la vacunación

No se considera necesario.

1.3.5.6. Seguridad

Los efectos adversos secundarios a la vacunación VPH son generalmente de poca gravedad y corta duración. Las vacunas se pueden administrar en personas inmunocomprometidas e infectadas por VIH. Los datos de seguridad en el embarazo son limitados, por tanto, se debería evitar la vacunación en mujeres embarazadas. Si la mujer quedara gestante durante el período de vacunación, las dosis pendientes se postpondrían hasta el final del embarazo. La lactancia no es una contraindicación para la vacunación.

Quedan cuestiones pendientes, como si la primovacunación se mantendrá de por vida o si serán necesarias dosis de recuerdo. De momento, para la vacuna bivalente, la inmunogenicidad y eficacia de las 3 dosis contra la infección y las lesiones cervicales asociadas con VPH 16/18 han sido demostradas hasta 8.4 y 9.4 años respectivamente (Naud et al., 2014). Para la vacuna tetravalente, después de 3 dosis, los datos de inmunogenicidad mostraron que los títulos de anticuerpos para el VPH 18 disminuyeron a partir de los 4 años, mientras la eficacia contra la infección y las lesiones asociadas con VPH 16/18 persistía hasta los 8 años (Ferris et al., 2014; Romanowski , 2011).

1.3.6. Recomendaciones de Vacunación frente al cáncer de cérvix en mujeres fuera de los programas de vacunación sistemática, con o sin infección por VPH o lesión cervical (Torné et al., 2012)

1.3.6.1. La mayoría de mujeres sexualmente activas, fuera de los programas de vacunación sistemática, puede beneficiarse de la vacunación por:

- A. Riesgo significativo de adquirir nuevas infecciones VPH y de mayor persistencia viral que aumenta con la edad.
- B. Eficacia vacunal preventiva muy alta (> 90%).
- C. Buen perfil de seguridad, comparable al de las cohortes de vacunación sistemática.

1.3.6.2. Las mujeres adultas sin infección previa o actual por los tipos vacunales (población naïve) tienen el máximo beneficio vacunal.

1.3.6.3. Las mujeres adultas con infección por alguno de los tipos vacunales obtienen alta protección frente al resto de tipos.

- A. La vacuna no tiene efecto terapéutico: no modifica el curso de las infecciones existentes.
- B. La coinfección por los tipos vacunales (16 y 18) en mujeres mayores es extremadamente rara (< 1%).

1.3.6.4. Las mujeres con infecciones por VPH previas y aclaramiento viral (ADN negativos) pueden protegerse de la reinfección y reactivación.

1.3.6.5. Hay ciertas evidencias de que la vacunación en mujeres sometidas a tratamiento de lesiones cervicales reduce el riesgo de segundas lesiones

- A. Las mujeres con lesiones cervicales tratadas constituyen un grupo especialmente susceptible de desarrollar nuevas lesiones e incluso cáncer cervical.
- B. Los beneficios esperados de la vacunación en mujeres tratadas son:
 - Lesión producida por tipos no vacunales: protección de nuevas infecciones por tipos vacunales.

- Lesión producida por alguno de los tipos vacunales: protección frente al otro tipo y parcialmente frente a otros tipos no vacunales (protección cruzada).
- Lesión producida por tipos vacunales y aclaramiento postatamiento: protección frente a la reinfección/reactivación por el mismo tipo vacunal.
- Momento de administración de la vacuna en mujeres diagnosticadas/tratadas de lesiones cervicales:
 - ✓ No se dispone de datos específicos sobre este aspecto.
 - ✓ Con criterio vacunológico parece recomendable administrar la vacuna lo antes posible.
 - ✓ No hay indicios de que la vacunación precoz pueda perjudicar la eficacia y seguridad de la vacuna ni el resultado del tratamiento.

1.4. PREVENCIÓN SECUNDARIA

1.4.1. Citología Cervical

La citología es el estudio de células individuales que tiene el propósito de detectar anomalías morfológicas de las células examinadas que provienen de la descamación de superficies epiteliales, de líquidos corporales o se obtienen por aspiración con aguja (Koss et al., 1992).

La citología cervical o cérvico-vaginal, estudia las células exfoliadas de la unión escamo columnar del cuello uterino y sigue siendo actualmente la prueba fundamental en los programas de cribado de cáncer de cuello uterino.

La citología ginecológica comienza, en sentido estricto con George N. Papanicolaou, médico griego nacido en 1883 en Kymi, ciudad costera de la isla Euboea. Papanicolaou dedicó cuarenta y cinco años al estudio de la citología exfoliativa; desde 1923 la propuso como un método para diagnóstico de cáncer uterino, sin embargo no fue aceptado para tal fin en sus comienzos. Papanicolaou continuó estudiando y mejorando las técnicas de extendido vaginal y cervical así como técnicas de conservación y tinción de las células. En 1942 publicó la técnica de tinción que conocemos actualmente como Técnica de Papanicolaou; finalmente en 1943, junto al ginecólogo Traut, publicó su trabajo: "Diagnóstico de cáncer uterino mediante frotis vaginal", trabajo que significó el reconocimiento internacional de la citología ginecológica.

Se ha podido afirmar que la citología es la mejor técnica jamás utilizada en medicina preventiva; se trata de un test sencillo y económico. En los últimos 50 años el cribado citológico se ha mostrado excelente al reducir la morbimortalidad por cáncer cervical en un 75-80%, en los países donde se ha aplicado una estrategia poblacional con cobertura suficiente y continuada (IARC, 2005). El éxito de la citología se ha basado en la repetición con un intervalo inferior a tres años y en evidencias como que la mayoría de lesiones intraepiteliales de alto grado (HSIL) se desarrollan entre 5-10 años después de la infección por VPH y el tiempo medio entre HSIL y cáncer invasivo puede ser de 10 años o más (Alameda Quitllet et al., 2014). Sin embargo, la prueba de confirmación diagnóstica para cualquier lesión cervical sigue siendo el estudio inmunohistológico o biopsia.

Además de la detección de lesiones premalignas y malignas, la citología cérvico-vaginal proporciona información sobre el estado hormonal de la paciente y presencia de microorganismos.

Las limitación fundamental de la citología ginecológica son la baja sensibilidad con una media de 53% (Cuzick et al., 2006) que obliga a la repetición con intervalos que pueden hacerla ineficiente. La sensibilidad depende directamente de la calidad de la muestra obtenida en la unidad de toma y de la lectura monótona de los frotis y su interpretación subjetiva en el laboratorio, que explican la baja reproducibilidad de los resultados inter-laboratorio.

La Tinción de Papanicolau es un método de tinción policrómico con el que se busca obtener contraste entre el núcleo y el citoplasma de las células. Es una técnica que consiste en introducir los cristales, de una manera secuencial y por tiempo predeterminado, en diferentes soluciones que incluyen: agua, alcohol etílico a diferentes concentraciones, colorantes, acetona y xilol con el propósito de hidratar las células y prepararlas para la tinción, colorear los componentes celulares y facilitar la observación al microscopio. Una vez procesadas las láminas se procede a su observación al microscopio óptico con el fin de determinar si la forma, tamaño, patrón de tinción nuclear y celular son o no normales. Por último, se realiza la interpretación de los hallazgos.

Hay dos métodos para preparar una muestra para citología cervical: el frotis de Pap convencional y la preparación en capa fina o monocapa en la citología en medio líquido.

Para ambos métodos, las células se obtienen a partir de la superficie externa del cuello del útero (ectocérvix) y el canal endocervical (endocérvix) para evaluar la zona de transformación (unión escamo-columnar), el área de mayor riesgo de neoplasia.

Para la citología convencional, la recogida de la muestra del ectocérvix debe realizarse con una espátula de Ayre o similar, raspando alrededor del orificio externo del cuello del útero, se transfiere al portaobjetos por extensión, deslizando suavemente la espátula una sola vez y en un solo sentido, evitando los movimientos de vaivén ya que pueden alterar los elementos celulares. La muestra del endocérvix se recogerá después de la del ectocérvix, mediante un brush, cepillo endocervical, insertándolo en el orificio cervical y realizando un giro completo, posteriormente se transfiere a la mitad libre del portaobjetos mediante un movimiento de rotación del cepillo. Después se procede a la fijación inmediata de la muestra con alcohol de 96% o, en su defecto, con nebulizadores (Citospray). Se situará el nebulizador a una distancia de 15-25 cms. del portaobjetos.

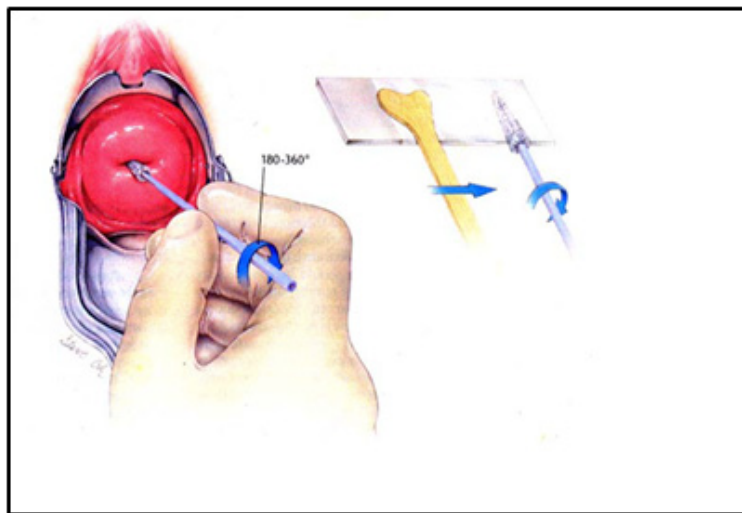


FIGURA 21. Método de realización de citología convencional con doble toma sobre portaobjetos. Obtenida de <http://drbenjamingloria.com/img/images/thumbs/1286292645.jpg>

En el caso de la citología líquida, se utiliza un cepillo tipo escobillón con cerdas de distinta longitud para una toma única endo-exocervical, que se introduce en el orificio cervical externo y se gira tres vueltas en la misma dirección. Posteriormente se extrae el cepillo del extremo de la varita para introducirlo en un frasco con

una solución alcohólica. Es recomendable que las muestras se envíen al servicio de Anatomía Patológica el mismo día de la recogida. No refrigerar. La citología en medio líquido consigue disminuir los casos inadecuados para diagnóstico, al eliminar artefactos existentes en los frotis convencionales, acorta el tiempo de lectura al microscopio y ofrece una tasa mayor de sensibilidad (Monsonogo et al., 2001; Sigurdsson K et al., 2013). Se ha visto que su utilización, junto a la clasificación Bethesda, ha disminuido el cociente ASC/LSIL (Davey et al., 2004). Permite además emplear el remanente del material que no se fija para estudio citológico, conservado en el líquido de fijación (durante semanas a temperatura ambiente) en estudios moleculares, como la determinación de VPH.



FIGURA 22. Método de procesamiento de la citología líquida Thin prep®. Obtenida de <http://image.slidesharecdn.com/cellblockandliquidbasescytology>

En las mujeres con alto riesgo de cáncer vaginal (adenocarcinoma de células claras) por la exposición intrauterina a dietil etilbestrol, deberían obtenerse muestras de los fondos de saco anterior y posterior.

Una espátula y un cepillo endocervical, utilizados conjuntamente, aseguran una muestra con mayor cantidad de células endocervicales y mayor posibilidad para la detección de cualquier grado de displasia que el cepillo solo (Marchand et al., 2005).

En general, es recomendable evitar realizar la prueba durante la menstruación, aunque para la citología líquida no parece tener un efecto significativo en los resultados (Bernstein et al., 2001). El uso de lubricantes (Griffith et al., 2005), coito o ducha vaginal antes de las 48 horas de la citología, no parece que interfieran en el resultado de la misma.

En caso de ser necesario la repetición de la citología, intervalos cortos (15-30 d) no se ha demostrado que afecte a la sensibilidad para la detección de neoplasia cervical (Jeronimo et al., 2005).

1.4.1.1. Sistema Bethesda

Se originó en Bethesda, Maryland, en 1988, en un seminario-taller organizado por el *National Cancer Institute* de los Estados Unidos. Los participantes concluyeron que la clasificación de Papanicolaou en cinco grados progresivos (I-V) no se consideraba aceptable en la práctica moderna de la citología, por cuanto no corresponde a los conocimientos actuales sobre lesiones cérvico-vaginales (Dexeus et al., 1993). El fin principal de este sistema es comunicar al médico solicitante la mayor información posible para ser utilizada en el manejo de la paciente, a través de un informe descriptivo en el que se incluyan todos los aspectos citológicos (hormonal, morfológico y microbiológico). La parte fundamental de esta nueva clasificación fue la elaboración de un sistema binario para catalogar las anormalidades celulares preneoplásicas en el extendido citológico, denominándolas lesiones intraepiteliales escamosas de alto o bajo grado (L.I.P/S.I.L.). El término «alto grado» incluye el CIN 2 y CIN 3 de la clasificación de Richardt, y el término «bajo grado» el CIN 1 y las alteraciones celulares producidas por VPH. Esta clasificación fue difundida en 1988, mínimamente modificada en 1991, y actualizada recientemente en 2001. Aparte de los datos de identificación y de localización de la toma, la clasificación de Bethesda en su versión de 2001 tiene una serie de apartados aclaratorios, por lo que respecta a las lesiones cervicales (Salomon et al., 2002) (tabla 4).

TABLA 4. Clasificación de hallazgos citológicos según Sistema Bethesda 2001 (modificado)

| | |
|--|--|
| Tipo de muestra | <ul style="list-style-type: none"> - Extendido convencional - Muestras de citología líquida |
| Idoneidad de la muestra | <ul style="list-style-type: none"> - Satisfactoria - Insatisfactoria (especificar motivo) <ul style="list-style-type: none"> ▪ Muestra rechazada, no procesada ▪ Muestra procesada y examinada |
| Categorización general (Opcional) | <ul style="list-style-type: none"> - Negativo para lesión intraepitelial o malignidad - Células epiteliales anormales - Otras normales en mujeres |
| Interpretación/ resultados | <ul style="list-style-type: none"> - Negativo para lesión intraepitelial o malignidad - Células epiteliales anormales: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Células escamosas atípicas: <ul style="list-style-type: none"> ▪ ASC-US (de significado incierto) ▪ ASC-H (no puede excluir HSIL) ▪ Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (LSIL) ▪ Lesión escamosa intraepitelial de alto grado (HSIL) ▪ Carcinoma escamoso (CEC) ▪ Células glandulares: <ul style="list-style-type: none"> ▪ AGC (atípicas), especificar endocervical, endometrial ▪ AGC-N (atípicas, posible neoplasia) ▪ AIS (adenocarcinoma in situ endocervical) ▪ Otros ▪ Células endometriales en mujer de 40 años |
| Notas (Opcional) | |

➤ *Atípicia escamosa de significado indeterminado (ASC-US)*

ASC-US son las siglas de «Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance» ó células escamosas atípicas de significado indeterminado o incierto. El término fue introducido para intentar acotar con más precisión la «zona gris» entre los cambios celulares benignos y la lesión intraepitelial, por lo que la catalogación de un proceso como ASCUS se realiza por exclusión. Es decir: los cambios observados pueden deberse a un proceso benigno, pero intenso, o a una lesión potencialmente grave. No obstante, se ha comprobado que un 10-20% de casos de ASCUS corresponden realmente a una lesión intraepitelial, incluso de alto grado, que no se ha puesto en evidencia en el extendido citológico, por lo que

eliminar el término no parece prudente. Como guía de frecuencia, se recomienda que no debería exceder en 2-3 veces la tasa de SIL de un laboratorio determinado (Schenk et al., 1998).

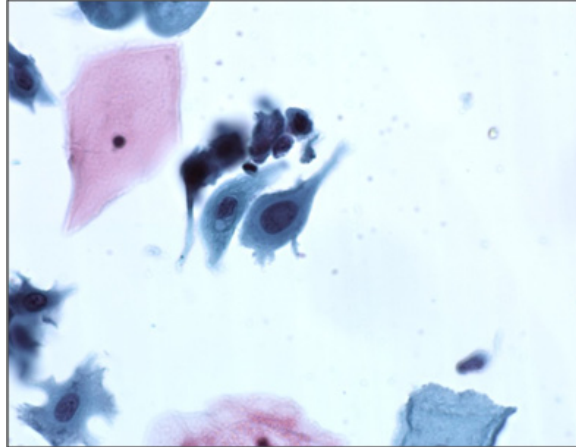


FIGURA 23. Atipia escamosa de significado indeterminado (AS-CUS).
Cedida por Servicio de Anatomía Patológica CHUC.

➤ *Atipia escamosa. No puede excluirse H-SIL (ASC-H)*

En él se recogen aquellos casos en los que las alteraciones celulares son bastante acusadas pero, bien por las características de la extensión (inflamación, hemorragia, etc.) o bien por la escasez de estas células, no pueden considerarse totalmente concluyentes.

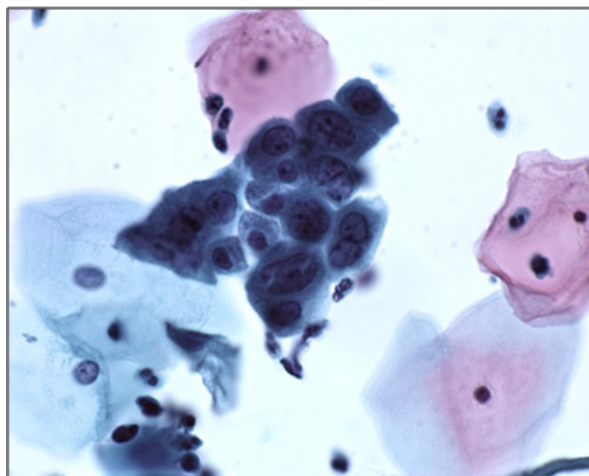


FIGURA 24. Atipia escamosa, sin poder excluir H SIL.
Cedida por Servicio de Anatomía Patológica CHUC.

➤ LSIL

Se observan células escamosas maduras, que se disponen habitualmente de forma aislada, con núcleos agrandados, 4-6 veces el tamaño nuclear de las células intermedias normales y de contorno irregular e hipercromáticos con cromatina granular fina de distribución uniforme, sin nucléolo prominente asociado. Se observan frecuentes células binucleadas. También se pueden observar células con cambios citopáticos producidos por la infección viral, los denominados “coilocitos”, que son células con un halo claro citoplasmático perinuclear, ópticamente bien definido, que presenta un refuerzo citoplasmático denso y que asocia algún grado de anomalía nuclear, como puede ser: agrandamiento nuclear, irregularidad de la membrana nuclear, hipercromasia, bi o multinucleación o picnosis. Los coilocitos son la manifestación de la infección del VPH en la célula y fueron descritos por primera vez por Koss y Durfee en 1956.

En algunas situaciones se puede observar un halo perinuclear inespecífico que puede confundirse con los cambios coilocíticos, pero sin la atipia nuclear asociada, que suele asociarse con: glucogenización de las células, cambios inflamatorios o infección por Tricomonas.

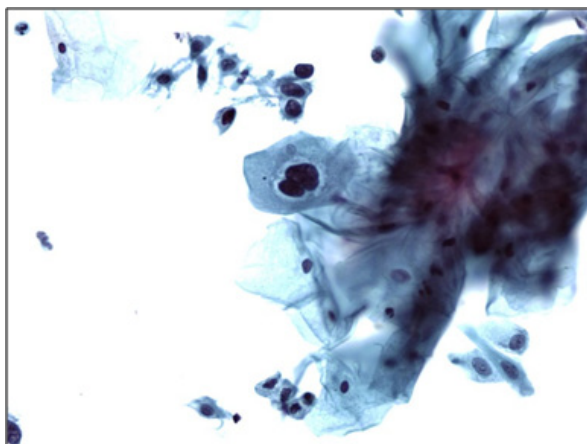


FIGURA 25. Lesión intraepitelial de bajo grado (L SIL).
Cedida por Servicio de Anatomía Patológica CHUC.

➤ HSIL

Citológicamente se caracteriza por la presencia de células, dispuestas de forma aislada o en grupos e incluso agregados sincitiales, con aumento de la relación núcleo/citoplasma, con núcleos de características normales y citoplasma

inmaduro. Los núcleos suelen ser más grandes que los observados en las células diagnósticas de LSIL, de 2 a 5 veces el tamaño del núcleo de una célula intermedia.

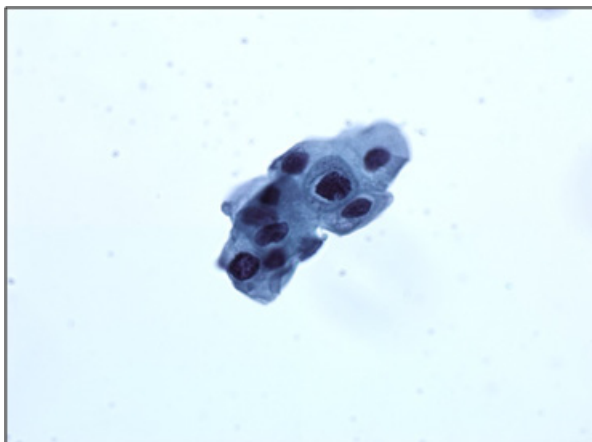


FIGURA 26. Lesión intraepitelial de alto grado (H SIL).
Cedida por Servicio de Anatomía Patológica CHUC.

➤ **Carcinoma escamoso:**

Se observan 2 variantes:

• **Carcinoma escamoso no queratinizante:**

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

• **Carcinoma escamoso queratinizante:**

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

Las características que sugieren la posibilidad de un **carcinoma infiltrante** son la presencia de macronucleolos en núcleos con cromatina granular dispersa y un fondo diatésico tumoral.

➤ **Células glandulares atípicas de significado indeterminado (AGUS)**

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

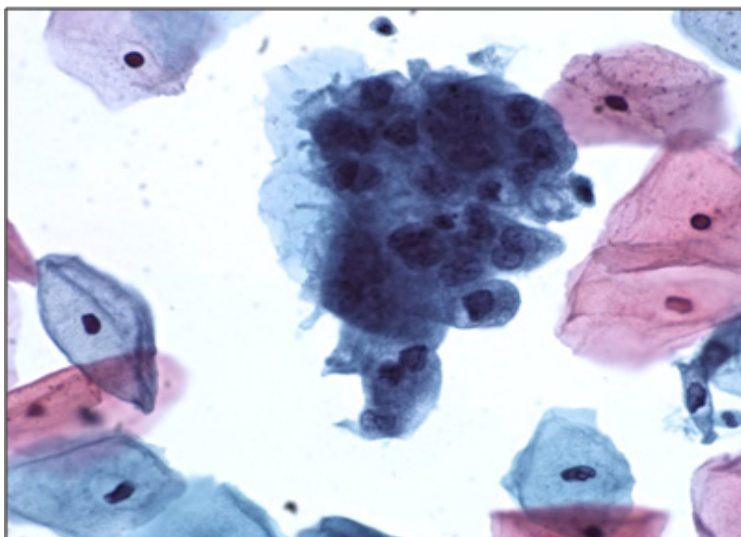


FIGURA 27. Atipia glandular de significado indeterminado.
Cedida por Servicio de Anatomía Patológica de CHUC.

➤ **Adenocarcinoma endocervical in situ (AIS)**

Los criterios para el diagnóstico de AIS son:

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

➤ **Adenocarcinoma endocervical**

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

1.4.2. Biopsia cervical

Es la prueba de confirmación histopatológica ante cualquier posible diagnóstico de neoplasia intraepitelial o carcinoma infiltrante por citología (LSIL+AGC+, ASC-H). Actualmente se complementa con técnicas de inmunomarcación para detectar la acción viral (p16) y proliferación celular (ki-67) (Pinto et al., 2008). Algunos citopatólogos utilizan el sistema Bethesda, aunque el recomendado sea el sistema CIN (CIN 1, CIN 2 y CIN 3).

En la actualidad, se acepta el sistema binario para lesiones intraepiteliales dividiendo las lesiones en bajo y alto grado porque es más reproducible que el sistema CIN. A esta nomenclatura se la conoce como **estandarización LAST** (*Lower Anogenital Squamous Terminology*) propuesta por Darragh (Darragh et al., 2012), que incluye los conocimientos actuales sobre la infección VPH, incorpora el uso de biomarcadores y facilita la comunicación entre profesionales.

- LSIL (coilocitosis , condiloma plano o CIN I)

Se visualiza una proliferación de células basales/parabasales-like limitadas a 1/3 del espesor epitelial con algunas mitosis. Los cambios citopáticos virales se observan en el 1/3 superior del epitelio (Figura 28). La tinción inmunohistoquímica con anticuerpo primario anti -p16 puede servir de confirmación del espesor del epitelio cervical alterado. Se acepta que las lesiones escamosas intraepiteliales de bajo grado (LSIL/CIN1) son la expresión histológica de una infección productiva y autolimitada por VPH y la mayoría de veces regresa espontáneamente.

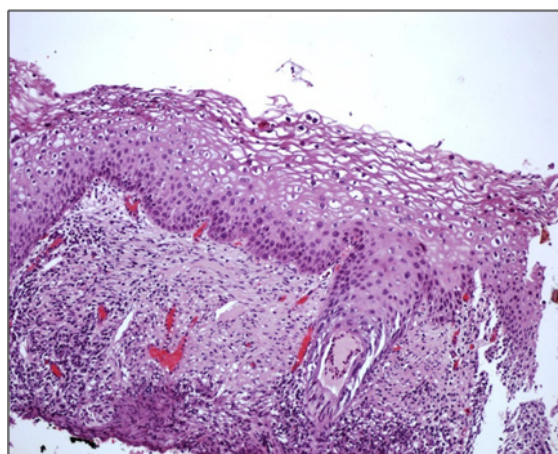


FIGURA 28. Lesión de bajo grado (CIN 1) en histopatología.
Cedida por Servicio de Anatomía Patológica del CHUC

- HSIL (CIN 2, CIN 3 o Carcinoma in situ)

El CIN 2 es el más difícil de valorar interobservador y por ese motivo se prefiere el sistema binario. Los cambios displásicos ocupan 2/3 o más del espesor epitelial (figura 29). La p16 puede ser útil para el diagnóstico diferencial con otras entidades como la atipia reparativa, la atrofia y la metaplasia inmadura (Skapa et al., 2013), así como una mejor categorización de las lesiones “frontera” entre bajo y alto grado, fundamentalmente clasificadas histológicamente hasta ahora como CIN2 mediante criterios exclusivamente morfológicos. Las lesiones de alto grado (HSIL/CIN3) se consideran auténticas neoplasias intraepiteliales con elevado potencial de progresión y constituyen la lesión precursora necesaria del cáncer de cérvix.

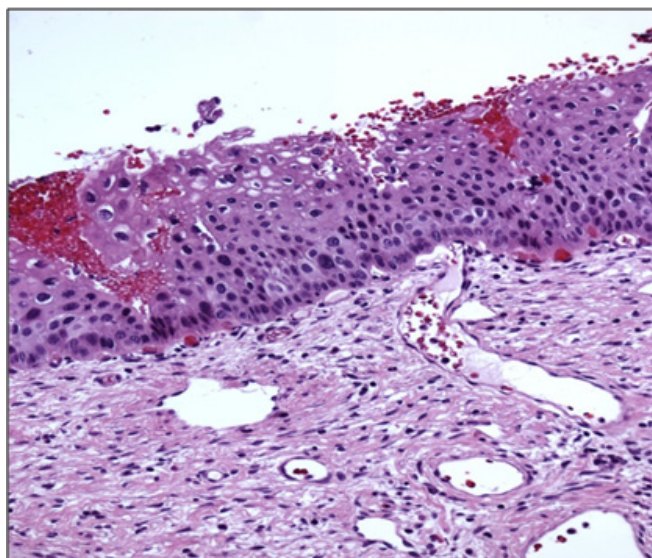


FIGURA 29. Lesión de alto grado en histopatología.
Cedida por Servicio de Anatomía Patológica del CHUC.

La terminología LAST propone utilizar la misma terminología (LSIL y HSIL) para todas las lesiones escamosas intraepiteliales asociadas al VPH independientemente de su localización en cérvix, vulva, vagina, ano, región perianal o pene. La información se complementa con la terminología clásica “neoplasia intraepitelial” (IN) y la sigla correspondiente a su localización (cérvix CIN, vagina VaIN, vulva VIN, ano AIN, área perianal PAIN y pene PeIN), acompañada de la gradación (-IN 1,2 ó 3) (Darragh et al., 2012).

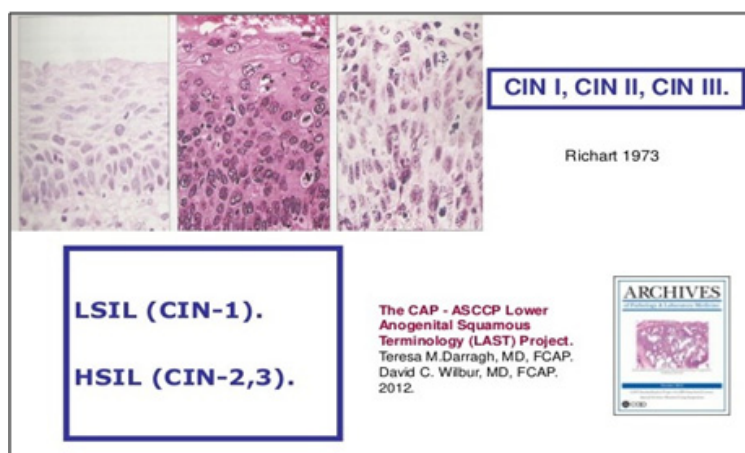


FIGURA 30. Terminología de la Neoplasia Intraepitelial Cervical (CIN).
Adaptado de Darragh et al., 2012.

1.4.3. Técnicas de detección de VPH

1.4.3.1. Generalidades

Antes del descubrimiento de las técnicas de biología molecular para la detección del VPH, la presencia viral se limitaba a los cambios citopáticos observados tanto en muestras citológicas como en biopsias del cérvix uterino. Los test de VPH solos o en combinación con la citología son más sensibles que la citología sola en el diagnóstico de patología cervical, incluyendo el adenocarcinoma (Whitlock et al., 2011).

Las razones que justifican la utilización de la prueba de detección de VPH en el cribado:

- ✓ Tiene un VPN muy alto, cercano al 100%, por tanto, si el resultado de la prueba es negativo, esa mujer tiene casi nula probabilidad de desarrollar lesiones premalignas en un periodo mínimo de 5 años.
- ✓ Tiene una altísima sensibilidad, mucho mayor que la de la citología.
- ✓ Es muy reproducible y menos subjetiva, ya que a veces el resultado de la citología está influido por la experiencia del citólogo que la examina.
- ✓ Está totalmente automatizada, por lo que se pueden procesar elevado número de muestras con fiabilidad de los resultados.
- ✓ Puede ser más competitiva económicamente, al reducir las rondas de cribado.

La muestra adecuada para la detección de VPH es el cepillado o la biopsia, dependiendo de la localización, recogida habitualmente en medio líquido, en recipientes estériles de cierre hermético. Los cepillos utilizados serán estériles y de material inerte. Se evitarán materiales naturales como el algodón o el vástago de madera, pues podrían inhibir la PCR. Se deben rechazar las muestras con más de un 2% v/v de sangre, dado que la hemoglobina podría inhibir la PCR. El cepillado cervical se tomará con un cepillo específicamente diseñado para la recolección de células del canal cervical (cepillo endocervical o citobrush). Se introduce en las dos terceras partes del canal endocervical y se rota suavemente entre 90 y 180 grados ó 5 veces en el sentido de las agujas del reloj. En general, se recomienda la utilización de los medios líquidos de citología, el de uso más extendido es Thin Prep®. El transporte de las muestras debe realizarse lo antes posible al laboratorio de microbiología a temperatura ambiente. El ADN y sobre todo el ARNm pueden degradarse tras repetidos ciclos de congelación y descongelación, por lo que siempre se recomienda no congelar, mantener la muestra en nevera y demorar lo menos posible su procesamiento.

1.4.3.2. Pruebas de detección para el VPH aprobadas por la FDA

A continuación se describen las cuatro técnicas aprobadas por la FDA (tabla 5). Las cuatro están validadas clínicamente para cribado primario y

TABLA 5. Indicaciones clínicas de las técnicas VPH-AR aprobadas por la FDA.
Obtenida de Mateos-Lindemann et al., 2016

| Indicaciones clínicas de las técnicas VPH-AR aprobadas por la FDA | | |
|---|---|---|
| Sistemas comercializados | FDA: indicación aceptada | Automatización Nombre (n. - muestras/ tiempo) |
| Captura híbridos (Qiagen) | • Cribado VPH + citología > 30 años ⁻ | No |
| Cervista (Hologic) | • Triage ASC-US • Cribado VPH + citología > 30 años ⁻ | MTA (96/8 h) HTA (500/8 h) |
| Cobas 4800 HPV (Roche Diagnostics) | • Triage ASC-US • Cribado VPH ≥ 25 años ⁻ • Cribado VPH + citología > 30 años ⁻ | COBAS 4800 (282/8 h) |
| Onclarity™ HPV (BD) | • Triage ASC-US ≥ 21 años ⁻ • VPH16/18 en ASC-US ≥ 21 y ≥ 30 años ⁻ | Viper™ LT (120/8 h) |
| Aptima (Hologic) | • En curso • Cribado VPH + citología ≥ 30 años ⁻ • Triage ASC-US ≥ 21 años ⁻ | Panther (240/8 h) |

En todas las pruebas aprobadas por la FDA se ha utilizado el medio de transporte Thin Prep® PreservCyt.

además poseen aprobación FDA para triaje de ASCUS. Hay que señalar que sólo una técnica en la actualidad está aprobada para el cribado primario basado en detección de VPH (Cobas® HPV Test). Ninguna la posee actualmente para control postratamiento de cáncer cervical, diagnóstico de cáncer anal, detección en varón o en orofaringe (Mateos-Lindemann et al, 2016).

❖ Hybrid Capture® 2 High-Risk HPV DNA (Digene)

Es la primera prueba aprobada por la FDA (marzo de 2003) para la detección de los genotipos carcinogénicos del VPH, siendo el método más evaluado en la literatura. Es una técnica de amplificación de la señal que utiliza un cóctel de sondas de alto riesgo que, en la última versión, incluye 13 tipos de VPH (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68), y otro para el grupo de bajo riesgo (6, 11, 42, 43 y 44), por lo que detecta cualquiera de estos genotipos en 2 únicas reacciones, si bien en el cribado sólo se deben detectar los VPH-AR. No especifica el genotipo viral. Tiene algunas limitaciones, como la reactividad cruzada con algunos genotipos de VPH-BR que ocasiona resultados falsos positivos (Castle et al., 2002).

❖ Cervista HPV HR® (Hologic)

En el año 2009, la FDA aprobó las pruebas Cervista® HPV HR y Cervista® HPV16/18 para su uso en el cribado de CCU. Es una técnica de amplificación de señal con tecnología Invader. Consta de 2 reacciones isotérmicas: la primera se produce en la secuencia del ADN del VPH y la segunda produce una señal fluorescente. Incluye un control interno, el gen de la histona humana 2. El resultado informa de la presencia de alguno de los 14 genotipos VPH-AR pero no los detecta de manera individualizada. Cervista HPV 16/18 identifica los VPH16 y VPH18 individualmente.

❖ Cobas® HPV Test (Roche Diagnostics)

El sistema Cobas 4800 (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania) es un sistema totalmente automatizado compuesto por el Cobas X, el termociclador Cobas Z y el software necesario para la realización de una PCR a tiempo real con *primers* de la región L1 del VPH. Se pueden procesar tandas de 22 hasta 94 muestras y es capaz de realizar 1.344 pruebas en 24 h utilizando viales primarios.

Los resultados aparecen diferenciados en 4 canales: VPH16, VPH18, otros VPH-AR no 16, 18 (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 66) y beta-globina, que se utiliza como control interno en cada muestra. Tiene una alta sensibilidad clínica y se ha evaluado en estudios multicéntricos en Europa (Mateos Lindemann et al., 2011) y en Estados Unidos (estudio ATHENA) (Wright et al., 2012) con gran concordancia con los resultados obtenidos por otras técnicas de referencia. Es de destacar que en los resultados positivos no se han observado reacciones cruzadas con VPH-BR. La reproducibilidad y el grado de automatización son muy elevados. Por todas estas características es uno de los sistemas totalmente automáticos más extendidos y preferidos para cribado de CCU.

❖ Aptima HPV Assay® (Hologic)

Aptima® detecta la presencia de ARNm de los oncogenes E6 y E7 de 14 genotipos. Utiliza la tecnología TMA y detección de los productos amplificados por hibridación. Se puede realizar en la plataforma automatizada Panther. En caso de utilizar ThinPrep®, la muestra debe transferirse a unos tubos específicos. No realiza genotipado parcial, pero ya existe un prototipo que identifica VPH16 y VPH18/45. No posee control de celularidad humana. En los estudios publicados, este método ha demostrado ser tan sensible como las pruebas que detectan ADN del VPH con una especificidad mayor, lo que resulta prometedor. Los datos del ensayo clínico aleatorizado realizado con este test de detección de ARNm se han analizado a 3 años. Sin embargo, debe esperarse a la demostración del bajo riesgo de > CIN3 tras un resultado negativo de ARNm a lo largo de un período de tiempo mayor para que no quepa ninguna duda de su utilidad en el cribado de cáncer cervical a intervalos de 5 años o más.

1.4.3.3. Algoritmo de cribado basado en el genotipado parcial de virus del papiloma humano

La elección del genotipado parcial del VPH como prueba de triaje a partir de un resultado positivo en la prueba de detección del VPH es una consecuencia de la importancia que tiene la persistencia de los genotipos VPH16 y VPH18 en el desarrollo de las lesiones premalignas (Khan et al., 2005; Wright et al., 2012). Recientemente un grupo de expertos (Huh et al., 2015) ha propuesto un algoritmo de cribado de CCU basado en la prueba VPH con genotipado parcial como prueba inicial (figura 31)).

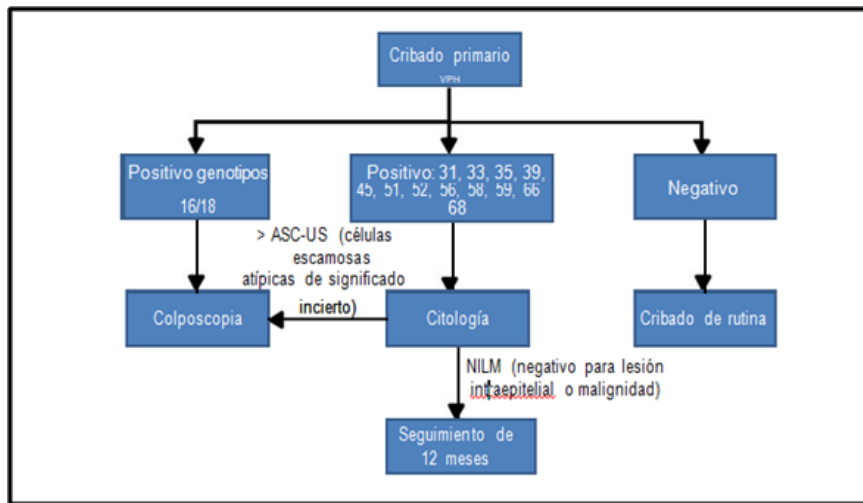


FIGURA 31. Algoritmo de cribado poblacional basado en el genotipo parcial. Obtenida de Mateos- Lindemann et al, 2016.

1.4.4. Técnicas moleculares para detección de proteínas del ciclo celular

La determinación de VPH-AR posee una alta sensibilidad para detectar lesiones cervicales de alto grado pero debido a su limitada especificidad, sobre todo en edades jóvenes en las que la prevalencia de la infección VPH es muy alta, obliga a buscar otros marcadores más específicos (Litjens et al., 2013). Estos marcadores moleculares tendrán su aplicación en citologías anormales para seleccionar aquellas que se pueden correlacionar con lesiones de alto grado subyacente, en las que estaría indicado realizar tratamiento (Donà et al., 2012).

Se ha evidenciado que existen biomarcadores inmunohistoquímicos que pueden aplicarse a los exámenes citológicos (Shi et al., 2007).

1.4.4.1. Proteína p16

La p16 es un inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina que muestra una marcada sobreexpresión en el tejido con infección transformante, lo que la convierte en un marcador ideal de lesión cervical en proceso de oncogénesis inducida por VPH-AR.

En condiciones fisiológicas normales, p16 actúa junto a otro gen supresor del retinoblastoma (pRb), controlando el paso a la fase síntesis de la célula (Pinto et al., 2010). Una vez infectada la célula por VPH, la proteína oncogénica E7 inhibe

la unión de la proteína retinoblastoma (Rb) al factor de transcripción E2F, lo que promueve la progresión del ciclo celular. El feedback se pierde y se produce la sobreexpresión de p16 (Schledermann et al., 2008).

La tinción positiva es nuclear y citoplasmática (Ge et al., 2012) y se asocia significativamente con el riesgo de progresión a CIN de alto grado (Liao et al., 2014).

Sin embargo, las células normales también pueden expresar p16, como las células endocervicales y las metaplásicas. En estos casos resulta necesario recurrir a criterios morfológicos (Denton et al., 2010).

1.4.4.2. Proteína Ki-67

Es una proteína celular que puede ser detectada, en células en proliferación, en todas las fases de la división celular (G1-, S-, G2 y M), pero no en células en reposo, ya que está ausente en fase G0 del ciclo celular.

1.4.4.3. Tinción dual

Es un nuevo marcador de tinción que no depende de la interpretación morfológica y parece capaz de reducir la subjetividad propia de la citología. Se basa en una combinación de dos marcadores en un solo test, la proteína antiproliferativa p16 y el marcador de proliferación Ki-67. Por ello, la detección simultánea de p16 y Ki-67 en una misma célula puede servir como indicador de desregulación del ciclo celular (figuras 32 y 33), lo cual ocurre durante la transformación oncogénica inducida por VPH-AR.

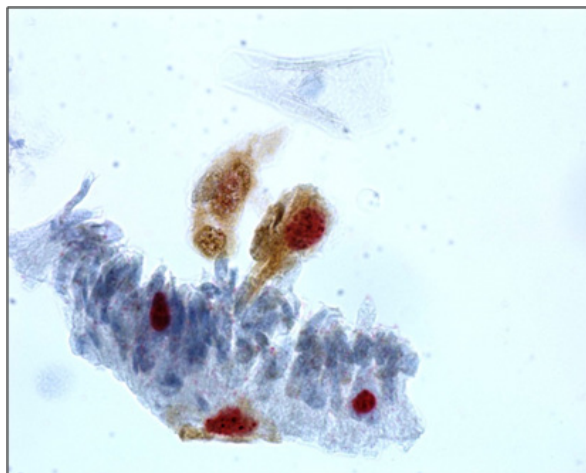


FIGURA 32. Tinción dual positiva en Citología. Cedida por Servicio de Anatomía Patológica del CHUC.

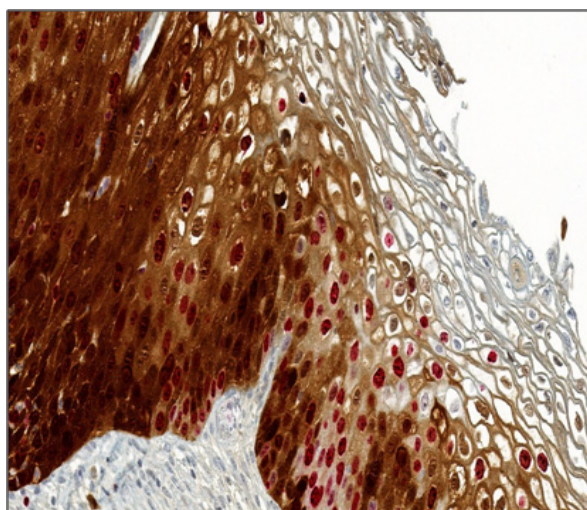


FIGURA 33. Tinción dual positiva en histopatología.
Cedida por Servicio de Anatomía Patológica del CHUC.

En la selección de citología ASC-US o LSIL la sensibilidad es comparable al test VPH pero con una especificidad significativamente mejor, en todas las edades (Ziemke et al., 2014).

1.5. COLPOSCOPIA

1.5.1. Concepto e historia

La colposcopia es una técnica complementaria diagnóstica, utilizada sistemáticamente en todas las Unidades de Patología Cervical e indicada, generalmente, en pacientes con citología anormal. Consiste en la visión directa, con una lente de aumento, del cérvix uterino, vagina y vulva, fundamentalmente para la toma de biopsias dirigidas ante imágenes sospechosas.

La colposcopia fue introducida en 1925 por Hans Hinselmann (1884-1959), ginecólogo alemán, que patentó el uso del colposcopio como instrumento fundamental para la realización de esta técnica. Con su primer trabajo traducido al español, *Mejora en las posibilidades de inspección de vulva, vagina y cérvix*, Hinselmann llamaba la atención sobre la magnificación de las imágenes con la colposcopia, imprescindible para el diagnóstico precoz del cáncer de cérvix, pudiendo establecer una correlación entre estas imágenes con el diagnóstico histopatológico. Además, con su aportación, introdujo el término actual de TGI (tracto genital inferior).

El equipamiento básico del colposcopio, una fuente de luz fría y un sistema óptico binocular de magnificación, apenas se ha modificado con el tiempo, con la excepción de la conexión a un sistema de cámara de video y pantalla de televisión de la que disponen los actuales modelos digitales (figuras 34 y 35).

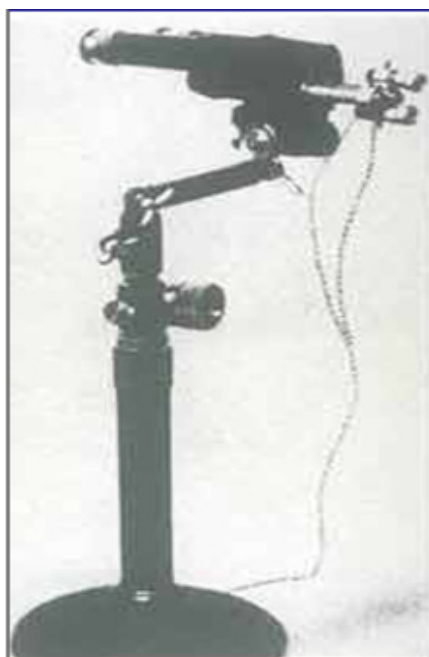


FIGURA 34. Colposcopio de Hinselmam . Obtenida de <https://image.slidesharecdn.com/historiadelacolposcopia-151107012445-lva1-app6892/95/historia-de-lacolposcopia-11-638.jpg?cb=1446860060>



FIGURA 35. Videocolposcopio. Obtenida de http://img.medicaexpo.es/images_me/photo-mg/67980-10290377.jpg

Con todo ello, la colposcopia permite la exploración detallada del TGI, para establecer un diagnóstico preciso y planificar el tratamiento más óptimo de la patología benigna y premaligna causada por el VPH, así como controlar su evolución. La Federación Europea de Colposcopia (EFC) tiene como objetivo primordial promover un elevado nivel de calidad en colposcopia. Para ello, ha elaborado guías y establecido indicadores y estándares de calidad que apoyen una práctica colposcópica satisfactoria en todos los países miembros.

La progresiva introducción de las vacunas frente al VPH y de las pruebas VPH en el cribado conllevará una reducción de la incidencia de cáncer cervical y CIN3, lo que se traducirá en una disminución del valor predictivo positivo (VPP) de la colposcopia, en una mayor dificultad para su interpretación y en un riesgo asociado de infra o sobretratamientos. Por ello, el control de calidad en este área es fundamental, asegurando una impecable formación en colposcopia (Oncoguía SEGO: Prevención del cáncer de cuello de útero, 2014).

1.5.2. Indicaciones

Las indicaciones actuales (citológicas y clínicas) de la colposcopia en el programa de cribado citológico del cáncer de cuello de útero se detallan en las tablas a continuación (tablas 6 y 7).

TABLA 6. Indicaciones Citológicas de la Colposcopia. Adaptado de Prevención del cáncer cervical: vacunación y colposcopia. Puig-Tintoré et al., 2011

| INDICACIONES CITOLÓGICAS | |
|--------------------------|--|
| 1 | Citología ASC-US |
| 2 | Citología ASC-US con test de ADN-VPH positivo |
| 3 | Citología ASC-US repetida dos veces |
| 4 | Citología LSIL repetida dos veces en mujeres <25 años |
| 5 | Citología LSIL en mujeres ≥ 25 años, ASC-H, HSIL o carcinoma |
| 6 | Citología AGN, AGC-N, AIS o Adenocarcinoma |
| 7 | Citologías repetidamente inflamatorias (3 ó más) |

TABLA 7. Indicaciones Clínicas de la Colposcopia. Modificado de Prevención del cáncer cervical: vacunación y colposcopia. Puig-Tintoré et al., 2011

| INDICACIONES CLÍNICAS | |
|-----------------------|---|
| 1 | Mujeres > 35 años con VPH-AR positivo persistente, más de 1 año |
| 2 | Seguimiento de mujeres con LSIL-CIN 1 seleccionadas |
| 3 | Seguimiento de SIL durante el embarazo |
| 4 | Seguimiento después del tratamiento con CIN o carcinoma |
| 5 | Cuello clínicamente sospechoso, incluso si la citología es normal |
| 6 | Hemorragia irregular o coitorragia |
| 7 | Evaluación de lesiones benignas en vagina, vulva y ano |
| 8 | Como parte del estudio diagnóstico en pacientes con VIN , VaIN y PAIN |
| 9 | Como parte del estudio diagnóstico en pacientes VIH positivas |
| 10 | Revisión ginecológica, en control de salud a la demanda |
| 11 | Como técnica de apoyo en los tratamientos escisionales |

El objetivo de la colposcopia es aumentar la sensibilidad de la citología; juntas pueden tener un valor predictivo positivo cercano al 100% y tiene como finalidad (Puig-Tintoré et al., 2002):

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

Actualmente la colposcopia también está indicada como técnica de apoyo durante la realización de los tratamientos para la CIN, tanto en la conización con láser como en la escisión con asa de diatermia (LLETZ/LEEP), para asegurar la completa extirpación de las zonas de lesión conocidas, así como para detectar otras áreas adyacentes patológicas (Massad et al., 2012) y minimizar el volumen de la pieza de conización (Preaubert et al., 2016).

1.5.3. Metodica de la exploración

El examen colposcópico debe seguir los siguientes pasos:

- 1/ Visualizar a simple vista vulva y el área perianal.
- 2/ Introducción de un espéculo para la observación directa de vagina y cérvix.
- 3/ Visión colposcópica del cuello, tras limpieza con suero fisiológico y uso de filtro verde para valorar la vascularización.
- 4/ Aplicación de ácido acético al 5%, durante al menos 1 minuto (acción mucolítica y vasoconstrictora).
- 5/ Identificar la unión escamo-columnar y la zona de transformación y determinar, de ese modo, si la colposcopia es adecuada o inadecuada.
- 6/ Localizar y valorar, de manera horaria o por cuadrantes y sectores, los hallazgos colposcópicos anormales, descartando la invasión (figura 36).
- 7/ Toma de biopsias, en caso necesario, con pinzas de sacabocados, de las zonas sospechosas.
- 8/ Aplicación de preparados hemostáticos tópicos con torunda, como la solución acuosa de percloruro de hierro al 30%, solución de Monsel (subsulfato férrico) o las varitas cutáneas de nitrato de plata (Argenpal®).
- 9/ Elaboración de un informe colposcópico detallado, con ayuda de un esquema anatómico sencillo, para la localización de las zonas sospechosas y de biopsia (anexo 1). La colpofotografía digital constituye un documento objetivo muy útil tanto para su uso clínico, como para docencia e investigación.

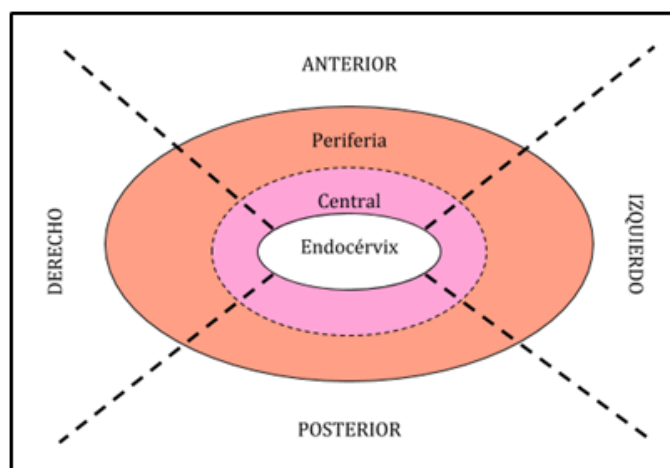


FIGURA 36. Esquema del ectocérvix en cuadrantes y sectores. Modificado de Puig-Tintoré et al., 2011.

La aplicación de la solución de Lugol (Test de Schiller, 1928), se utiliza, sobre todo para la delimitación de las lesiones y para el estudio de la vagina después de la aplicación de ácido acético. Se trata de una solución yodo-yodurada, elaborada por J.G.A. Lugol (1786-1851), empleada en la farmacopea tradicional para mejorar el estado de salud de los pacientes tísicos. La solución de Lugol en contacto con el glucógeno de las células escamosas maduras da un color caoba característico. Por el contrario, las células de los epitelios atípicos, que no contienen glucógeno, no se colorean, pudiendo delimitar con precisión la zona de biopsia. Es una prueba sensible, pero poco específica porque existen epitelios normales como la metaplasia inmadura, hiperqueratosis, paraqueratosis, atrofia y epitelio glandular que tampoco captan Lugol.

1.5.4. Indicaciones de estudio histológico durante la realización de la colposcopia

La combinación colposcopia-biopsia se considera la prueba de referencia “gold standard” para el diagnóstico de la neoplasia intraepitelial y el cáncer de cérvix. El estudio histológico durante la realización de la colposcopia puede ser de tres tipos:

- A. Pequeña biopsia del exocervix con pinza de sacabocados en la parte de la lesión que presenta los cambios más significativos y/o la más cercana al canal.
- B. Estudio del endocervix mediante toma de tejido con cepillo endocervical, mejor que el micro-legrado con una cucharilla tipo Kevorkian (Maksem et al., 2006).
- C. Microlegrado endometrial con cánula de Cornier.

Las indicaciones para el estudio histológico son las siguientes (Puig-Tintoré et al., 2011):

1.5.4.1. Biopsia dirigida del exocervix:

- Colposcopia anormal con cambios mayores
- Colposcopia anormal y adecuada con cambios menores (con citología mayor o igual a LSIL)

1.5.4.2. Estudio endocervical:

- Imagen colposcópica anormal que penetra en el canal cervical
- Citología anormal con colposcopia inadecuada
- Citología con lesiones glandulares: AGC, AIS o adenocarcinoma (ADC)
- Antes de practicar un tratamiento destructivo

1.5.4.3. Estudio endometrial:

- Citología con lesiones glandulares en mujeres mayores de 35 años: AGC, AIS, ADC.

1.5.5. Hallazgos colposcópicos

Actualmente se utiliza para la descripción de los hallazgos colposcópicos la nomenclatura de la Federación Internacional de Patología Cervical y Colposcopia (IFCPC) de 2011, establecida en el Congreso Mundial en Rio de Janeiro el 5 de Julio de 2011 (tabla 7). A diferencia de la clasificación anterior de Barcelona 2002, tiene en cuenta algunos aspectos de las lesiones cervicales que tienen importancia clínica, como la extensión y topografía. En la evaluación general hablaremos de **colposcopia adecuada/inadecuada** a diferencia de satisfactoria/insatisfactoria de la antigua nomenclatura. Los hallazgos colposcópicos normales se clasifican, según el tipo histológico del epitelio, en escamoso, columnar o metaplásico. El epitelio metaplásico en colposcopia se conoce como **zona de transformación (ZT)**. La ZT, a su vez, se clasifica en ZT tipo 1, cuando se localiza exclusivamente en el exocérnix y es totalmente visible; ZT tipo 2 si la ZT tiene un componente endocervical totalmente visible con o sin ayuda de un espéculo de Kogan (figuras 37 y 38) y ZT 3 con un componente endocervical no totalmente visible. Los hallazgos colposcópicos anormales se clasifican en **hallazgos de grado 1** (cambios menores) y **grado 2** (cambios mayores) y son la expresión de alteraciones en el proceso de maduración de la metaplasia. La metaplasia escamosa y concretamente la union escamoso-columnar es la puerta de entrada preferente del VPH, al encontrarse las células basales muy próximas o en la misma superficie del epitelio. Este hecho explica que el carcinoma de cérvix sea el más frecuente de los cánceres del TGI, a diferencia de los cánceres de vulva y vagina, a pesar de tener todos como factor etiológico común los VPH-AR. La metaplasia escamosa atípica es debida a la

infección del epitelio metaplásico por los VPH-AR que dan lugar a un proceso de transformación distinto al de la metaplasia escamosa normal. En general, se distinguen dos tipos de **hallazgos colposcópicos anormales: imágenes blancas** por la acantosis o engrosamiento de la capa espinosa del epitelio por la infección del VPH, que impiden el paso de la luz hasta los vasos del estroma y las **imágenes vasculares**, que con frecuencia se observan asociadas formando imágenes blancas con punteado y mosaico (Torné et al., 2006). Los cambios aberrantes de los vasos que se visualizan en la metaplasia escamosa atípica son una expresión aberrante del factor C de crecimiento del endotelio vascular (VEGF-C) que aumenta con el grado de la CIN (Branca et al., 2006).



FIGURA 37. Espéculo endocervical de Kogan. Tomado de https://www.bing.com/images/search?view=detailV2&iss=VS&imgurl=http%3a%2f%2fwww.gyneas.es%2f906-home_default%2fspeculum-endo-cervical-kogan-avec-cremaillere.jpg&mid=88E1DF581CBE4A49C150E6A757B267A24A522D73&ccid=jwc0iOE1&simid=608028673834355280&thid=OIP.jwc0iOE1Z2sbn03vgQdhnQHaHa&exph=250&expw=250&first=1&cal=0.14933333333333334&cat=0.14933333333333334&car=0.8506666666666667&cab=0.8506666666666667



FIGURA 38. Zona de transformación tipo II no totalmente visible que hace necesario el empleo de un espéculo de Kogan. Obtenida de Guía Práctica de Iconografía Colposcópica 2ª Edición (Coloma et al., 2016)

TABLA 8. Terminología Colposcópica de la Federación Internacional de Patología Cervical y Colposcopia 2011. Adaptada de Bornstein J, Bentley J, Bosze P, Girardi F, Haefner H, Menton M, Perrotta M, Prendiville W, Russell P, Sideri M, Strander B, Torne A, Walker P. 2011

| | | | |
|--|--|--|--|
| Evaluación General | | <input type="checkbox"/> Adecuada/inadecuada a causa de ...(por ej.: cuello uterino no claro por inflamación, sangrado, cicatriz) <input type="checkbox"/> Visibilidad de la unión escamocolumnar: completamente visible, parcialmente visible, no visible. <input type="checkbox"/> Tipos de zona de transformación 1,2,3 | |
| Hallazgos colposcópicos normales | | Epitelio escamoso original: <input type="checkbox"/> Maduro <input type="checkbox"/> Atrófico Epitelio columnar <input type="checkbox"/> Ectopía Epitelio escamoso metaplásico <input type="checkbox"/> Quistes de Naboth <input type="checkbox"/> Aberturas glandulares y/o criptas glandulares Deciduosis en el embarazo | |
| Hallazgos colposcópicos anormales | Principios generales | Ubicación de la lesión: dentro o fuera de la zona de Transformación, ubicación de la lesión según las agujas del reloj. Tamaño de la lesión Número de cuadrantes del cuello uterino que cubre la lesión, tamaño de la lesión en porcentajes del cuello uterino. | |
| | Grado 1 (Menor) | Epitelio acetoblanco delgado. Borde irregular | Mosaico fino, Puntillado fino |
| | Grado 2 (Mayor) | Epitelio acetoblanco denso, Aparición rápida de epitelio acetoblanco. Orificios glandulares abiertos con bordes engrosados. | Mosaico grueso, Puntillado grueso. Bordes delimitados, Signo del límite del borde interno, Signo de cresta o sobreelevado. |
| | No específicos | Leucoplasia (queratosis, hiperqueratosis), Erosión Solución de Lugol (Test de Schiller): positivo/negativo | |
| Sospecha de invasión | | Vasos atípicos Signos adicionales: Vasos delgados, superficie irregular, lesión exofítica, necrosis, ulceración (necrótica), tumoración nodular. | |
| Hallazgos varios | Zona de transformación congénita, Condiloma, Pólipo (exocervical / endocervical) Inflamación, | Estenosis, Anomalía congénita, Anomalías post tratamiento, Endometriosis | |



FIGURA 39. Cuello normal. Obtenida de Guía Práctica de Iconografía Colposcópica 2ª Edición (Coloma et al., 2016).



FIGURA 40. Hallazgos colposcópicos anormales (Grado 1): epitelio acetoblanco débil y mosaico fino con punteado débil en labio anterior. Obtenida de Guía Práctica de Iconografía Colposcópica 2ª Edición (Coloma et al., 2016).



FIGURA 41. Hallazgos colposcópicos anormales (Grado 2): epitelio acetoblanco denso entre la 1 y las 6 h, además de grietas hemorrágicas entre las 2-3 h, que podrían indicar microinvasión. Obtenida de Guía Práctica de Iconografía Colposcópica 2ª Edición (Coloma et al., 2016).



FIGURA 42. Colposcopia de cáncer invasor. Epitelio acetoblanco muy denso y perlado con vasos atípicos a las 3-5 h. Obtenida de Guía Práctica de Iconografía Colposcópica 2ª Edición (Coloma et al., 2016).

1.6. PREVENCIÓN SECUNDARIA. CRIBADO DEL CÁNCER DE CÉRVIX

Los criterios establecidos que debe reunir una enfermedad para que pueda ser sometida a estrategias preventivas mediante cribado son (Wilson JMG, 1968):

- ✓ Tener una elevada prevalencia
- ✓ Representar un serio problema de salud para la comunidad
- ✓ Conocerse su historia natural
- ✓ Disponer de una técnica aplicable a grandes masas de población
- ✓ Contar con una red asistencial capaz de dar respuesta a los casos detectados

El test de cribado ha de ser: sencillo, inocuo, fácil de usar, económico y validado clínicamente.

Siguiendo las recomendaciones para el cribado del cáncer del Consejo de la Unión Europea de 2 de Diciembre de 2003, sólo tres neoplasias reúnen los criterios necesarios para tener un cribado:

- ✓ Cáncer de cérvix (*citología*)
- ✓ Cáncer de mama (*mamografía*)
- ✓ Cáncer colo-rectal (*sangre oculta en heces*)

La justificación del cribado de CCU es la reducción de su incidencia y mortalidad, ya que el 80% de mujeres que desarrollan CCU no se han sometido a un cribado citológico adecuado (de Sanjosé et al., 2006).

Establecer una política de cribado poblacional para el cáncer de cuello uterino, tanto en España como en el resto de países europeos, debería ser una prioridad tal como se expone en las *“European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening”*. Un cribado poblacional exige una cobertura del 70-80% de la población con una realización periódica y continuada, para asegurar la eficacia y eficiencia (Recomendación del Consejo sobre Cribado del Cáncer, 2003). El cribado poblacional sólo existe en cinco países de la Unión Europea (Finlandia, Luxemburgo, Holanda, Suecia y Reino Unido). Actualmente en España no existe una política común de cribado del cáncer de cérvix, sino que existen estrategias de Salud Pública diferentes en cada una de las 17 Comunidades Autónomas. Mayoritariamente los programas de cribado de CCU son oportunistas (sin un protocolo definido) o espontáneos (por propia iniciativa), con coberturas no óptimas y con déficits en la equidad y en la eficiencia.

1.6.1. Estrategias de cribado

La citología no es una prueba diagnóstica definitiva, sino un test de *screening* que nos dará simplemente un resultado normal/anormal, detectando aquellas pacientes que potencialmente padezcan lesiones cervicales. El objetivo final será confirmar, mediante colposcopia y biopsia, aquellas lesiones CIN 2+, que tratadas adecuadamente nos permitirá abortar la historia natural de la enfermedad hacia un cáncer invasor. Las principales limitaciones de la citología para el cribado del CCU son:

- Baja sensibilidad, que obligan a su repetición con intervalos que pueden hacerla ineficiente.
- Baja especificidad, debido al elevado número de lesiones de bajo grado que detecta y requieren estudio diagnóstico y seguimiento.

La prueba de VPH ha demostrado, una mayor sensibilidad que la citología (entre 23% y 43% en el caso de HC2) en función del umbral de detección elegido (\geq a CIN2 o \geq a CIN3) o del punto de corte de la citología (ASCUS o LSIL) (Arbyn et al., 2012). Por otra parte, la especificidad se reduce respecto a la citología (entre el 6-8% para HC2). Además, posee un elevado valor predictivo negativo (VPN), cercano al 99%, en mujeres mayores de 30 años, lo que significa que una determinación negativa se traduce en una muy baja probabilidad de tener una lesión \geq a HSIL/CIN2 actual y en los próximos 5-7 años (Bulkmans et al., 2005; Carozzi et al., 2005).

Tras un resultado negativo de la prueba VPH, el riesgo de desarrollar \geq a HSIL/CIN3 en los siguientes 6 años es del 0,27%, valor similar al riesgo tras un resultado negativo de co-test de 0,28% (Dillner et al., 2008). La mejor sensibilidad de la prueba VPH frente a la citología se confirma al observar una menor incidencia de cáncer de cérvix a los 5 años de una prueba VPH negativa, que la incidencia a los 3 años de una citología negativa (Katki et al., 2011; Ronco et al., 2014). Entre los múltiples métodos comercializados para la detección del VPH deben utilizarse aquellos clínicamente validados y fiables (Meijer et al., 2009). Por último, la prueba de VPH incrementa sustancialmente la detección de adenocarcinoma cervical y de sus lesiones precursoras. La incidencia de este subtipo de neoplasia no ha disminuido o incluso ha aumentado en algunos países en los que el cribado se basa exclusivamente en la citología (Bray et al., 2005; Castellsague et al., 2006; Wang et al., 2004).

1.6.2. Protocolo de cribado del carcinoma de cuello uterino

En el año 2014 se consensuó un nuevo protocolo para el cribado del CCU cervical, con la participación de las Sociedades Españolas de Ginecología y Obstetricia (SEGO), de Patología Cervical y Colposcopia (AEPCC), de Anatomía Patológica (SEAP) y de Citología (SEC). (figura 43)

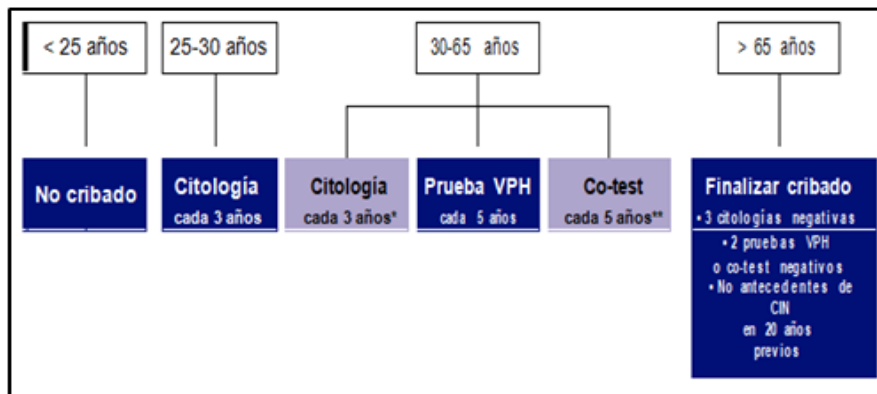


FIGURA 43. Esquema de cribado. Obtenido de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello de Útero, 2014.

1.6.2.1. Edad de Inicio

El cribado de CCU se debe iniciar a los 25 años, independientemente de la edad de inicio de las relaciones sexuales y de otros factores de riesgo. La incidencia

de cáncer de cérvix por debajo de 25 años es extremadamente baja y el cribado sistemático no ha demostrado ningún beneficio en la reducción de la incidencia de CCU (Castle et al., 2010; Sasieni et al., 2009). Por el contrario, el cribado en mujeres jóvenes comporta la detección de un elevado número de casos con alteraciones citológicas menores e infecciones por VPH transitorias cuyo estudio se traduce en un elevado coste económico, sobrediagnóstico y sobretratamiento (Castellsague et al., 2012; Moscicki et al., 2010).

1.6.2.2. *Edad de Finalización*

El cribado del cáncer cervical debe finalizar a los 65 años siempre que se cumplan los siguientes criterios:

- ✓ Cribado previo adecuado y negativo durante los 10 años previos.
- ✓ No antecedente de CIN o cáncer de cérvix tratado durante los 20 años previos.

Se considera cribado adecuado previo negativo si existen tres resultados citológicos consecutivos negativos, o dos pruebas VPH o dos cotest (prueba de VPH y citología) negativos, realizados en los diez años previos, con el último realizado dentro de los cinco últimos años. En estos casos la incidencia de lesiones \geq a HSIL/CIN2 es extremadamente baja (Castle et al., 2009).

Las mujeres de 65 años o mayores que no han cumplido adecuadamente con el cribado previo deben realizarse una prueba de cotest con el objetivo de excluir una posible lesión. Las mujeres con resultado negativo en el cotest no es necesario que realicen más pruebas de cribado. Una vez interrumpido el cribado no debería retomarse por ningún motivo (Chen et al., 2011; Saslow et al., 2012).

1.6.2.3. *Cribado de mujeres entre 25-30 años*

El intervalo más adecuado entre citologías es cada 3 años (mejor relación entre incidencia, mortalidad, costes y morbilidad asociados al número de colposcopias) (Saslow et al., 2012).

Los antecedentes de la mujer y sus factores de riesgo no deben motivar modificaciones en el intervalo de cribado, excepto en mujeres inmunodeprimidas.

1.6.2.4. Cribado de mujeres entre 30-65 años

El cribado entre 30 y 65 años debe realizarse preferentemente con una prueba de VPH clínicamente validada cada 5 años.

Otras opciones de cribado aceptables en el grupo entre 30 y 65 años son:

- ✓ Citología cada 3 años
- ✓ Co-test (citología + prueba de VPH) cada 5 años: no aporta mayor beneficio en la detección de lesiones (sensibilidad), ni aumenta el intervalo de cribado. Dado que algunas pruebas VPH no poseen un control para determinar si la prueba es inadecuada por ausencia o escaso material, el cotest sólo aportaría la ventaja, en estos casos clínicamente excepcionales, de valorar la adecuación de la muestra mediante el estudio citológico simultáneo. Sin embargo esta opción de cribado debe considerarse una opción transitoria, mientras no se establezca el cribado basado en la prueba VPH.

1.6.2.5. Cribado en poblaciones especiales

- ✓ Mujeres con histerectomía total por patología benigna
Deben finalizar el cribado tras la histerectomía (independientemente de la edad, la existencia o no de cribado previo adecuado negativo o de factores de riesgo sexual).
- ✓ Mujeres con lesión CIN 2+
Las mujeres con antecedente de lesión \geq a HSIL/ CIN2 que han sido tratadas, una vez se derivan al cribado rutinario, deben realizar seguimiento durante un periodo mínimo de 20 años, independientemente de que se alcance la edad de 65 años (Saslow et al., 2012; Wright et al., 2007). El antecedente de lesión \geq a HSIL/CIN2 tratada o con resolución espontánea durante los últimos 2 años conlleva un riesgo de cáncer de cérvix entre 5 y 10 veces mayor que el de la población general (Melnikow et al., 2009; Soutter et al., 2006).
- ✓ Mujeres inmunodeprimidas
Las pacientes con inmunodepresión congénita o adquirida, o las pacientes con infección VIH son altamente susceptibles a la infección persistente por VPH y poseen mayor riesgo de desarrollar lesiones precursoras o cáncer de cérvix (Pantanowitz et al., 2011).

Por tal motivo, se recomienda:

Citología anual a partir de los 21 años y después de los 30 años:

-Co-test trienal en mujeres con $CD4 > 200$ $cl/\mu L$ o con tratamiento anti-retroviral (TAR) activo.

-Co-test anual si los $CD4 < 200$ $cl/\mu L$ o no reciben TAR.

1.6.3. Conducta ante resultados anormales en las pruebas de cribado

1.6.3.1. Prueba VPH positiva con citología negativa

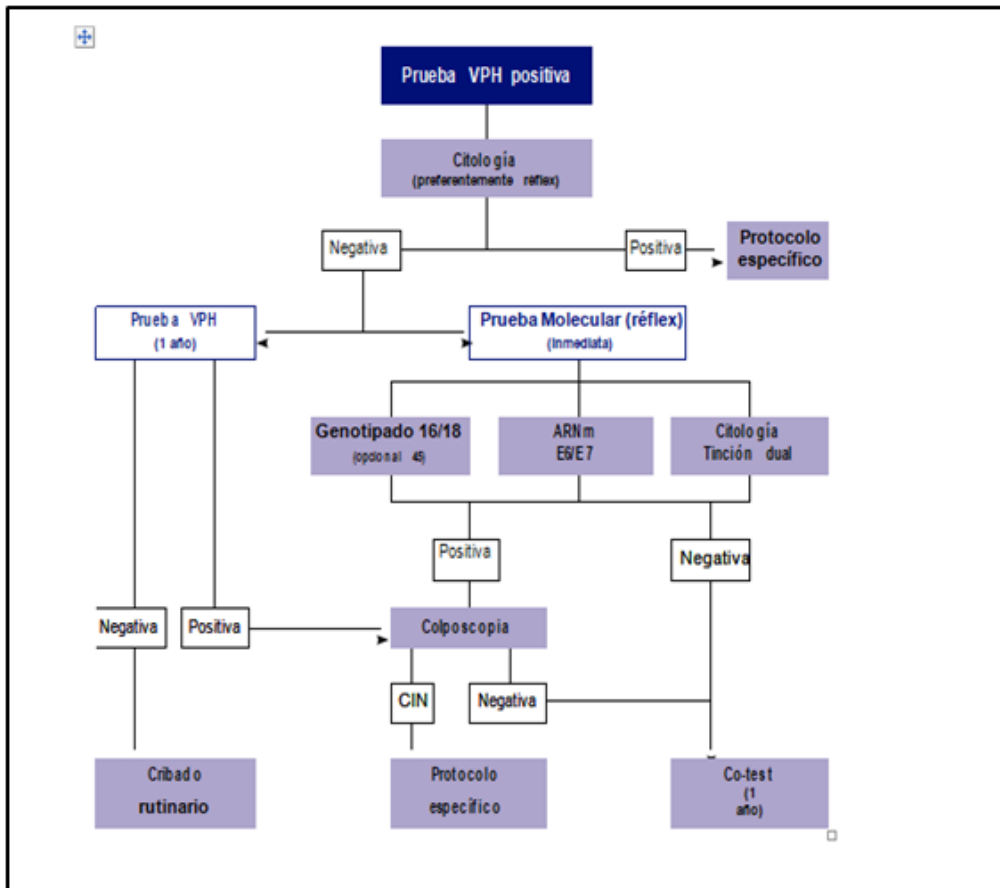


FIGURA 44. Algoritmo Conducta ante Citología negativa y prueba de VPH positiva. Obtenido de Oncogúa SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014.

1.6.3.2. Citología no satisfactoria

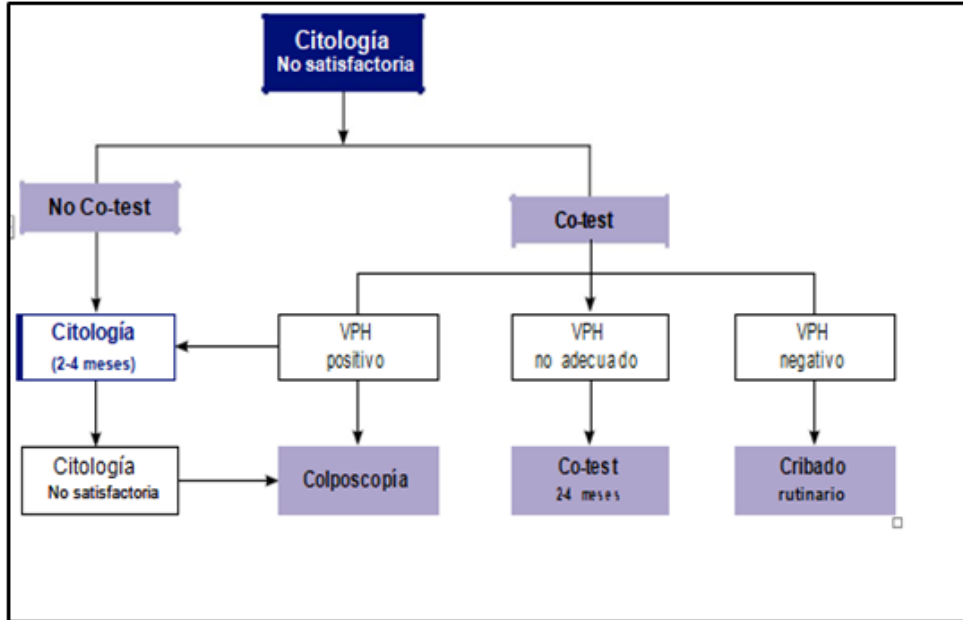


FIGURA 45. Algoritmo Conducta ante Citología No Satisfactoria. Obtenido de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014.

1.6.3.3. Atipia de células escamosas de significado incierto (ASC-US)

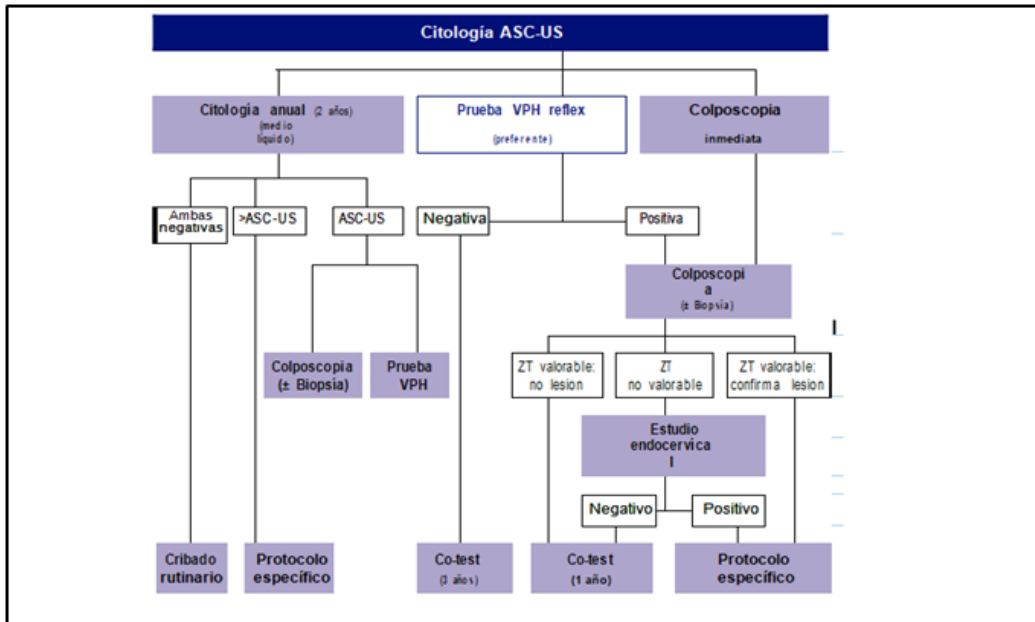


FIGURA 46. Algoritmo Conducta ante ASC-US. Obtenido de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014.

- ASC-US/L SIL en Mujeres menores de 25 años

Citología anual durante dos años puede ser una opción aceptable por la elevada tasa de regresión del ASC-US en dicha población (91% a los 2 años). Antes de los 25 años no se recomienda la determinación del VPH-AR en ninguna circunstancia. Esta afirmación se basa en la elevada prevalencia de infección VPH-AR en adolescentes y mujeres jóvenes (hasta un 88% entre 15 y 19 años y un 67% en entre 20 y 24 años).

- ASC-US en Mujeres post-menopáusicas

En un porcentaje elevado de casos, la citología ASC-US en mujeres menopáusicas es reactiva a la atrofia y al déficit estrogénico. Por esto, la aplicación de estrógenos locales durante 6-8 semanas en mujeres postmenopáusicas con atrofia marcada y ASC-US antes de repetir la citología es una opción aceptable y permite mejorar el estudio citológico y colposcópico (Piccoli et al., 2008). La prevalencia del VPH en mujeres mayores de 40 años es menor del 20% (Sherman et al., 2002). Por ello, la determinación del VPH para estratificar el riesgo de lesión histológica subyacente de HSIL o (lesión \geq a HSIL/CIN2) resulta más eficiente en este grupo de edad que en las mujeres más jóvenes, siendo menor el número de mujeres derivadas a colposcopia.

- ASC-US en Gestantes

Conducta similar a la de las mujeres no gestantes con la diferencia de que el estudio colposcópico puede diferirse hasta 6 semanas postparto, por su mayor complejidad (Fleury et al., 2012; Massad et al., 2013). La biopsia dirigida por colposcopia sólo está indicada en los casos en que sea necesario descartar invasión.

En casos en los que la citología, colposcopia y eventual biopsia no sugieran lesiones \geq a HSIL/ CIN2 se recomienda seguimiento postparto (Massad et al., 2013). La única indicación del tratamiento de una gestante con diagnóstico de CIN es la sospecha de cáncer invasor (Wright et al., 2007; ACOG Practice Bulletin 2008).

1.6.3.4. *Atipia de células escamosas que no permite descartar lesión intraepitelial de alto grado (ASC-H)*

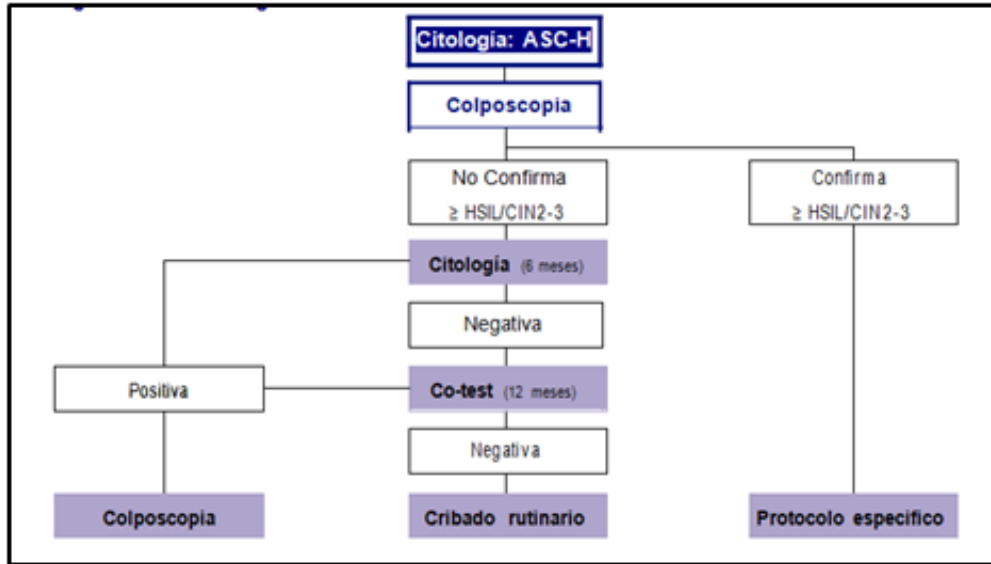


FIGURA 47. Algoritmo Conducta ASC-H. Obtenido de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014.

1.6.3.5. *Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (L SIL)*

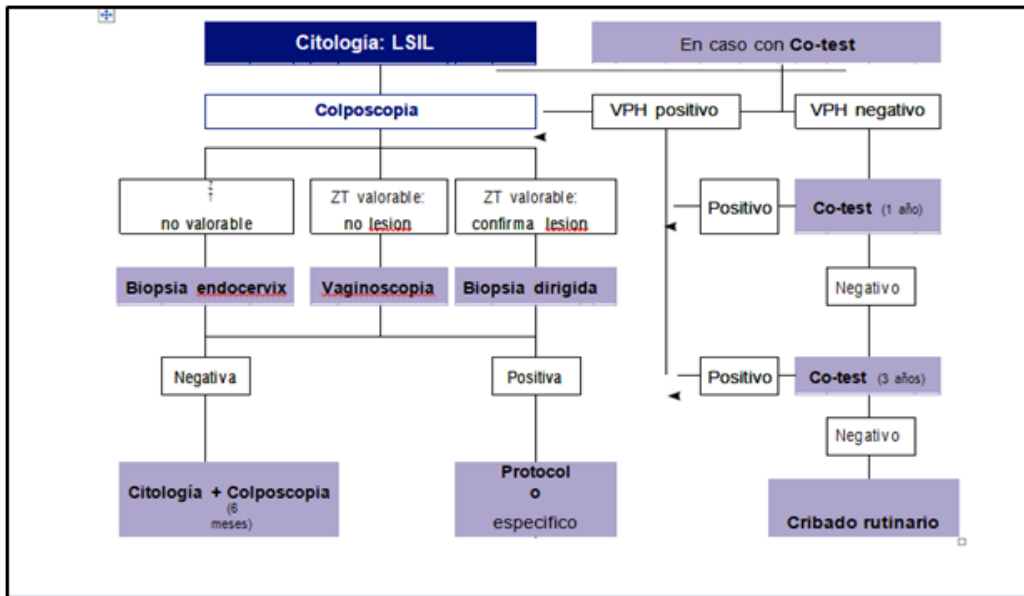


FIGURA 48. Algoritmo Conducta LSIL. Obtenido de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014.

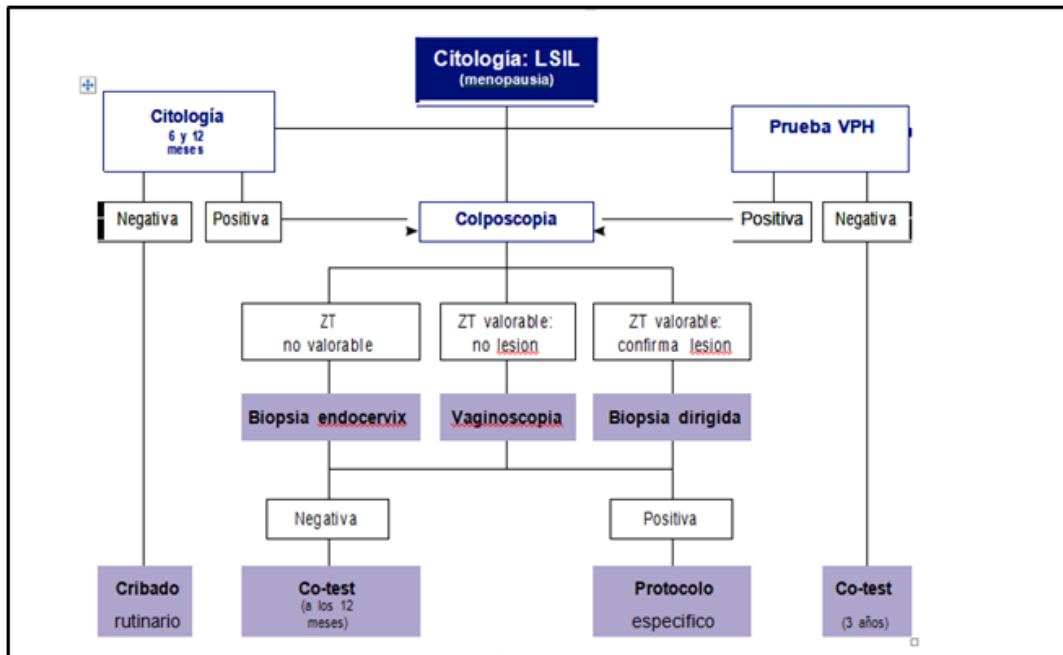


FIGURA 49. Algoritmo Conducta LSIL en mujeres menopáusicas. Obtenido de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014.

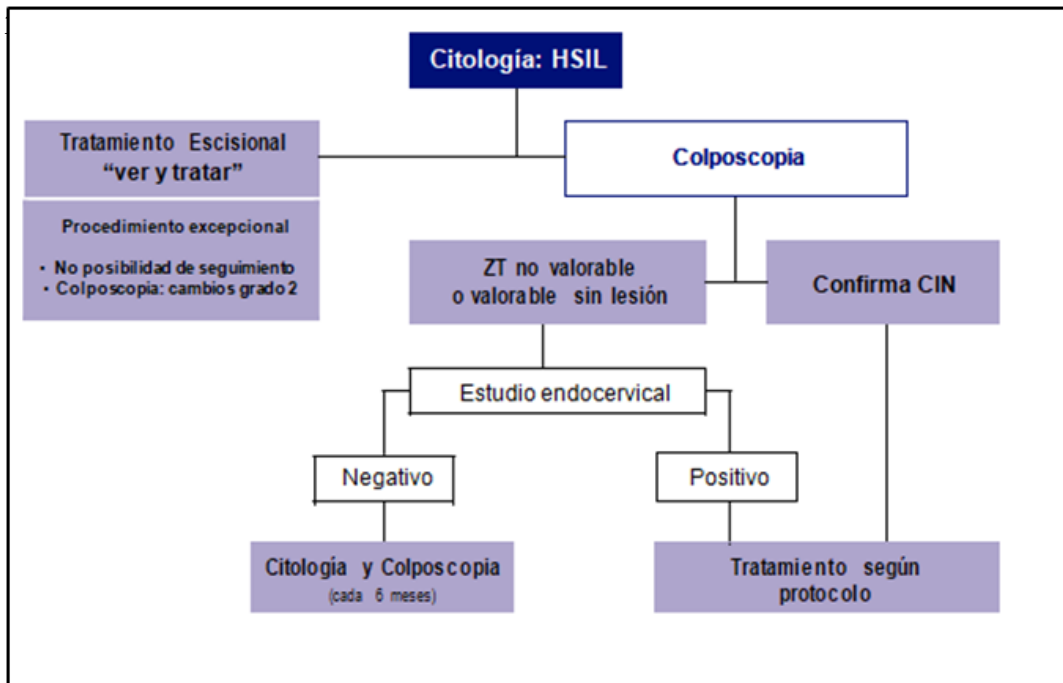


FIGURA 50. Algoritmo Conducta Citología HSIL. Obtenido de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014.

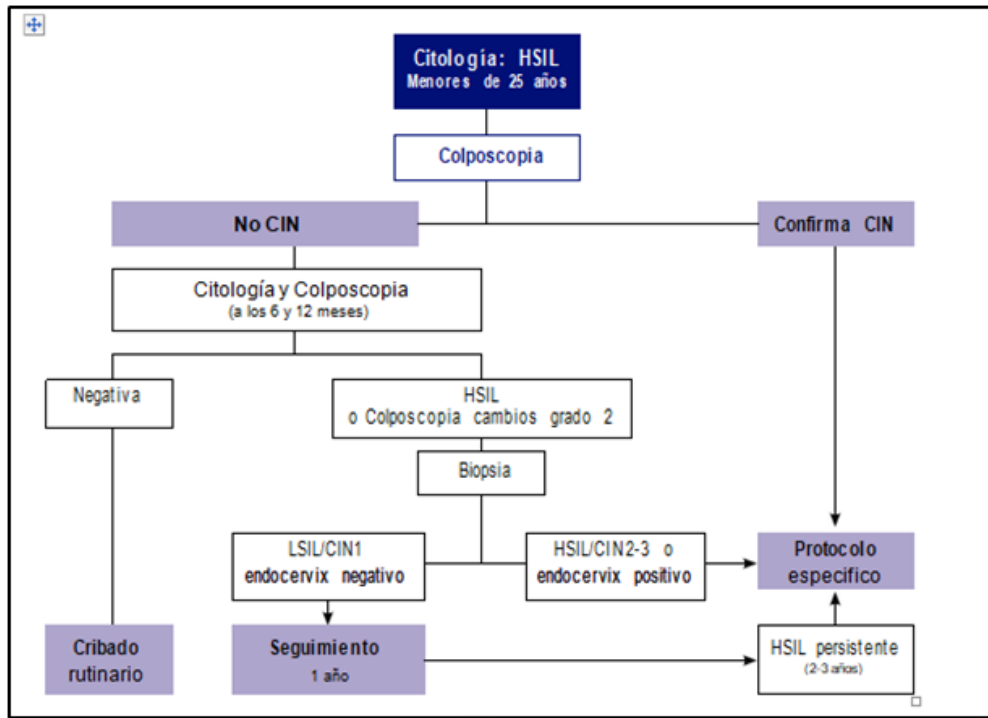


FIGURA 51. Algoritmo Conducta ante Citología HSIL en mujeres menores de 25 años. Obtenido de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014.

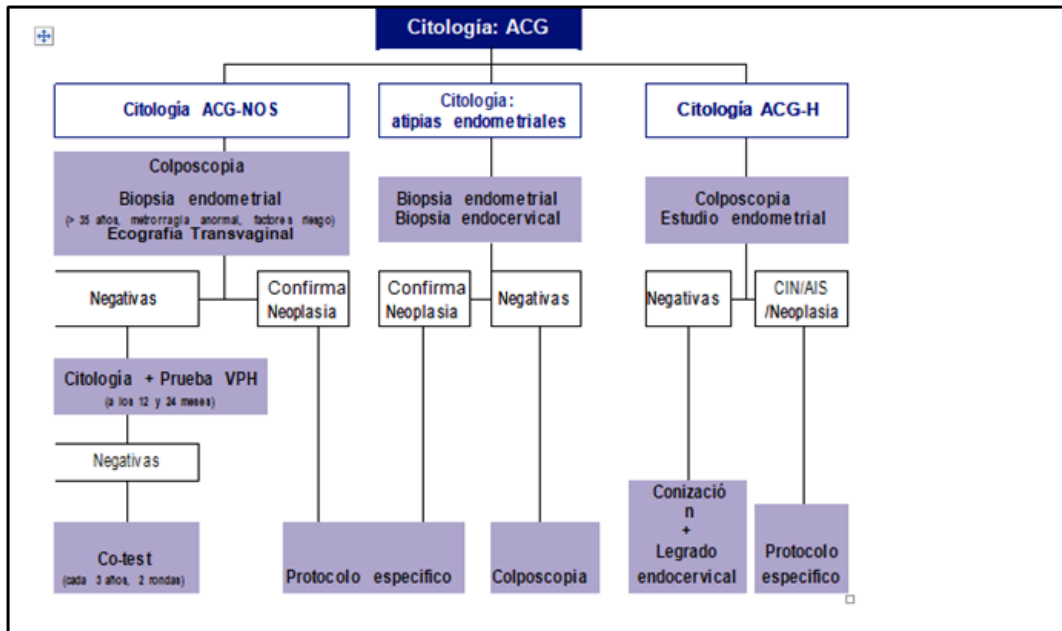


FIGURA 52. Algoritmo Conducta ante citología Atipia de células glandulares. Obtenido de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014.

1.6.4. Conducta ante resultados histológicos anormales

1.6.4.1. Biopsia L SIL/CIN 1

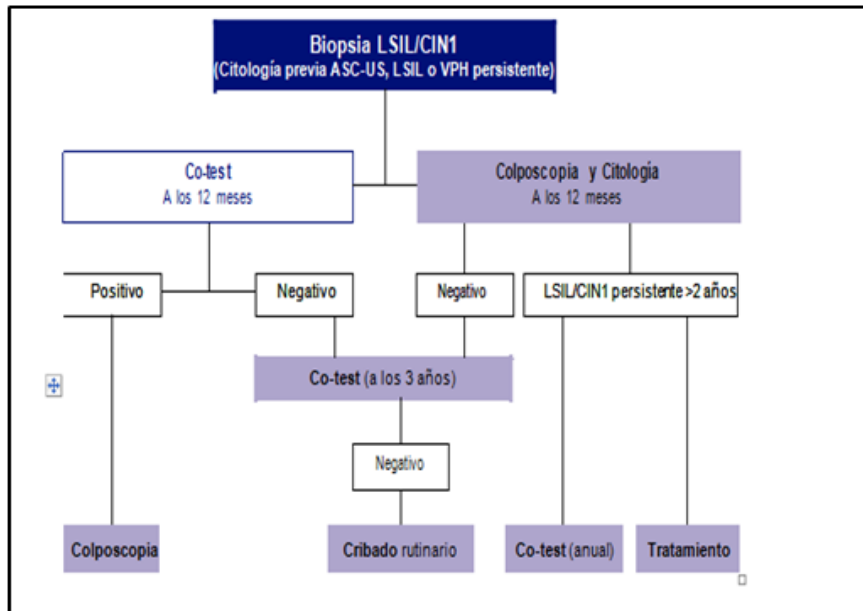


FIGURA 53. Algoritmo Conducta ante Biopsia LSIL/CIN 1 (Citología previa ASC-US, LSIL o VPH persistente). Obtenido de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014.

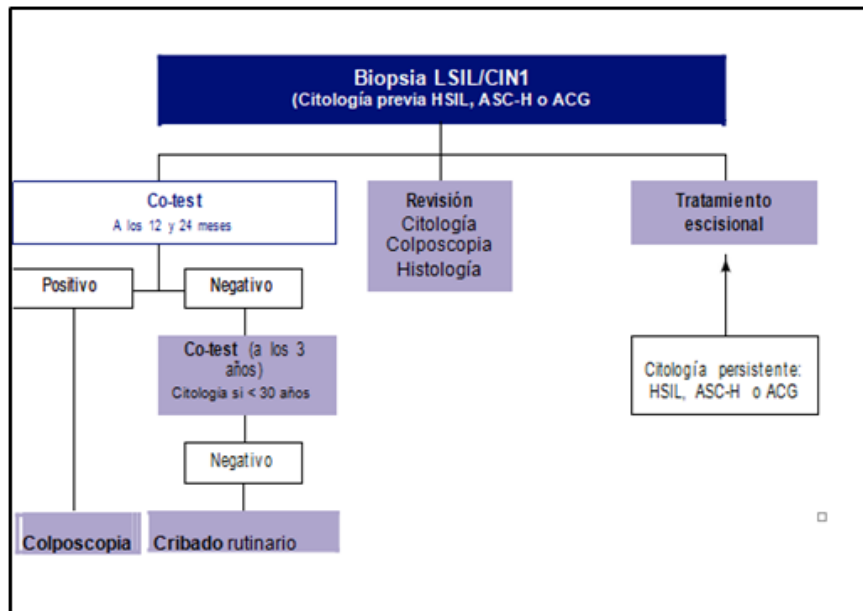


FIGURA 54. Algoritmo Conducta ante Biopsia LSIL/CIN 1 (Citología previa HSIL, ASC-H o ACG). Obtenida de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014.

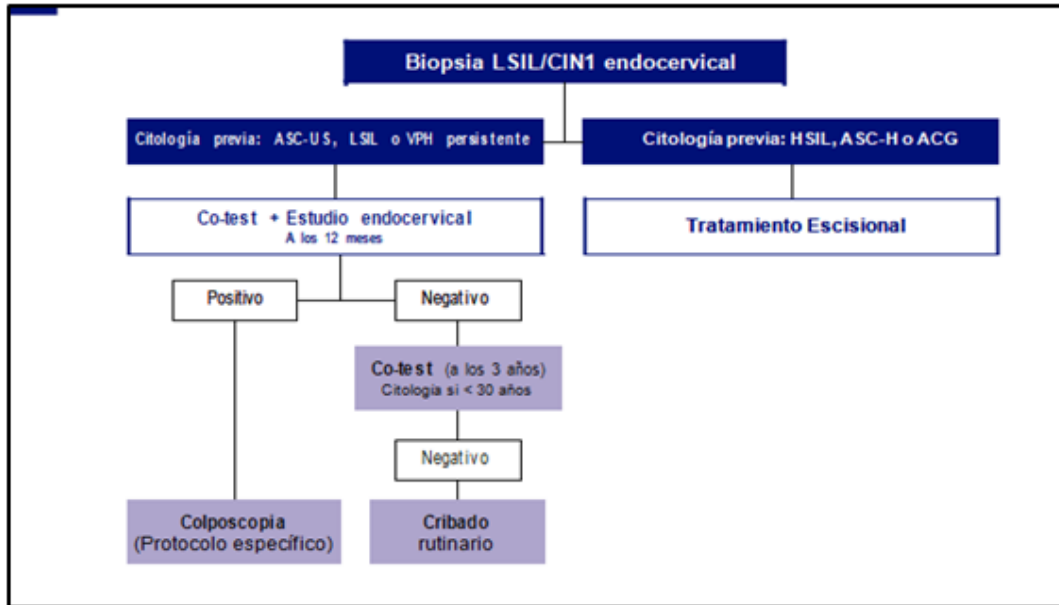


FIGURA 55. Algoritmo Conducta ante Biopsia LSIL/CIN 1 endocervical. Obtenida de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014.

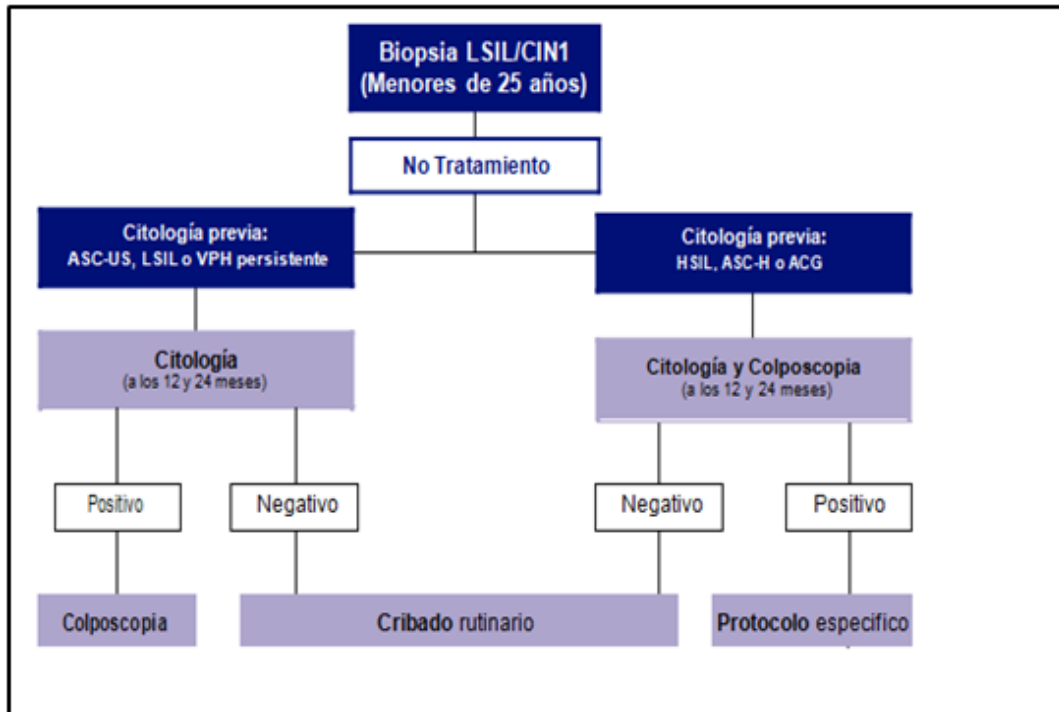


FIGURA 56. Algoritmo Conducta ante Biopsia LSIL/CIN en menores de 25 años. Obtenida de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014.

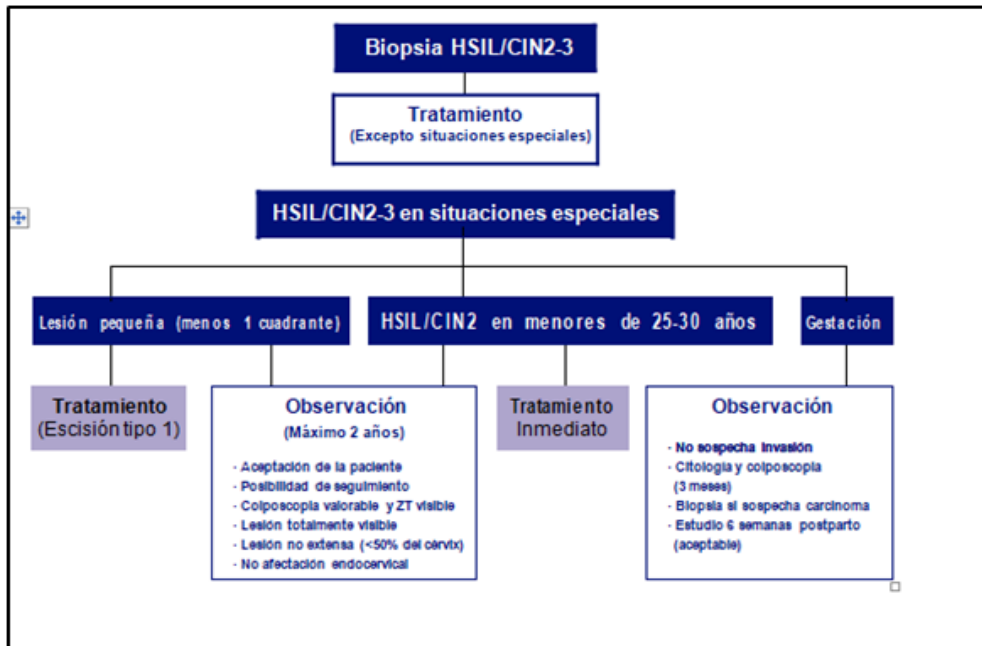


FIGURA 57. Algoritmo Conducta ante Biopsia HSIL/CIN 2-3. Obtenida de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014.

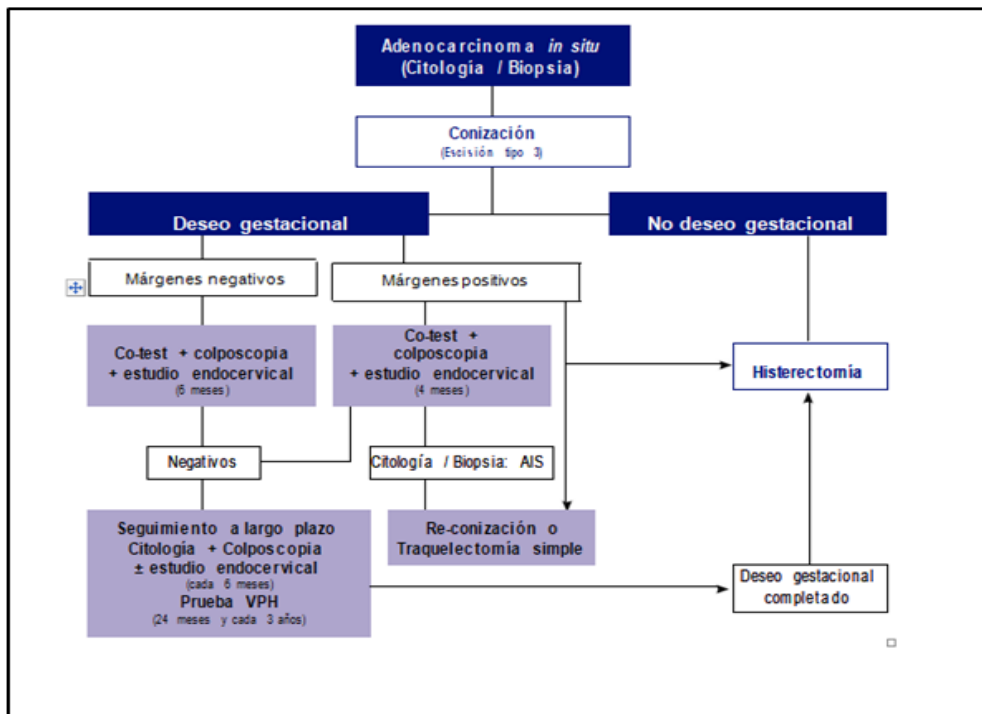


FIGURA 58. Algoritmo Conducta ante Adenocarcinoma in situ (Citología/Biopsia). Obtenida de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014.

1.6.5. Cribado y vacunación

Teniendo en cuenta la implementación de programas de vacunación con buena cobertura, se plantea la modificación del cribado en la población vacunada. En efecto, la citología es una prueba poco eficiente en un entorno de baja prevalencia de la enfermedad. Por este motivo, un test de detección de ADN-VPV se considera de elección para el cribado y selección posterior con citología en los casos positivos (Wright et al., 2006).

Aunque no existe todavía consenso para prescindir del cribado, una opción en la práctica clínica podría ser iniciarlo en las mujeres vacunadas a partir de los 30 años (figura 59).

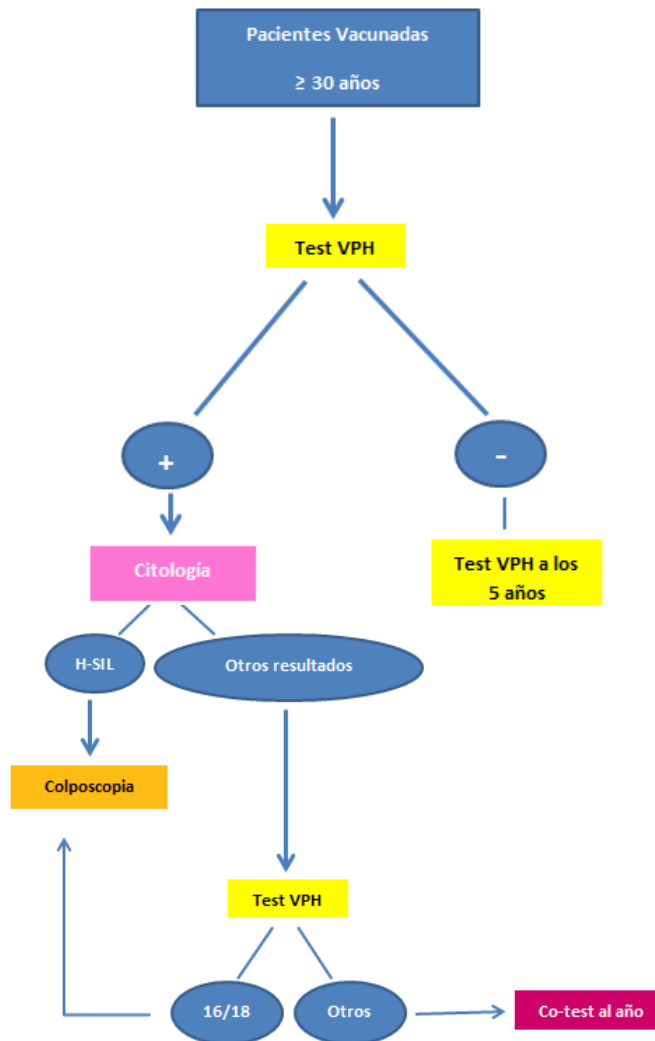


FIGURA 59. Protocolo de Cribado en mujeres vacunadas. Modificado de Cortés et al., 2010.

1.7. TRATAMIENTO DE LAS LESIONES PREMALIGNAS

El tratamiento de la neoplasia cervical intraepitelial (CIN) ocupa un lugar fundamental en la prevención del CCU.

Actualmente las opciones de tratamiento han evolucionado desde las intervenciones más agresivas, como la histerectomía o la conización-amputación, a técnicas más conservadoras, como la conización con asa de diatermia y control colposcópico en régimen ambulatorio.

Existen diversos tipos de tratamiento, que se dividen en destructivos y escisionales. No se han visto diferencias significativas en cuanto al resultado de eficacia entre las diferentes técnicas destructivas o ablativas (Martin-Hirsch et al., 2010). En general, se acepta que para un resultado óptimo de erradicación, mediante métodos destructivos o escisionales, es preciso alcanzar una profundidad de 6-8 mm (Guido et al., 2003).

1.7.1. Tratamientos destructivos

Se caracterizan por producir una ablación o destrucción física de la lesión y su mayor inconveniente es el no poder obtener tejido para estudio histológico. Es imprescindible tener previamente una biopsia que excluya carcinoma infiltrante y que la lesión sea totalmente visible (colposcopia adecuada).

1.7.1.1. Criocoagulación

Consiste en la destrucción de los tejidos mediante congelación con óxido nítrico o dióxido de carbono. Es un método indoloro, sencillo y de bajo coste. Se suele emplear en lesiones poco extensas y de bajo grado (Hatch et al., 1981).

1.7.1.2. Vaporización Láser CO₂

Se realiza con anestesia local y bajo control colposcópico. Es la mejor opción en lesiones extensas, con afectación vaginal y de difícil acceso. Presenta una excelente reparación anatómica (Jordan et al., 1985).

1.7.2. Tratamientos escisionales

Consisten en la extirpación completa de la lesión con la obtención de una pieza de tejido para estudio histopatológico, que permitirá por una parte descartar la presencia de un cáncer infiltrante y por otra estudiar los márgenes de la pieza, para confirmar si la lesión se ha extirpado de manera completa. El procedimiento recibe el nombre de **conización**, por obtener una pieza en forma de “cono”, cuya base es el tejido exocervical y el vértice el canal endocervical. En general, la escisión debe adaptarse al tamaño y características lesionales. Se distinguen 3 tipos de escisión según la presencia de componente endocervical de la lesión:

- Escisión tipo 1 (aplicable en casos con zona de transformación 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 zonas de transformación tipo 2, implica reseca una pequeña parte de canal endocervical visible mediante colposcopia).
- Escisión tipo 3 (indicada en zonas de transformación tipo 3, incluye parte de epitelio endocervical).

1.7.2.1. Conización con bisturí frío

Ha sido la técnica clásicamente utilizada hasta hace unos años. Requería anestesia general o regional y hospitalización, con mayor riesgo de hemorragia, estenosis, infertilidad, prematuridad, distorsión anatómica y dificultad en el seguimiento. Actualmente ha quedado relegada al tratamiento de las lesiones glandulares que requieren la exéresis de mayor porción de canal endocervical.

1.7.2.2. Conización con láser de CO₂

Se realiza de forma ambulatoria con anestesia local, un agente vasoconstrictor y control colposcópico. Permite un diseño del tamaño del cono individualizado, según el tamaño del cuello y la localización de la lesión y una regeneración excelente para el posterior seguimiento.

1.7.2.3. Conización con asa de diatermia (LLETZ/LEEP)

La escisión con asa de diatermia fue diseñada por Cartier (1984), para la práctica de biopsias con fines diagnósticos. Posteriormente, Prendiville (1989)

difundió la técnica con finalidad terapéutica al incorporar asas de mayor tamaño que permiten la exéreis completa de toda la zona de transformación (Prendiville et al., 1989), (figura 60). Mientras que en Europa la técnica se conoce como LLETZ (*Large Loop Excision of the Transformation Zone*), en Estados Unidos se utilizan las siglas LEEP (*Loop Electrical Excision Procedure*). La técnica consiste en la exéresis de toda la zona de transformación, incluyendo la totalidad de la lesión, mediante un asa de alambre de tamaño adecuado conectada a un generador de corriente de alta frecuencia. Se recomienda eliminar la lesión en un sólo fragmento, para evitar errores de interpretación (figura 62). Tiene la ventaja de ser un método rápido, de fácil aprendizaje, ambulatorio y económico, con adecuada recuperación anatómica del cuello (figura 63). Al igual que la conización con láser, se asocia a un potencial daño térmico en los márgenes de resección que puede dificultar su evaluación histológica y que es dependiente de la experiencia del cirujano y de la utilización de un equipo adecuado.

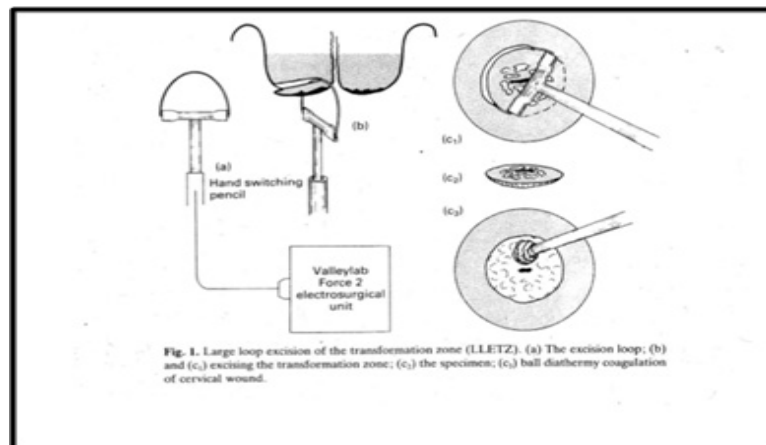


FIGURA 60. Técnica del LLETZ. Obtenida de Prendiville et al., 1989



FIGURA 61. Distintos tamaños de asas de diatermia para LEEP. Obtenida de http://www.eymsa.mx/system/product_images/prod_imgs/000/000/065/original/P1020994.JPG?1459798838

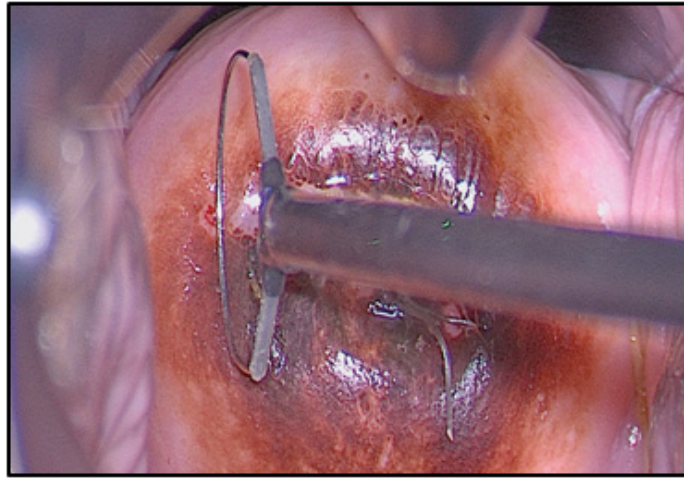


FIGURA 62. Técnica de conización con asa de diatermia. Obtenida de https://www.karlstorz.com/static/file_pics/pic_editorial/es/HM_GYN/3438453_rdx_80.jpg



FIGURA 63. Resultado inmediato tras conización con asa de diatermia. Obtenida de <https://i.ytimg.com/vi/ISbwTUqMjo/hqdefault.jpg>

1.7.2.4. Conización bajo control colposcópico

La conización con asa de diatermia (LLETZ) parece estar relacionada con un aumento de riesgo para parto pretérmino (Jin et al., 2014). Dado que la maternidad se tiende a postponer y la elevada frecuencia del tratamiento de la CIN, es primordial reducir la morbilidad asociada (Prendiville, 2009). El volumen y el espesor de la escisión y de la pieza quirúrgica abierta son predictores de mayor riesgo de complicaciones obstétricas (Khalid et al., 2012). En concreto, parece que

el riesgo de parto prematuro aumenta sólo si el espesor de la escisión excede los 10 mm (Noehr et al., 2009). Estudios recientes sugieren que un volumen escindido mayor de 6 cm³ aumentaría 3 veces el riesgo de parto prematuro (Khalid et al., 2012). Por ese motivo, debemos conseguir minimizar el volumen y el espesor en las piezas de conización, sin disminuir la eficacia del tratamiento (Ghaem-Maghani et al., 2011).

El uso del colposcopio para guiar la LLETZ hace posible que el cirujano consiga volúmenes más pequeños en las piezas de conización asegurando márgenes libres (Preaubert et al., 2016). Las Guías Europeas aconsejan que la LLETZ se realice bajo visión colposcópica directa (Jordan et al., 2009).

1.7.3. Complicaciones de los tratamientos escisionales

Aunque son poco frecuentes, pueden aparecer a corto plazo (hemorragia e infección) o a largo plazo (estenosis cervical e incompetencia cervical).

1.7.3.1. Hemorragia

Es la complicación más frecuente; suele ocurrir en el transcurso de los primeros diez días. Generalmente se soluciona con medidas locales (nitrato de plata, solución de Monsel o taponamiento). Sólo en 1% requiere hospitalización y sutura hemostática.

1.7.3.2. Infección

Es prácticamente inexistente, por lo que no es necesario realizar profilaxis antibiótica (Chan et al., 2007).

1.7.3.3. Estenosis cervical

Se define como la imposibilidad de paso de una sonda de 3 mm por el orificio cervical externo. Su incidencia oscila entre 1.3-5.2% de todas las conizaciones. El síntoma principal es la dismenorrea, que puede ser tratada con éxito mediante dilatación cervical o requerir, en el peor de los casos, la práctica de una histerectomía, secundaria a un hematómetra recidivante. Las situaciones que pueden favorecer la estenosis son las escisiones amplias y profundas, daño térmico excesivo y la menopausia. En efecto, las mujeres postmenopáusicas presentan un

mayor riesgo de estenosis, por lo que en ellas podría ser aconsejable el tratamiento con estrógenos (Penna et al., 2005).

1.7.3.4. *Riesgo reproductivo*

Entre los efectos negativos de la conización sobre los embarazos posteriores se han descrito el parto prematuro, bajo peso al nacer y rotura prematura de membranas (Bruisma et al., 2007), complicaciones relacionadas con la incompetencia cervical secundaria a la lesión quirúrgica del orificio cervical interno (Sadler et al., 2007; Kyrgiou et al., 2006).

La conización con bisturí frío se ha reconocido como la que presenta mayor riesgo de complicaciones, por escindir mayor volumen de tejido y profundidad del canal endocervical. Las conizaciones con una profundidad superior a 1.5 cm se han asociado con un mayor riesgo. El riesgo se incrementa un 20% por cada mm de profundidad (Gentry et al., 2000; Nohr B et al., 2007). Este riesgo aumenta en los casos de reconización, de ello radica la recomendación de evitar repetir el procedimiento en casos de mujeres jóvenes en edad reproductiva (Heinonen et al., 2013).

1.7.4. **Seguimiento postconización**

Aunque se realice el tratamiento oportuno en los casos de CIN, los casos de enfermedad recurrente presentan una tasa del 5-15% para las diferentes técnicas (Kyrgiou et al., 2006). El tiempo medio de recurrencia es de 9-10 meses aproximadamente, con un rango de 3-23 meses (Carter et al., 2006). La prevención de la recurrencia tiene repercusión sobre el porvenir genésico de la paciente, pues al tratarse de mujeres jóvenes, una segunda conización se asocia con un riesgo dos veces mayor de parto prematuro (Jakobsson et al., 2009).

El principal objetivo del seguimiento de las pacientes tratadas por una CIN es el diagnóstico precoz de **enfermedad residual o recurrente** y evitar el riesgo de progresión a una lesión invasora. Se entiende por enfermedad residual aquella lesión que se pone de manifiesto en cualquiera de los controles realizados en los primeros 12 meses después del tratamiento y como enfermedad recurrente la que se presenta después de los 12 meses, habiendo sido en este tiempo negativas tanto la citología como la colposcopia (Oncoguía SEGO, 2014).

Es importante realizar un seguimiento a largo plazo a todas las pacientes tratadas de una CIN, independientemente del grado y del método terapéutico utilizado. Estas pacientes presentan un riesgo de desarrollar un cáncer invasor cinco veces mayor que la población general y éste puede aparecer 10-20 años después del tratamiento. (Soutter et al., 2006).

Se han propuesto diferentes protocolos de seguimiento postratamiento que incluyen combinaciones de citología, test de VPH y colposcopia, realizados en intervalos variables de tiempo.

Tras la conización en más del 50% de las pacientes se produce el aclaramiento de VPH (Elfgren et al., 2002). La persistencia de VPH postratamiento se considera el factor más importante de recidiva (Walboomers et al., 1999). En las últimas publicaciones, hay una fuerte evidencia de que el test VPH postratamiento con LEEP puede predecir la probabilidad de enfermedad persistente o recurrente (Paraskevaïdis et al., 2001; Chua et al., 1997). El test VPH a los 6 meses de la conización puede ser un marcador de enfermedad recurrente con mayor sensibilidad y similar especificidad que la citología (Kocken et al., 2012).

Existen otros factores que se han asociado con un mayor riesgo de persistencia/recurrencia, como la afectación de márgenes quirúrgicos (Robinson et al., 1998), inmunosupresión (Skinner et al., 2004) y edad avanzada de la paciente (Verguts et al., 2006). Sin embargo, la presencia de márgenes de resección afectados (escisión incompleta), no es sinónimo de lesión residual, como se demuestra por la baja proporción de pacientes con márgenes afectados que presentan lesión residual en la histerectomía posterior (Murdoch et al., 1992). Aproximadamente un 60 % de las pacientes con márgenes positivos no presentan lesión en el seguimiento. Tanto el efecto térmico del LEEP como la reacción inflamatoria del tejido se han postulado como posibles causas de este fenómeno. Por tanto, en caso de márgenes afectados se aconseja citología, test de VPH y biopsia endocervical a los 4 meses del tratamiento y segunda conización en caso de persistencia o recurrencia. En caso de mujeres mayores de 50 años con afectación de margen endocervical, se acepta un tratamiento inmediato (reconización o histerectomía), en lugar de seguimiento, ya que se considera un grupo de alto riesgo de recurrencia.

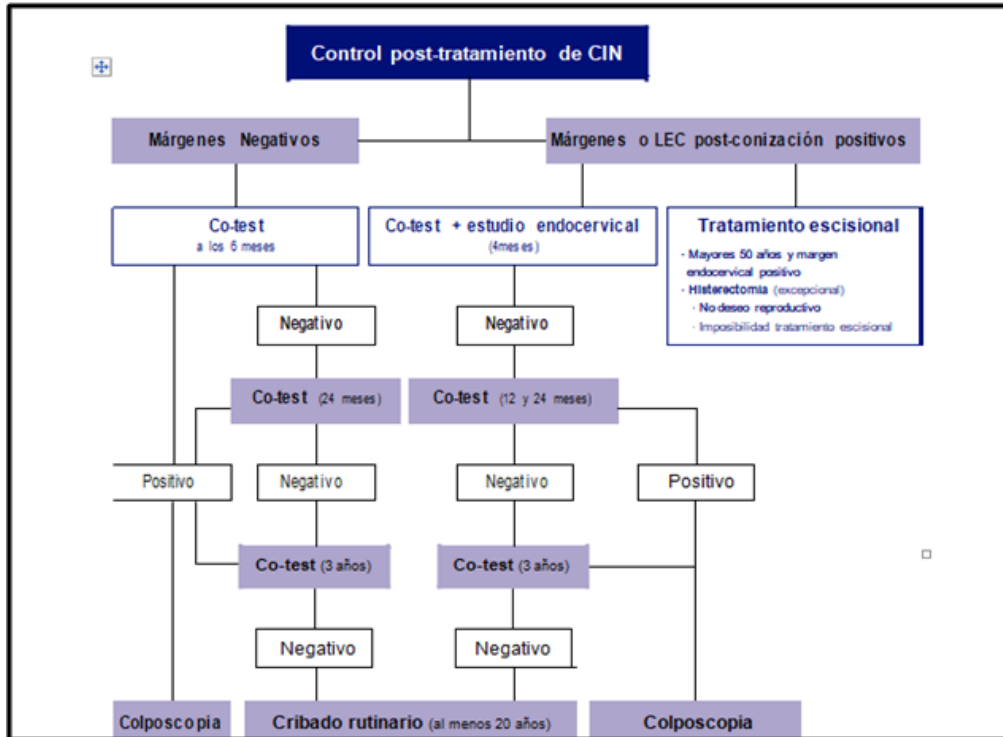


FIGURA 64. Protocolo de control postratamiento de CIN. Obtenido de Oncoguía SEGO. Prevención del Cáncer de Cuello uterino, 2014.

1.8. NUEVAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN: VACUNAS TERAPÉUTICAS

1.8.1. Introducción

En 2006, la FDA (*Food and Drug Administration*) aprobó la primera vacuna profiláctica contra el VPH. Las vacunas frente al VPH han reducido la prevalencia de la infección por VPH y la enfermedad relacionada con dicha infección, incluidas las verrugas genitales, la neoplasia cervical intraepitelial y el cáncer cervical (Garland et al., 2016a, b; Bosch et al., 2016). Sin embargo, son vacunas profilácticas y no eliminan las infecciones establecidas ya que sus antígenos diana, proteínas de la cápsida L1, no se expresan en células epiteliales basales infectadas. Además, el alto coste de estas vacunas las pone fuera del alcance de los países en vías de desarrollo. Por lo tanto, se requieren vacunas terapéuticas que desencadenen respuestas inmunitarias mediadas por células para el tratamiento de infecciones y tumores malignos establecidos (Chabeda et al., 2018). Actualmente no hay vacunas terapéuticas contra el VPH aprobadas para su uso en humanos, aunque varios

ensayos de fase I y II han probado la eficacia in vitro e in vivo de las vacunas terapéuticas.

1.8.2. Concepto

Se ha observado que el aclaramiento espontáneo y la progresión lenta de las infecciones por VPH se asocian con una respuesta inmune mediada por células que implica principalmente células T-helper tipo 1 y células T citotóxicas derivadas de las células T CD4 + y CD8 +, respectivamente (van der Burg et al., 2011).

Las vacunas terapéuticas tienen como objetivo tratar las infecciones y lesiones por VPH preexistentes, estimulando la respuesta de las células dendríticas y linfocitos T contra los antígenos tumorales (Lin et al., 2010; Morrow et al., 2013).

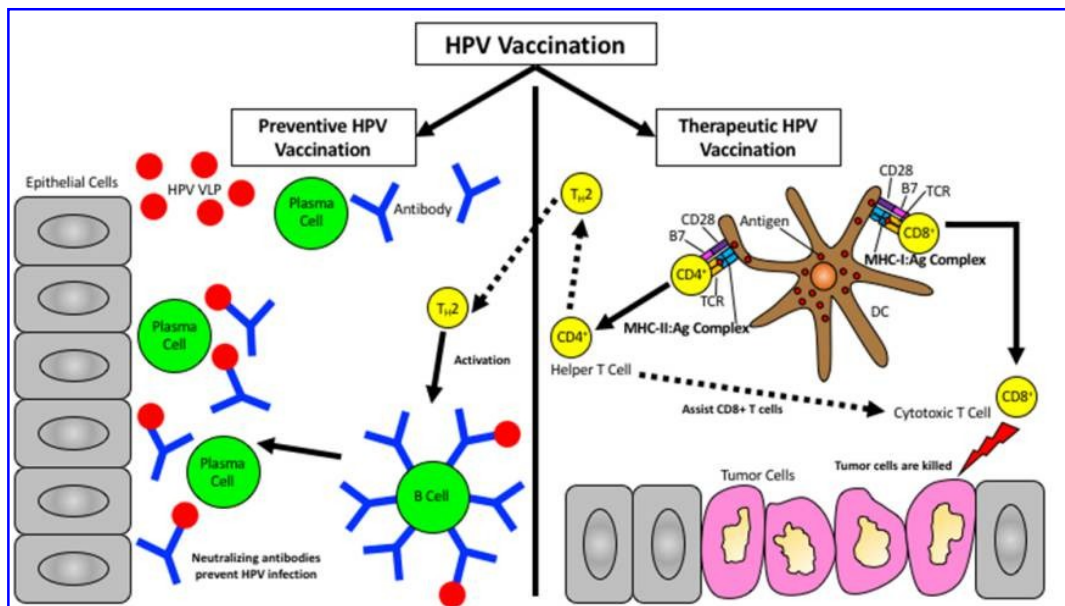


FIGURA 65. Diferencias en cuanto a inmunidad de las vacunas VPH preventivas y terapéuticas. Obtenido de *Therapeutic DNA Vaccines for Human Papillomavirus and Associated Diseases* (Cheng MA et al., 2017).

Las oncoproteínas E6 y E7 provenientes de los VPH-AR actúan sobre dos reguladores esenciales del ciclo celular, las proteínas p53 y Rb, a favor de replicar su genoma e impedir la muerte celular programada de la célula infectada (Munger et al., 2001).

Por este motivo, las oncoproteínas E6 y E7 representan el objetivo ideal para el desarrollo de las vacunas terapéuticas, debido a su papel en la interrupción del ciclo celular y su expresión constitutiva en tejidos premalignos y malignos (zur Hausen, 2012). Ambas oncoproteínas, al ser foráneas, les permite sortear algunos de los problemas comúnmente asociados a las vacunas contra el cáncer, como la tolerancia inmunitaria (Tatti et al., 2017). Otras proteínas útiles para atacar las infecciones virales tempranas son E1 (helicasa viral) y E2 que se expresan en niveles más altos que E6 y E7 en etapas muy tempranas antes de la integración del genoma viral (Yang et al., 2016).

Hasta la fecha se han desarrollado diversas vacunas prometedoras, entre las cuales varias han alcanzado las etapas de ensayos clínicos avanzados, fase II (tabla 9).

TABLA 9. Vacunas terapéuticas en ensayos clínicos Fase II. Obtenida de Tatti et al., 2017. Enfoque integral de las Patologías relacionadas con el VPH. Editorial Panamericana

| TIPO DE VACUNA | ANTÍGENO |
|----------------|---|
| Proteína | Proteína de fusión: E7 de HPV 16/18 adenilato ciclasa (ProCervix) |
| Proteína | Proteína de fusión: E6-E7-L2 de HPV 16 (TA-CIN) |
| Proteína | Proteína de fusión: E7 de HPV 16-Hsp65 (HspE7) |
| Péptido | Péptidos largos superpuestos de E6(9 péptidos) y E7 (4 péptidos) de HPV 16 (HPV 16-SLP) |
| Péptido | Péptidos E6 ₁₁₋₂₀ , E7 ₈₉₋₉₃ , epítipo pan DR para inducción de linfocitos T |
| DNA | Plásmido que codifica fragmentos de E6 y E7 de HPV 16/18 formulado con pequeñas partículas biodegradables (ZYC101a) |
| DNA | Virus vacunal recombinante que codifica proteína de fusión E6-E7 de HPV 16/18 |
| Vectores vivos | Virus vacunal recombinante que codifica para las proteínas E6 y E7 de HPV16 y IL-2 como adyuvante (MVA-HPV-IL-2) |
| Vectores vivos | |
| Vectores vivos | Bacteria <i>Listeria monocytogenes</i> recombinante que secreta proteína de fusión E7 de HPV 16 (ADXS11-001) |

1.8.3. Vacunas Terapéuticas contra el VPH: Principales Estrategias

1.8.3.1. Vacunas terapéuticas basadas en proteínas recombinantes

Debido a la preocupación acerca de la utilización de oncogenes en seres humanos, la mayoría de estudios han empleado versiones mutadas de las proteínas E6 y E7, con el fin de eliminar la unión a p53 y Rb, respectivamente. Por su escasa inmunogenicidad, es necesario el uso de adyuvantes y transportadores (*carriers*) inmunógenos. Otro aspecto de estas vacunas es que las proteínas administradas exógenamente suelen tener una mejor respuesta a anticuerpos que a células T. Por este motivo, las denominadas proteínas de choque térmico (*heat shock proteins*) o ciertas toxinas han sido extensamente empleadas con el fin de aumentar la presentación antigénica e inducir una mayor respuesta citotóxica (Liu et al., 2008).

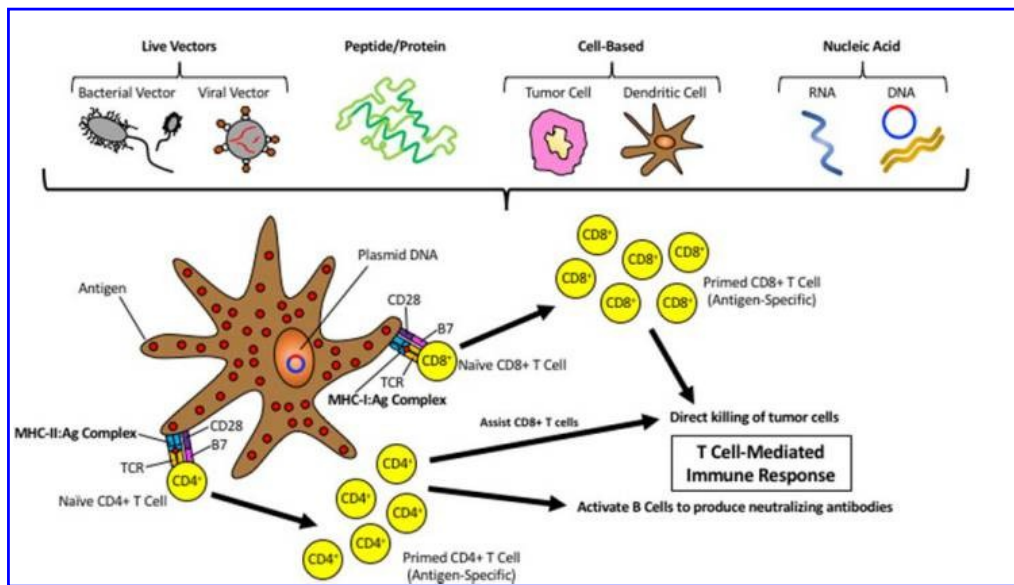


FIGURA 66. Mecanismos de formulación y actuación de las vacunas terapéuticas VPH. Obtenida de *Therapeutic DNA Vaccines for Human Papillomavirus and Associated Diseases* (Cheng et al., 2017).

1.8.3.2. Vacunas terapéuticas basadas en péptidos sintéticos

Son vacunas estables y sencillas de conseguir, constituidas por secuencias homólogas a determinados epítomos de las secuencias virales. Sin embargo, igual que las vacunas basadas en proteínas virales, poseen baja inmunogenicidad y requieren el uso de adyuvantes. Recientemente se han desarrollado estrategias

utilizando péptidos largos superpuestos de las proteínas E6 y E7 de VPH para mejorar su eficacia (de Vos van Steenwijk et al., 2014; Welters et al., 2008).

Una limitación importante es que son vacunas MHC (Complejo Mayor de Histocompatibilidad) específicas.

1.8.3.3. Vacunas con DNA

Las vacunas con DNA consisten en plásmidos “desnudos” (no empaquetados en vectores) que están diseñados para expresar proteínas o péptidos antigénicos de VPH; incluso pueden contener múltiples genes que permiten ser combinados para estimular los linfocitos T CD4+ y CD8+, como también la respuesta humoral.

Tienen la ventaja de producir un antígeno “no vivo” en las células presentadoras de antígeno por un período más prolongado, en comparación con vacunas basadas en proteínas. Además no se genera autoinmunidad antivector, como ocurre en las vacunas con vectores vivos.

Sin embargo, estas vacunas son poco inmunógenas debido a que el DNA no tiene la capacidad de replicarse en la célula huésped o de diseminarse de una célula transfectada a células vecinas *in vivo*. Entre las estrategias que se han empleado para aumentar la inmunogenicidad es el uso de la biolística (*gene gun*). La biolística se vale de partículas de oro recubiertas con DNA que se “disparan” en la epidermis para introducir el DNA de manera eficaz en las células dendríticas intradérmicas, las que posteriormente maduran y migran a los órganos linfoides para activar los linfocitos T. Con el uso de esta técnica se ha logrado aumentar la población de células dendríticas que expresan el antígeno de interés y de ese modo aumentar la potencia de la vacuna (Monie et al., 2009).

1.8.3.4. Vacunas basadas en Vectores Vivos

Son vacunas formuladas a base de vectores bacterianos o víricos recombinantes que pueden replicarse dentro de las células del huésped, facilitando la diseminación de antígenos. Altamente inmunógenas ya que el vector se replica de célula a célula. Uno de los aspectos adversos es que el huésped genera anticuerpos neutralizantes contra los vectores, que pueden reducir la potencia en sucesivas inmunizaciones (Tomson et al., 2004).

➤ Vectores bacterianos

Las especies de vectores bacterianos incluyen *Listeria monocytogenes*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus lactis* y *Salmonella*. *L. monocytogenes* (Lm) es de particular interés para el desarrollo de vacunas ya que puede actuar como un adyuvante natural. Un ensayo clínico de fase I de una vacuna basada en E7 llamada Lm-LLO-E7 en 15 pacientes con cáncer cervical metastásico o avanzado, mostró un aumento en células T IFN γ + específicas de E7 en 3 pacientes y una reducción del tamaño tumoral en 4 pacientes (Maciag et al., 2007). La administración oral de una vacuna de vector bacteriana *L. casei* GBL101c, que expresa un HPV-16 E7 modificado, se probó recientemente en un ensayo clínico de fase I / IIa en 17 pacientes con HPV16 + CIN3. Hubo un aumento significativo en la inmunidad mediada por células E7, con 9 pacientes que mostraron regresión a CIN2, y 5 experimentaron regresión a LSIL (Kawana et al., 2014).

➤ Vectores virales

La eficacia de los vectores virales, como los adenovirus, los alfavirus, la viruela aviar y los vaccinia virus, se ha investigado en modelos preclínicos (Hung et al., 2008; Skeate et al., 2016; Monahan et al., 1999).

En ensayos clínicos, los vectores del *virus vaccinia Ankara modificado* (MVA) que expresan HPV 16/18 E6/E7 mostraron respuestas celulares específicas del VPH en 28% de los pacientes con cáncer cervical avanzado en una fase I / II y al menos un 40% de reducción en las lesiones en el 83% de los pacientes con neoplasia intraepitelial vaginal de alto grado en un estudio de fase II (Baldwin et al., 2003).

Más recientemente, se ha demostrado que una vacuna basada en HPV-16 E2 (MVA E2) tiene un 90% de eficacia en el tratamiento de lesiones intraepiteliales anogenitales inducidas por HPV en un estudio de fase III en 1356 pacientes. E2 es un inhibidor de proteínas para la expresión de E6 y E7. Por lo tanto, la vacunación con E2 puede suprimir la actividad de E6 y E7 en el huésped infectado, reduciendo la capacidad de transformación de las células infectadas y la supervivencia de las células tumorales (Rosales et al., 2014).

1.8.3.5. *Vacunas basadas en células*

Implican el aislamiento de células dendríticas o linfocitos T, manipulación ex vivo y la transferencia al paciente.

➤ **Vacunas basadas en células dendríticas**

Las células dendríticas son las principales células presentadoras de antígenos por su capacidad de fagocitar, procesar y presentar antígenos de forma óptima a linfocitos T, y generar respuestas inmunes específicas. Se han realizado varios estudios al respecto, objetivándose respuestas inmunes específicas. No obstante estas vacunas presentan algunas limitaciones; necesidad de cultivar células suficientes para cada individuo, vida útil limitada... además el manejo de células humanas ex vivo requiere de una alta competencia técnica con costes muy elevados (Lin et al., 2010; Morrow et al., 2013).

➤ **Transferencia de células adoptivas**

Implica la elaboración de Linfocitos T citotóxicos antígeno específicos ex vivo. Un estudio piloto en 9 pacientes con cáncer cervical metastásico mostró una regresión completa en 2 pacientes después del tratamiento con HPV-16 E6 y E7 CTL reactivas (Stevanović et al., 2015).

1.8.3.6. *Combinación de diferentes estrategias terapéuticas*

- **Inmunomoduladores:** influyen en el microambiente tumoral, pueden aumentar el éxito de las vacunas terapéuticas (Chabeda et al., 2017).
- **Inhibidores del punto de control:** Los inhibidores del punto de control inmune interrumpen la señalización celular que evita que las células cancerosas escapen a la muerte mediada por células T (Dine et al., 2017; La-Beck et al., 2015). PD1 y Antígeno-4 asociado al Linfocito T citotóxico (CTLA-4) son receptores de punto de control expresados en la superficie de linfocitos T citotóxicos que interactúan con PD-L1 y CD80/CD86 (Callahan et al., 2015).

Un estudio de fase I que prueba Ipilimumab, un anticuerpo monoclonal anti-CTLA-4, junto con la terapia de quimiorradioterapia se está probando

en pacientes con cáncer de cuello uterino avanzado. También se está evaluando en un ensayo de fase II en pacientes con cáncer cervical metastásico o recidivante (Chabeda et al., 2017).

- **Inmunoestimulantes no específicos:** Los agonistas de los receptores tipo Toll son inmunopotenciadores que han demostrado un aumento de la activación de las respuestas mediadas por células y aclaramiento viral (Shen et al., 2015).
- **Asociación de vacunas terapéuticas a otras terapias (quimioterapia/radioterapia)** (Chabeda et al., 2017).
- **Combinación de vacunas profilácticas y terapéuticas:** Las proteínas quiméricas y los pseudoviriones que administran una vacuna de ADN son estrategias actuales para producir vacunas combinadas (Chabeda et al., 2017).

Un estudio clínico en 39 mujeres con CIN 2/3 mostró que la vacunación con proteínas quiméricas L1: E7 indujo altos títulos de anticuerpos anti-L1 además de respuestas inmunes celulares a L1 y E7. Se observó mejoría en CIN 1 o tejido normal en 39% de los pacientes en comparación con 25% en el grupo placebo, con 56% de pacientes con ADN negativo para HPV-16 al final de la prueba. Sin embargo, la eficacia clínica no fue significativa (Kaufmann et al., 2007).

1.8.3.7. *Perspectivas Futuras*

Con el avance alcanzado hasta el momento y los numerosos ensayos clínicos que se encuentran actualmente en marcha, se espera disponer pronto en el mercado de una vacuna terapéutica frente al virus del papiloma humano. Sin embargo el elevado coste derivado de la elaboración implicaría un difícil acceso para las poblaciones de los países en desarrollo donde además la prevalencia de infección es más alta. Las plantas representan una plataforma de producción alternativa atractiva. Se ha estimado que podría haber una reducción de más del 50% mediante el uso de plantas para la producción de vacunas (Nandi et al., 2016). Aunque no se ha llegado a ensayos clínico en humanos con vacunas frente a VPH de origen vegetal hay varias estrategias terapéuticas que ya han demostrado desencadenar respuestas inmunes específicas mediadas por células que dan como resultado la regresión del tumor en estudios con animales (Bogani et al., 2017; Chabeda et al., 2017).

II. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

Las vacunas profilácticas frente al VPH han demostrado, después de 10 años, su eficacia en reducir la infección por VPH y la enfermedad relacionada con dicha infección, sobre todo en pacientes menores de 26 años sin exposición viral (Paavonen et al., 2007; Herrero et al., 2008; Garland et al., 2007). Asimismo, se ha comprobado una fuerte y persistente respuesta inmunitaria también en pacientes mayores de 26 años (Schwarz et al., 2009).

Su reciente indicación en mujeres tratadas por lesiones cervicales premalignas, relacionadas con el VPH, surge tras analizar que tras cualquier método de tratamiento escisional existe un riesgo potencial de recurrencia (Martin-Hirsch et al., 2013; Rebolj et al., 2012), así como de desarrollar cáncer de cérvix hasta 20 años después del tratamiento (Soutter et al., 2006). Además teniendo en cuenta que la mayoría de estas pacientes son jóvenes y aún no han finalizado su deseo reproductivo, una segunda conización debería ser evitada, por el riesgo de complicaciones obstétricas (Heinonen et al., 2013). El efecto protector de la vacunación en relación a recurrencia de lesiones tras el tratamiento podría ir asociado a su mecanismo inmunoprotector frente a nuevas infecciones VPH.

La Región de Murcia ha sido pionera en España, desde abril de 2014 en un proyecto de vacunación financiada en pacientes conizadas con unas tasa de cobertura del 85%, sin registrarse ninguna reacción adversa grave (Pérez-Martín et al., 2014).

Una vez revisada la bibliografía, a favor del efecto protector de la vacuna en cuanto a reducción en la recurrencia de enfermedad premaligna en pacientes tratadas (Joura et al., 2012; Kang et al., 2013; Garland et al., 2016), y en contra (Hildesheim et al., 2016; Giannella et al., 2015), se plantea, con el presente trabajo, evaluar, en nuestra población de mujeres conizadas, la eficacia de la vacunación frente a VPH, en la prevención de nuevas infecciones VPH y/o lesiones CIN 2-3.

HIPÓTESIS: La vacunación frente al VPH disminuye la incidencia de CIN 2-3 residual/recurrente y/o la infección VPH después de la conización.

III. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO PRINCIPAL

Evaluar si la vacunación frente al VPH disminuye la incidencia de una nueva lesión premaligna residual/recurrente y/o la tasa de infección VPH en pacientes conizadas por CIN 2-3.

3.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Conocer si el estado de los márgenes del cono puede influir en el resultado de la vacunación, en relación a la tasa de lesión residual/recurrente y/o infección VPH tras la conización.
- Conocer si el tipo de VPH asociado a la primera lesión puede influir en el resultado de la vacunación, en relación a la tasa de lesión residual/recurrente y/o infección VPH tras la conización.

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio observacional, retrospectivo y de cohortes (vacunadas y no-vacunadas), que se llevó a cabo mediante revisión de historias clínicas digitalizadas de pacientes que habían sido sometidas a conización con asa de diatermia (LEEP), como tratamiento de lesiones premalignas de cuello uterino (CIN 2-3), en el Servicio de Obstetricia y Ginecología del Complejo Hospitalario Universitario de Cartagena (CHUC) entre Enero de 2011 y Mayo de 2015.

4.2. COMITÉ ÉTICO

Se realiza un estudio observacional, descriptivo y metodológico según la última Declaración de Helsinki de la Asamblea Médica Mundial (AMM) en la 64ª Asamblea General en Fortaleza (Brasil) en octubre de 2013, que propone unos principios éticos para investigación médica en seres humanos, incluida la investigación del material humano y de información identificables. Este estudio fue autorizado por el Comité Ético de Investigación Clínica del CHUC el 10 de Octubre de 2012 con el Código: EO 2012/10 MARGARITA.

4.3. ÁMBITO DEL ESTUDIO

El Complejo Hospitalario Universitario de Cartagena (CHUC) consta de dos hospitales, el Hospital General Universitario Santa Lucía (HGUSL) y el Hospital Universitario Santa María del Rosell (HUSMR). Según el Mapa Sanitario de la Región de Murcia (BORM 7 de Mayo de 2009), el CHUC es el Hospital de Referencia del Área II de Salud del Servicio Murciano de Salud (SMS), la más poblada de las 9 Áreas de Salud que configuran el SMS. A su vez el Área II se divide en cuatro municipios que en orden de población son: Cartagena, Mazarrón, La Unión y Fuente Álamo. Las pacientes del estudio constituyen un subgrupo de la población femenina del Área 2 que se derivaba, tras el hallazgo de citología anormal en el cribado, a la Consulta especializada de Patología Cervical del CHUC para su posterior estudio, confirmación histopatológica y tratamiento oportuno.

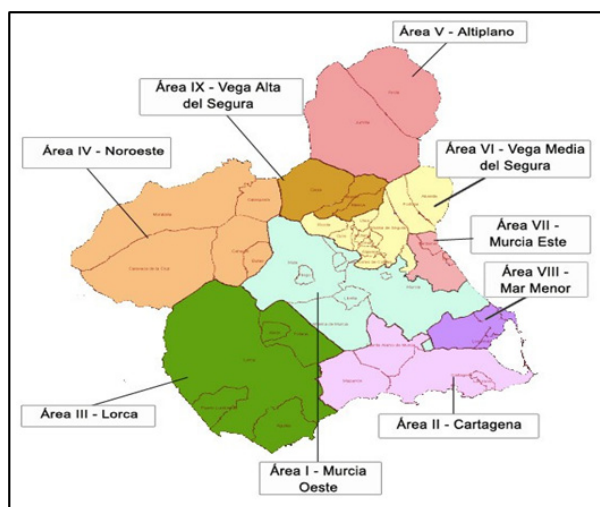


FIGURA 67. Mapa sanitario de la Región de Murcia. Obtenida de http://www.murciasalud.es/salud_mental.php?c=pagina&a=ver&iddoc=247314&idsec=898

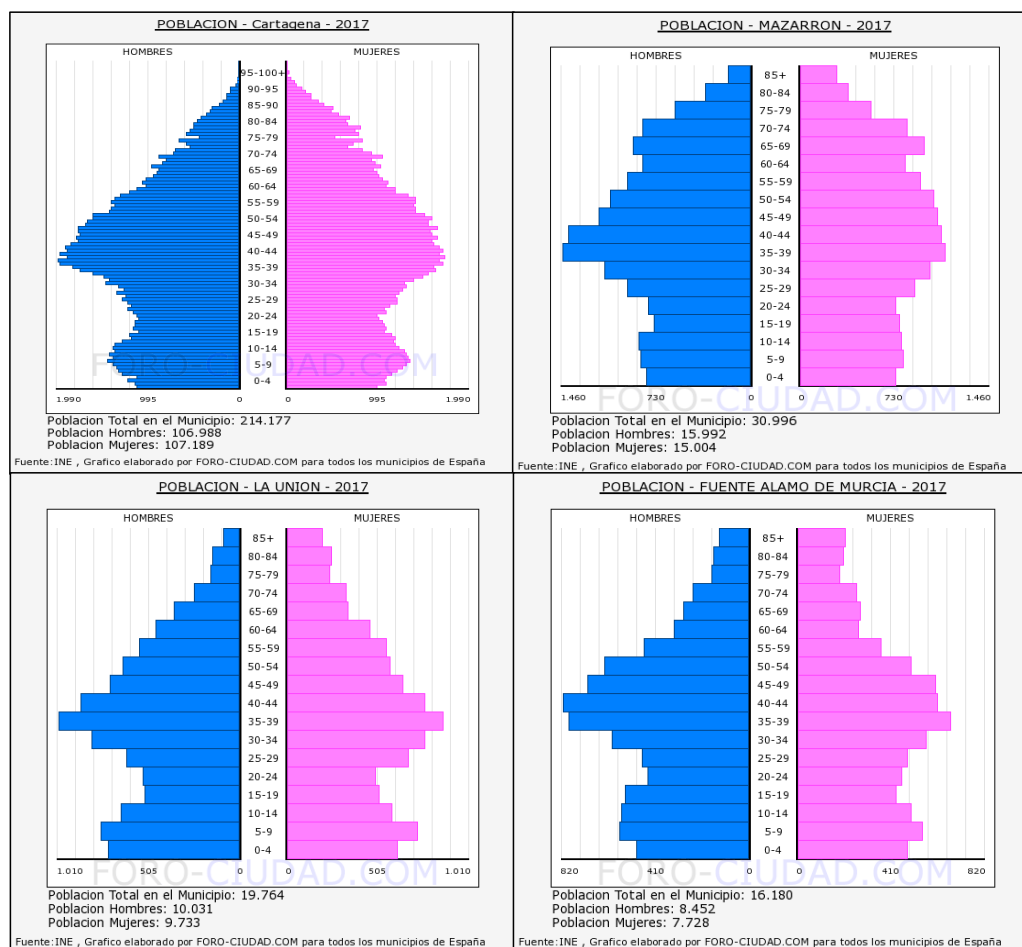


FIGURA 68. Pirámides de población de los cuatro municipios que engloban el Área 2 de Salud. Obtenida de <https://www.foro-ciudad.com/murcia/cartagena/habitantes.html>

4.4. POBLACIÓN DEL ESTUDIO

Las pacientes reclutadas para el estudio cumplían los siguientes criterios de elegibilidad:

➤ Criterios de inclusión:

1. CIN 2-3 histológicamente confirmado tras conización (LEEP).
2. Pacientes con determinación HPV pre-conización (método cobas® x480 de Roche y Anyplex II HPV 28 Detección, Ref. HP7500X de Seegene para genotipado).
3. Pacientes que no habían recibido la vacuna bivalente o tetravalente antes de desarrollar CIN.
4. Pacientes que se sometieron a un seguimiento durante un mínimo de 2 años.

➤ Criterios de exclusión:

1. Pacientes conizadas por CIN 1 persistente.
2. Pacientes hysterectomizadas por carcinoma infiltrante o persistencia de enfermedad CIN 2-3.
3. Pérdida durante el seguimiento.

4.5. PROTOCOLO DE ESTUDIO

De las 302 pacientes conizadas durante el período de estudio, una vez aplicados los criterios de exclusión, se obtuvieron un total de 252 pacientes, las cuales estaban diagnosticadas, mediante estudio histopatológico tras biopsia cervical, de CIN 2-3, por lo que se les había indicado conización cervical. Además se les había realizado historia clínica y anamnesis en el formulario específico de la Consulta de Patología Cervical formulario (anexo 1) y Test de VPH para identificar el genotipo de VPH-AR previo a la conización.

Hasta mayo de 2013 el tratamiento se realizaba en quirófano del HGUSL con asa de diatermia y anestesia regional o sedación. A partir de esta fecha, el tratamiento pasó a realizarse en ámbito ambulatorio en la Consulta de Conizaciones del HGUSMR mediante LEEP/LLETZ con anestesia local (anexos 2, 3 y 4). De este modo, evitábamos el ingreso hospitalario, siendo el procedimiento

muy bien tolerado, con idéntica tasa de curación y coste-efectividad rentable. En ambos casos se obtenía una pieza de conización que se referenciaba a las 12 horas acompañada de legrado endocervical, ambas muestras se fijaban en solución de formaldehído al 10% para estudio patológico. A todas las pacientes no vacunadas a las que se les indicaba la conización se les recomendaba indistintamente una de las dos vacunas frente a VPH comercializadas hasta la fecha (anexo 4). A las pacientes conizadas a partir de Abril de 2014 se le ofrecía, de manera gratuita, la vacuna bivalente (Cervarix®) posteriormente a la conización, dentro del programa de financiación de la vacuna frente al VPH, pionero en España, para las pacientes conizadas. De este modo, las pacientes fueron clasificadas en dos grupos: no-vacunadas y vacunadas, éstas últimas a su vez fueron subdivididas en dos subgrupos en función del tipo de vacuna recibido, bivalente (Cervarix®) o tetravalente (Gardasil®).

4.6. DEFINICIONES

Según los criterios de la SEGO (Guía de Prevención del Cáncer Cervical 2014) se define:

- **Enfermedad Residual:** diagnóstico histológico de CIN 2-3 en la biopsia dirigida por colposcopia o en la biopsia endocervical que aparece desde el 4º mes hasta antes del 12º mes postconización.
- **Enfermedad Recurrente:** diagnóstico histológico de CIN 2-3 en la biopsia dirigida por colposcopia o en la biopsia endocervical que aparece a partir del 12º mes postconización.

En ambos casos se ofrecía a la paciente la opción de Reconización o Histerectomía, esta última si había completado su deseo genésico o presentaba factores para dificultad de seguimiento.

Para el análisis estadístico, los resultados para la biopsia cervical durante el seguimiento se agruparon en

- negativos (normal, cervicitis o CIN I)
- positivos (CIN 2-3 o mayor grado de lesión).

Cualquier resultado positivo en biopsia cervical a lo largo del seguimiento, en cualquiera de las cuatro visitas semestrales, se consideraba "Presencia de Lesión Postconización tipo CIN 2-3" (Garland et al., 2016), a los efectos del

análisis estadístico, dada la dificultad para diferenciar entre enfermedad residual o recurrente, ya que se trata más de un criterio temporal y por las limitaciones propias de las pruebas diagnósticas (citología y test de VPH).

Para los resultados del test de VPH se distribuyeron los distintos genotipos de alto riesgo oncogénico en 2 grupos:

- VPH 16 y 18
- Otros genotipos de alto riesgo oncogénico

4.7. VARIABLES DEL ESTUDIO

Las variables sometidas a estudio estaban recogidas en las historias clínicas de las pacientes y posteriormente se pasaron codificadas a la tabla de recogida de datos en formato Excel y SPSS para el análisis estadístico.

Según la naturaleza de la variable y su posible relación con el objetivo principal (presencia de CIN 2-3 postconización), se pueden clasificar en los siguientes grupos:

4.7.1. Variables demográficas:

- Edad:
La edad de las pacientes oscilaba entre 18-65 años
- Nacionalidad:
Según el país de origen las pacientes se clasificaron en:
Españolas
Latinoamericanas
Marroquíes
Europa del Este

4.7.2. Variables relacionadas con los cofactores implicados en el desarrollo de lesión preneoplásica y cáncer cervical:

- Historia obstétrica :
Nulíparas /Multíparas
- Hábito tabáquico

- ACH (píldora , anillo o parche)
- DIU
- Uso de Preservativo
- Menopausia

4.7.3. Variables relacionadas con la vacunación frente a VPH

- Estado de vacunación:
No vacunadas/Vacunadas
- Tipo de vacuna recibida :
Bivalente/Tetravalente
- Momento de la vacunación:
Antes o después de la conización

4.7.4. Variables clínicas

- Indicación de la conización
 - CIN 1 persistente
 - CIN 2-3
- Tipo de conización
 - Quirúrgica
 - Ambulatoria

4.7.5. Variables diagnósticas

- Citología (revisiones postconización, siguiendo la clasificación de Bethesda):
 - Negativa para malignidad
 - ASCUS
 - LSIL
 - HSIL
 - Carcinoma infiltrante
- Test VPH (basal y en las revisiones postconización)
 - Negativo
 - VPH 16/18

- VPH 31, 33, 45, 52, 58
- Otros genotipos de AR
- Informe colposcópico (basal y en las revisiones postconización, siguiendo la Clasificación de Río de Janeiro 2011)
 - Adecuada/No adecuada
 - Normal
 - Hallazgos anormales (Grado 1/Grado 2 o compatibles con Carcinoma infiltrante)
- Informes histológicos (biopsia de cérvix previa la conización, de la pieza de conización, y en las revisiones postconización, siguiendo la Terminología LAST)
 - Negativa para malignidad
 - CIN 1
 - CIN 2-3
 - Carcinoma infiltrante
- Estado histopatológico de los márgenes de la conización:
 - Negativos (márgenes libres de lesión)
 - Positivos (la lesión contacta con margen exocervical y/o endocervical)

4.8. SEGUIMIENTO CLÍNICO

Las pacientes se sometían a un seguimiento postconización en la Consulta de Patología Cervical del HGUS, basado en los Protocolos de la SEGO en su Guía de Prevención del Cáncer Cervical 2014 (Figura 64) y que se ajusta a los siguientes cronogramas (tablas 10 y 11).

4.8.1. Márgenes negativos de la pieza de conización

En estos casos se realizaban consultas semestrales a partir del momento de la conización (6, 12, 18 y 24 meses). Posteriormente, si el co-test había sido negativo se recomendaba co-test a los 3 años, pasando al cribado rutinario durante un mínimo de 20 años.

- En cada consulta se efectuaban las siguientes pruebas complementarias:
- Citología líquida

- Test de VPH
- Colposcopia con ácido acético al 5% (Clasificación de Río de Janeiro 2011)
- Biopsia exocervical (hallazgos colposcópicos anormales)
- Biopsia endocervical (colposcopia no adecuada o test de VPH positivo)

TABLA 10. Cronograma de seguimiento en casos de Márgenes Negativos de la pieza de conización

| PRUEBAS | 6 MESES | 12 MESES | 18 MESES | 24 MESES |
|----------------------|----------|----------|----------|----------|
| COLPOSCOPIA | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| CITOLOGÍA | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| TEST VPH | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| BIOPSIA EXOCERVICAL | Opcional | Opcional | Opcional | Opcional |
| BIOPSIA ENDOCERVICAL | Opcional | Opcional | Opcional | Opcional |

4.8.2. Márgenes positivos de la pieza de conización o legrado endocervical en el momento de la conización positivo

La primera consulta se realizaba a los 4 meses, efectuando las mismas pruebas anteriores (citología líquida, test de VPH, colposcopia), así como legrado o cepillado endocervical sistemáticamente. A continuación, si los resultados eran negativos, las revisiones pasaban a ser semestrales hasta los 2 años. Posteriormente, si el co-test había sido negativo se recomendaba co-test a los 3 años, pasando al cribado rutinario durante un mínimo de 20 años.

TABLA 11. Cronograma de seguimiento en casos de Márgenes Positivos de la pieza de conización

| PRUEBAS | 4 MESES | 12 MESES | 18 MESES | 24 MESES |
|----------------------|----------|----------|----------|----------|
| COLPOSCOPIA | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| CITOLOGÍA | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| TEST VPH | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| BIOPSIA EXOCERVICAL | Opcional | Opcional | Opcional | Opcional |
| BIOPSIA ENDOCERVICAL | | Opcional | Opcional | Opcional |

4.8.3. Margen endocervical positivo en mujeres mayores de 50 años

Se recomendaba reconización o histerectomía.

4.9. METODOLOGÍA DE LABORATORIO

4.9.1. Estudio anatomopatológico

Las muestras que recibe el Servicio de Anatomía Patológica para el diagnóstico de la lesiones precursoras del carcinoma de cérvix, son de dos tipos:

- Citología cérvico-vaginal, en medio líquido, que se procesa utilizando el sistema Sure Path (autocyte, TriPath Imaging), en el que las células son separadas de la suspensión mediante centrifugación y se depositan en la lámina en un área oval o circular de 13 mm, por sedimentación. En el procedimiento automatizado se utiliza el procesador PrepStain.



FIGURA 69. Procesador PrepStain para citología líquida:
<http://www.bd.com/scripts/europe/ds/productsdrilldown.asp?CatID=191&SubID=925&siteID=20089&d=&s=europe%2Fds&sTitle=Diagnostic+Systems&metaTitle=1+-+Cervical+Cytology+%C2%BB&dc=europe%2Fds&dcTitle=Diagnostic+Systems>

➤ Biopsias:

- Incisionales, realizadas en medio ambulatorio, mediante control colposcópico, de aquellas áreas del cérvix uterino que presenten imágenes anormales, susceptibles de corresponder a lesiones de cérvix.
- Piezas procedentes de conización, se remiten al Servicio Anatomía Patológica en tres frascos transparentes con cierre de seguridad, sumergidas en formol tamponado al 10 %. Rotulados como labio anterior, labio posterior y ampliación del canal endocervical. Los conos vienen referenciados a las 12 y 6 h, con un hilo de sutura, lo que permite incluirlos en su totalidad manteniendo una referencia horaria, que facilita una posterior ubicación topográfica de la lesión, si la hubiera. Previa a su inclusión se pinta la superficie quirúrgica con tinta de color negro, lo que permite en el estudio histopatológico determinar si la lesión contacta con los límites quirúrgicos.

Los tejidos seleccionados son procesados utilizando un procesador (Excelsior AS de Thermo). Tras el procesado se confeccionan los bloques de parafina, que posteriormente se cortan a 3 micrómetros y se tiñen con hematoxilina eosina en una unidad de tinción automatizada (Gemini AS de Thermo).

4.9.2. Estudio molecular. Test de VPH

Para el análisis de HPV se utilizó una técnica inicial de PCR mediante el equipo de extracción cobas® x480 de Roche. La muestra se obtenía mediante un cepillo endocervical que posteriormente se sumergía y lavaba en el vial para cobas® PCR Cell Collection Media. Tras el proceso de extracción de ADN se realizaba la PCR a tiempo real en el termociclador cobas® c480 de Roche, empleando sondas fluorescentes: kit cobas® c 4800 HPV, Ref. P/N 05235901190 de Roche. Dicho kit distinguía entre HPV 16/18, genotipos de alto riesgo no 16/18 (sin especificar genotipo) y negativos. Los genotipos de bajo riesgo no eran detectados. Los ADN extraídos, quedaban en otra placa, para realizar una segunda técnica para la determinación de los genotipos HPV, mediante análisis de curvas de “melting” de alta resolución, empleando el kit Anyplex II HPV 28 Detección, Ref. HP7500X de Seegene, en un termociclador a tiempo real CFX96 de Bio-Rad. Con este método se detectaban 19 genotipos de alto riesgo (16, 18,

26, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 53, 56, 58, 66, 68, 69, 73, 82) y 9 de bajo riesgo oncogénico (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70).

4.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Tamaño de muestra: El estudio incluye un total de 252 pacientes que cumplieron los criterios de inclusión y a las que se les realizó una conización tras haberles sido detectada una lesión cervical de alto grado (CIN 2-3), asociada al VPH).

En el **análisis descriptivo** las variables cuantitativas se resumen con media y desviación típica (SD) y las cualitativas con distribuciones de frecuencia (porcentajes).

Para el **análisis estadístico** de la asociación del estado de vacunación (no vacuna, bivalente, tetravalente) con:

- (1) La probabilidad de presentar virus en revisiones posteriores a la conización (infección),
- (2) La probabilidad de mostrar lesiones CIN 2 ó superiores tras la conización (lesión residual/recurrente) y,
- (3) La probabilidad de mostrar lesión residual/recurrente en pacientes que han presentado virus en al menos una de las revisiones posteriores a la conización, construimos un modelo de regresión logística para cada variable a explicar:
 - ✓ Lesión residual/recurrente,
 - ✓ Infección.

La variable explicativa principal es la Vacuna con tres posibles valores: (no-vacunada, bivalente, tetravalente).

Para estimar el efecto de la vacuna descartando efectos de confusión controlaremos, en primer lugar, por las posibles variables confusoras: nacionalidad (española/ otra), paridad (número de hijos), anticonceptivos hormonales(consume si/no), DIU (uso si/no), preservativo (uso si/no), tipo de conización (quirófano/ ambulatoria), edad en el momento de la conización (en años), motivo de la conización (CIN 2 y CIN 3), PCR basal (grupo 1: VPH 16/18, grupo 2: VPH 31, 33, 45, 52 y 58 y grupo 3: otros VPH alto grado), Anatomía patológica conización (Negativa para malignidad, CIN I, CIN II, CIN III, Ca infiltrante), márgenes conización (libres,

contacta con borde exocervical, contacta con borde endocervical, contacta con ambos bordes), momento de vacunación (antes de conización/ después).

Entre todas estas variables encontramos que tan sólo la edad en el momento de la conización es factor confusor. Por tanto el modelo utilizado finalmente es el que sigue:

$$\text{Logit}(Y_i) = B_0 + B_1X_1 + B_2X_2 + B_3E \quad [\text{modelo 1}]$$

Donde Y_i = valor de la variable a explicar en el individuo "i", X_1 = Vacuna Bivalente (1=sí, 0=no), X_2 = Vacuna Tetravalente (1=sí, 0=no), E = edad de conización de la paciente, e^{B_0} = Odds de la variable a explicar si la paciente no está vacunada (momento basal), e^{B_1} = Odds Ratio (OR) de la vacuna Bivalente, e^{B_2} = OR de la vacuna Tetravalente, e^{B_3} = OR de la edad de conización.

Para el **análisis estadístico** de la influencia del tipo de virus basal y el estado de los márgenes en la relación entre el estado de vacunación y la presencia de infección y de lesión residual/recurrencia, construimos un modelo de regresión logística con término de interacción entre el factor de estratificación (afectación de los márgenes o tipo de virus) y el hecho de estar vacunado:

$$\text{Logit}(Y_i) = B_0 + B_1X + B_2Z + B_3E + B_4X*Z \quad [\text{modelo 2}]$$

Donde Y_i = valor de la variable a explicar en el individuo "i", X = Estar vacunada (1=sí, 0=no), Z = Variable de estratificación dicotómica, E = edad de conización de la paciente, e^{B_0} = Odds de la variable a explicar de pacientes sin vacunar y con variable de estratificación en grupo de referencia, e^{B_1} = OR de la vacuna entre las pacientes del grupo de referencia en la variable de estratificación, e^{B_2} = OR de la variable de estratificación entre las pacientes no vacunadas, e^{B_3} = OR de la edad de conización, e^{B_4} = cambio del OR de la vacuna por la variable de estratificación.

El **tratamiento de los datos** se hizo con el programa estadístico R (versión 3.3.2) y el paquete estadístico SPSS Statistics 21.

V. RESULTADOS

5.1. RESULTADOS DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DESCRIPTIVO

5.1.1. Datos descriptivos de las pacientes en estudio

Durante el período de estudio se revisaron las historias clínicas de 302 pacientes que se sometieron a conización, por diferentes grados de displasia cervical, en el Servicio de Ginecología y Obstetricia del Complejo Hospitalario Universitario de Cartagena (CHUC). Tras aplicar los criterios de exclusión, previamente definidos, la población final de estudio incluyó 252 mujeres (Figura 70) con una edad comprendida entre 18 y 68 años (media 37,32 años; desviación típica: 10,59; rango: 18-68). Los datos que describen a las pacientes estudiadas se ilustran en la Tabla 11.

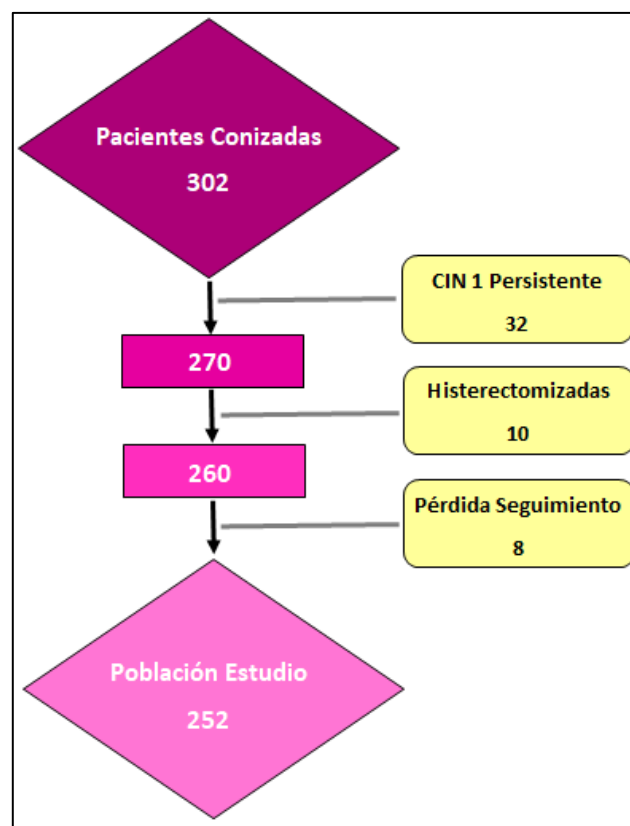


FIGURA 70. Diagrama de flujo de pacientes seleccionadas para el estudio.

TABLA 12. Datos descriptivos de las pacientes estudiadas

| Variable | Frecuencia (N) | Porcentaje (%) |
|------------------------------|----------------|----------------|
| Nacionalidad | | |
| Española | 223 | 88.5% |
| Latinoamericana | 16 | 6.3% |
| Europa del Este | 10 | 4% |
| Marroquí | 3 | 1.2% |
| Paridad | | |
| Nulípara | 76 | 30.2% |
| Múltipara | 176 | 69.8% |
| Menopausia | | |
| No | 214 | 85.2% |
| Si | 37 | 14.7% |
| ACH | | |
| No | 142 | 56.3% |
| Si | 110 | 43.7% |
| DIU | | |
| No | 238 | 94.4% |
| Si | 14 | 5.6% |
| Preservativo | | |
| No | 203 | 80.6% |
| Si | 49 | 19.4% |
| Tabaco | | |
| No | 97 | 38.6% |
| Si | 154 | 61.4% |
| Motivo de conización | | |
| CIN II | 104 | 41.6% |
| CIN III | 146 | 58.4% |
| Márgenes afectos | | |
| Negativo | 187 | 75.7% |
| Positivo | 60 | 24.3% |
| Vacuna | | |
| No | 117 | 52.5% |
| Si | 106 | 47.5% |
| Tipo de vacuna | | |
| Bivalente | 72 | 67.9% |
| Tetravalente | 34 | 32.1% |
| Momento de vacunación | | |
| Antes de conización | 48 | 45.3% |
| Después de conización | 58 | 54.7% |
| VPH Basal | | |
| Negativo | 9 | 3.7% |
| Vacunal | 122 | 50.4% |
| No vacunal | 111 | 45.9% |
| Aclaramiento VPH | | |
| No | 113 | 48.1% |
| Si | 122 | 51.9% |

5.1.2. Datos descriptivos de las pacientes estudiadas en función de su estado de vacunación y tipo de vacuna

5.1.2.1. Datos clínicos-demográficos

La edad media de las pacientes no vacunadas es de 41.5 ± 11.2 años y de 32.78 ± 7.47 años en las pacientes vacunadas. El 17.6% de las pacientes estudiadas tienen entre 18 y 25 años, el 32.8% entre 26 y 35 años, el 26.4% tienen entre 36 y 45 años y el 23.2% restante tienen más de 45 años (ver Figura 71).

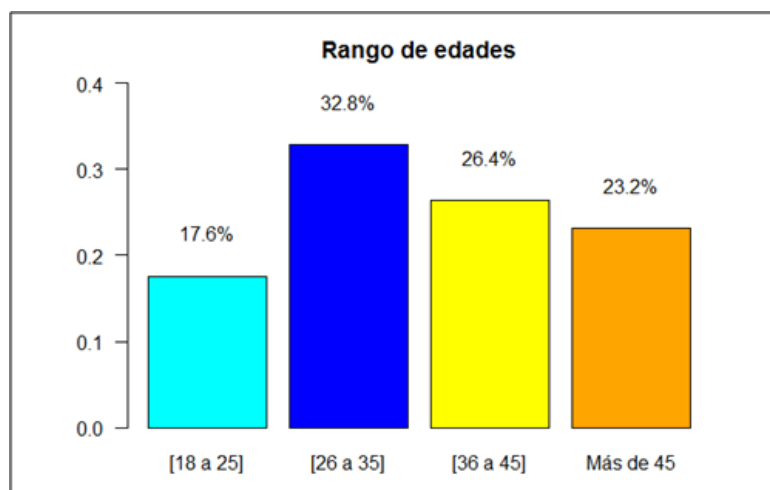


FIGURA 71. Porcentaje de mujeres con edades comprendidas en cada categoría.

En la Tabla 13 se recogen los datos demográficos y clínicos de las pacientes estudiadas según su estado de vacunación. Entre las vacunadas, además, se ha distinguido según el tipo de vacuna.

TABLA 13. Parámetros clínico-demográficos de las pacientes estudiadas

| Características | No vacunadas | Vacunadas | Bivalente | Tetraivalente |
|------------------------------|--------------|------------|------------|---------------|
| Edad (años) | | | | |
| Media (SD) | 41.5 (11.2) | 32.8 (7.5) | 32.8 (7.9) | 32.7 (6.6) |
| Rango | 19 - 68 | 18 - 54 | 18 - 54 | 19 - 46 |
| Nacionalidad | N % | N % | N % | N % |
| No española | 18 15.4% | 7 6.6% | 5 6.9% | 2 5.9% |
| Española | 99 84.6 % | 99 93.4% | 67 93.1 % | 32 94.1 % |
| Momento de vacunación | | | | |
| Antes de conización | | 48 45.3% | 19 26.4% | 29 85.3% |
| Después de conización | | 58 54.7% | 53 73.6% | 5 14.7% |
| Tipo de conización | | | | |
| Quirófano | 88 75.2% | 53 50.0% | 32 44.4% | 21 61.8% |
| Ambulatoria | 29 24.8% | 53 50.0% | 40 55.6% | 13 38.2% |
| Motivo de conización | | | | |
| CIN II | 42 36.2% | 52 49.1% | 34 47.2% | 18 52.9% |
| CIN III | 74 63.8% | 54 50.9% | 38 52.8% | 16 47.1% |
| Márgenes afectos | | | | |
| Negativo | 88 75.9% | 79 76.0% | 55 77.5% | 24 72.7% |
| Positivo | 28 24.1% | 25 24.0% | 16 22.5% | 9 27.3% |

Las figuras 72 y 73 ilustran el motivo de la conización y el estado de los márgenes de en las pacientes según su estado de vacunación y el tipo de vacuna.

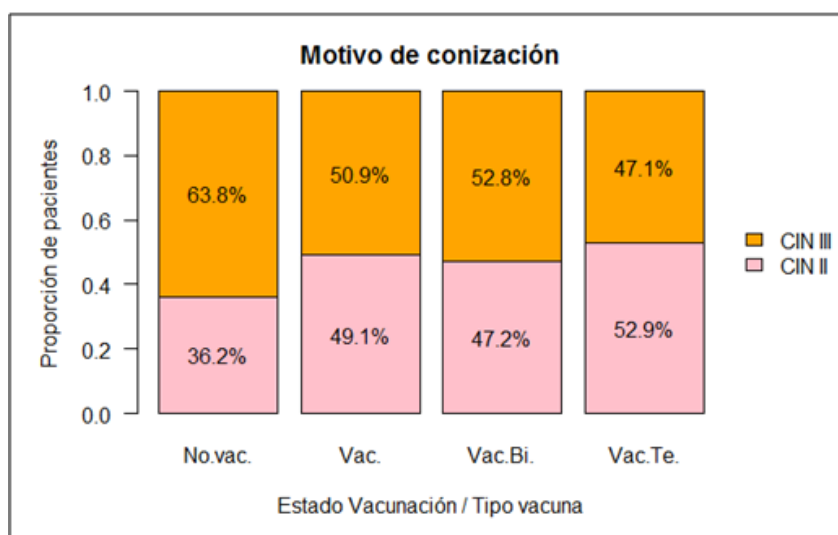


FIGURA 72. Porcentaje de mujeres con CIN 2 y CIN 3 en el momento de la conización en el grupo de vacunadas, no vacunadas, con vacuna bivalente y con vacuna tetraivalente.

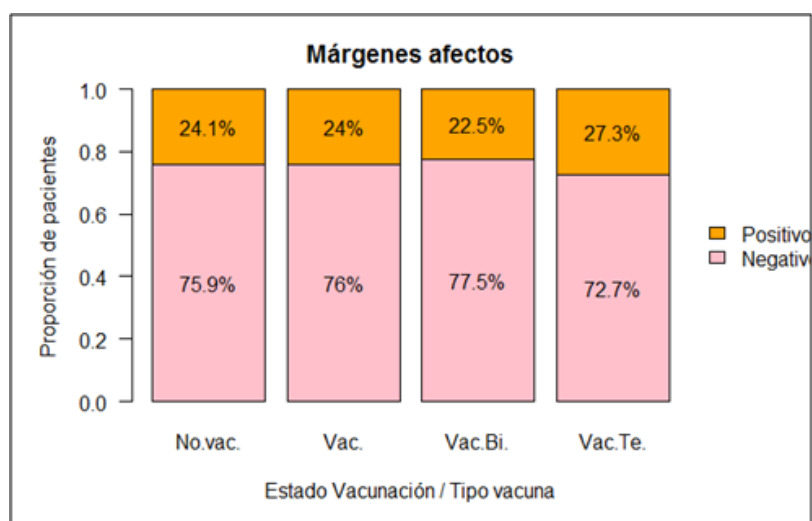


FIGURA 73. Distribución del porcentaje de mujeres en distintos grupos (estado de vacunación y el tipo de vacuna) según el estado de sus márgenes en el momento de la conización.

5.1.2.2. Cofactores de adquisición de infección HPV

La tabla 13 recoge en cada grupo de pacientes (no vacunadas, vacunadas, según tipo de vacuna) la distribución en las distintas categorías de algunos cofactores de adquisición de infección VPH tales como: la paridad, el uso de DIU, el uso de preservativo y el ser o no menopáusica en el momento de ser detectada la lesión asociada al VPH.

TABLA 14. Cofactores de adquisición de infección HPV en las pacientes estudiadas.

| Características | No vacunadas | Vacunadas | Bivalente | Tetravalente |
|---------------------|--------------|-----------|-----------|--------------|
| | N % | N % | N % | N % |
| Paridad | | | | |
| Nulípara | 30 25.6% | 43 40.6% | 26 36.1% | 17 50.0% |
| Múltipara | 87 74.4% | 63 59.4% | 46 63.9% | 17 50.0% |
| DIU | | | | |
| No | 111 94.9% | 102 96.2% | 71 98.6% | 31 91.2% |
| Si | 6 5.1% | 4 3.8% | 1 1.4% | 3 8.8% |
| Preservativo | | | | |
| No | 97 82.9% | 82 77.4% | 54 75.0% | 28 82.4% |
| Si | 20 17.1% | 24 22.6% | 18 25.0% | 6 17.6% |
| Menopausia | | | | |
| No | 109 75.2% | 105 99.1% | 71 98.6% | 34 100.0% |
| Si | 36 24.8% | 1 0.9% | 1 1.4% | 0 0.0% |

5.1.2.3. Factores carcinogénicos

La tabla 15 recoge en cada grupo de pacientes (no vacunadas, vacunadas, según tipo de vacuna) la distribución en las distintas categorías de algunos factores carcinogénicos tales el tabaco, el uso de anticonceptivos hormonales (ACH) y el tipo de virus detectado en las pacientes en el momento de la conización.

TABLA 15. Factores carcinogénicos de las pacientes estudiadas

| Características | No vacunadas | Vacunadas | Bivalente | Tetravalente |
|------------------|--------------|-----------|-----------|--------------|
| | N % | N % | N % | N % |
| Tabaco | | | | |
| No | 56 38.6% | 41 38.7% | 24 33.3% | 17 50.0% |
| Si | 89 61.4% | 65 61.3% | 48 66.7% | 17 50.0% |
| ACH | | | | |
| No | 75 64.1% | 54 50.9% | 39 54.2 % | 15 44.1 % |
| Si | 42 35.9% | 52 49.1% | 33 45.8% | 19 55.9% |
| VPH Basal | | | | |
| Negativo | 5 4.3% | 3 2.9% | 3 4.3% | 0 0.0% |
| Vacunal | 57 49.6% | 52 51.0% | 37 53.6% | 15 45.5% |
| No vacunal | 53 46.1% | 47 46.1% | 29 42.0% | 18 54.5% |

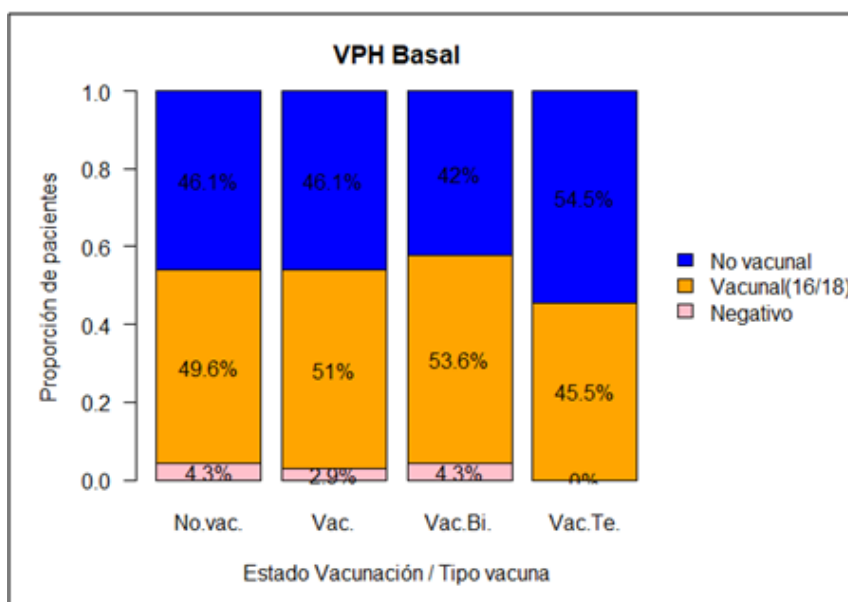


FIGURA 74. Porcentaje de mujeres en distintos grupos (estado de vacunación y el tipo de vacuna) sin virus en el momento basal, con virus de tipo vacunal (16 y/o 18) y con virus de tipo no vacunal.

5.1.3. Relación del estado de vacunación y el tipo de infección inicial de las pacientes con presencia de eventos tras la conización

En este apartado se describe la relación existente entre el estado de vacunación de las pacientes y el/los virus inicial/es que presente en el momento de la conización, con la existencia de infección y/o lesión residual/recurrente tras la conización. Para ello hemos considerado que el evento:

- ❖ Lesión residual/recurrente: Toma valor "1=Si" cuando la paciente presenta una lesión CIN 2 ó CIN 3 en al menos una de las biopsias exo o endo realizadas en alguna de las revisiones post conización y valor "0=No" cuando la paciente no presenta lesión CIN 2 ó CIN 3 en ninguna biopsia de las realizadas en las revisiones.
- ❖ Infección (presencia de virus por reinfección (virus diferente al basal) o reactivación (mismo virus basal): Toma valor "1=Si" cuando la paciente presenta algún virus en alguna de las revisiones post conización y valor "0=No" cuando la paciente presenta ausencia de virus en las revisiones.

TABLA 16. Distribución porcentual de las mujeres muestreadas en las distintas categorías de algunas de sus características en función de si han presentado o no lesión residual/recurrencia tras la conización

| Características | Sin L. residual /recurrente | | Con L. residual /recurrente | | P-valor | |
|--------------------|-----------------------------|-------|-----------------------------|-------|---------|---|
| Edad (años) | | | | | | |
| Media (SD) | 36.6 (10.3) | | 43.0 (11.4) | | 0.006 | |
| Rango | 18 - 68 | | 23 - 64 | | | |
| | N | % | N | % | N | % |
| Origen | | | | | | |
| Española | 92 | 92.3% | 7 | 7.7% | 0.777 | |
| No española | 128 | 87.0% | 19 | 13.0% | | |
| Paridad | | | | | 0.204 | |
| Nulípara | 75 | 32.2% | 5 | 15.4% | | |
| Múltipara | 151 | 67.8% | 21 | 84.6% | | |
| Menopausia | | | | | 0.002 | |
| No | 203 | 90.0% | 16 | 61.5% | | |
| Sí | 23 | 10.0% | 10 | 38.5% | | |
| ACH | | | | | 0.963 | |
| No | 124 | 54.5% | 14 | 53.8% | | |
| Sí | 102 | 45.5% | 12 | 46.2% | | |

| Características | Sin L. residual /recurrente | | Con L. residual /recurrente | | P-valor |
|---------------------|-----------------------------|-------|-----------------------------|-------|---------|
| DIU | | | | | 0.356 |
| No | 210 | 93.8% | 26 | 100% | |
| Sí | 26 | 6.2% | 0 | 0% | |
| Preservativo | | | | | 0.07 |
| No | 178 | 79.6% | 26 | 100% | |
| Sí | 48 | 20.4% | 0 | 0% | |
| Tabaco | | | | | 0.859 |
| No | 80 | 36% | 8 | 38.5% | |
| Sí | 145 | 64% | 18 | 61.5% | |
| Vacuna | | | | | 0.007 |
| No | 122 | 54% | 19 | 76.9% | |
| Sí | 104 | 46% | 7 | 23.1% | |
| Tipo vacuna | | | | | 0.422 |
| Bivalente | 42 | 43.3% | 2 | 33.3% | |
| Tetraivalente | 55 | 56.7% | 3 | 66.7% | |
| Márgenes | | | | | 0.621 |
| Libres | 171 | 75.4% | 18 | 69.2% | |
| Afectos | 55 | 24.6% | 8 | 30.8% | |
| Virus basal | | | | | 0.127 |
| 16, 18 | 107 | 88.9% | 18 | 76.9% | |
| 31, 33, 45, 52 y 58 | 27 | 85.2% | 6 | 15.4% | |
| Otros | 71 | 92.8% | 2 | 7.7% | |
| Aclaramiento | | | | | 0.04 |
| No | 85 | 40.3% | 18 | 69.2% | |
| Sí | 156 | 59.7% | 8 | 30.8% | |

5.1.3.1. *Relación del estado de vacunación y tipo de infección inicial de las pacientes con la presencia de infección postratamiento*

La figura 75 ilustra el número de pacientes vacunadas y no vacunadas que desarrollaron infección tras la conización en función del tipo de virus que tenían al inicio (vacunal 16 /18 y no vacunal). Obsérvese que se han considerado dentro del grupo virus 16/18 a las pacientes que al inicio presentaban al menos uno de los dos virus vacunales y dentro del grupo No virus 16/18 a aquellas cuyos virus al inicio no eran de tipo vacunal. Se han excluido aquellas pacientes que no presentaron virus al inicio.

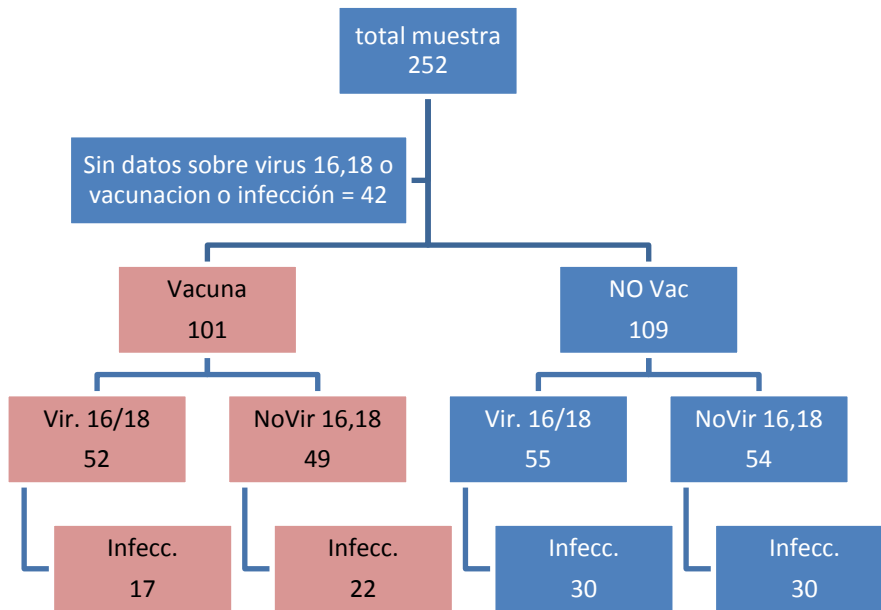


FIGURA 75. Árbol con eventos (infección) tras la conización en las pacientes por estado de vacunación (Si/No) y tipo de infección al inicio.

De las 109 pacientes no vacunadas, 55 presentaron al menos un virus de tipo vacunal antes de la conización y 30 de ellas (54.5%) desarrollaron infección tras la conización. De entre las 54 pacientes no vacunadas, con presencia de virus al inicio de tipo no vacunal, presentaron infección tras la conización 30 (55.6%). De las 101 pacientes vacunadas, 52 presentaron al menos un virus de tipo vacunal antes de la conización y 17 de ellas (32.7%) desarrollaron infección tras la conización. De entre las 49 pacientes vacunadas con presencia de virus al inicio de tipo no vacunal, 22 presentaron infección tras la conización (44.9%), ver figura 75.

De entre las 101 pacientes vacunadas, 68 fueron vacunadas con la bivalente y 33 con la tetravalente. De entre las pacientes vacunadas con la bivalente, presentaron infección 13 de las 37 infectadas con al menos un virus vacunal al inicio (35.1%) y 15 de las 31 que presentaron al inicio virus no vacunal (48.4%). De entre las pacientes vacunadas con la tetravalente, presentaron infección la 4 de las 15 infectadas con al menos un virus vacunal al inicio (26.7%) y 7 de las 18 que presentaron al inicio virus no vacunal (38.9%).

Obsérvese que no se tienen datos sobre el estado de vacunación, el tipo de infección al inicio y/o si desarrollaron infección tras su conización de 42 pacientes de las 252 en estudio (figura 76).

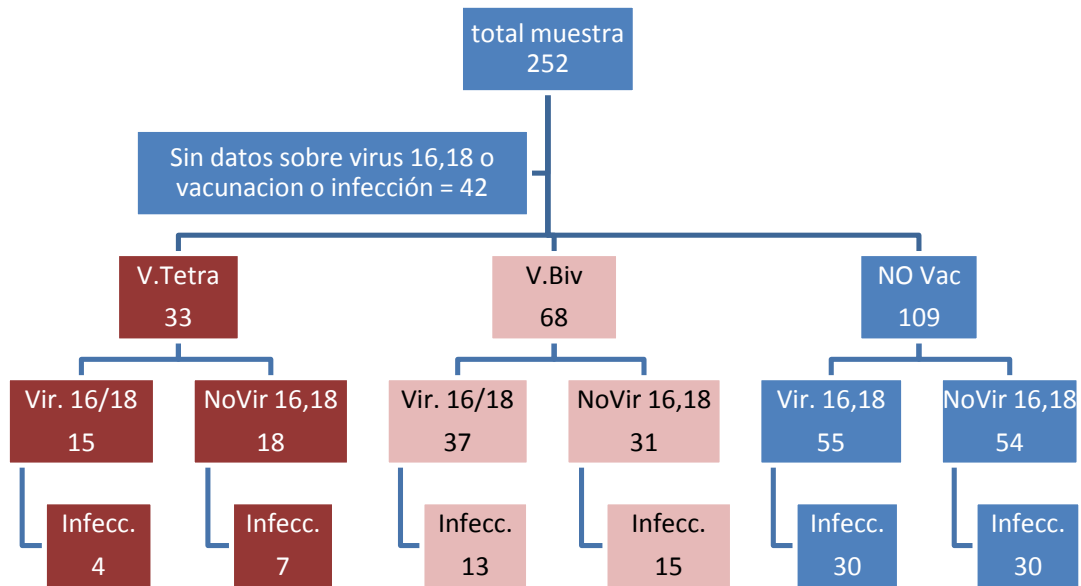


FIGURA 76. Árbol con eventos (infección) tras la conización en las pacientes por estado de vacunación (con Bivalente, con Tetravalente, No vacunados) y tipo de VPH detectado al inicio.

TABLA 17. Número de pacientes (porcentaje) por estado de vacunación (no vacunada, vacunada, tipo de vacuna) y tipo de VPH al inicio que presentan infección tras la conización (sin considerar las pacientes que no tienen virus en el momento basal)

| Vacuna | N | Virus basal | | Infección N % |
|--------------|-----|-------------|----|------------------|
| | | Tipo | N | |
| No Vacunadas | 109 | 16,18 | 55 | 30 54.5% |
| | | No16,18 | 54 | 30 55.6% |
| Vacunadas | 101 | 16,18 | 52 | 17 32.7% |
| | | No16,18 | 49 | 22 44.9% |
| Tetravalente | 33 | 16,18 | 15 | 4 26.7% |
| | | No16,18 | 18 | 7 38.9% |
| Bivalente | 68 | 16,18 | 37 | 13 35.1% |
| | | No16,18 | 31 | 15 48.4% |

5.1.3.2. Relación del estado de vacunación y tipo de infección inicial de las pacientes con la presencia de lesión residual/ recurrente

La figura 77 describe el número de pacientes vacunadas y no vacunadas que desarrollaron lesión residual /recurrencia en función del tipo de virus que tenían al inicio (vacunal 16 /18 y no vacunal). De nuevo, se han considerado dentro del grupo virus 16/18 a las pacientes que al inicio presentaban al menos uno de los dos virus vacunales y dentro del grupo No virus 16/18 a aquellas que no presentaron ninguno de los virus vacunales al inicio. Se han excluido aquellas pacientes que no presentaron virus al inicio.

Obsérvese que no se tienen datos sobre el estado de vacunación, el tipo de infección al inicio y/o si presentaron lesión residual/ recurrencia de 35 pacientes de las 252 en estudio. De las 217 pacientes restantes, 102 fueron vacunadas y 115 no se vacunaron.

De las 115 pacientes no vacunadas, 57 presentaron al menos un virus de tipo vacunal al inicio y 15 de ellas (26.3%) desarrollaron lesión residual/recurrencia. De entre las 58 pacientes no vacunadas con presencia de virus al inicio de tipo no vacunal, 6 desarrollaron lesión residual/recurrencia 30 (10.3%). De las 102 pacientes vacunadas, 52 presentaron al menos un virus de tipo vacunal antes de la conización y 3 de ellas (5.8%) desarrollaron lesión residual/recurrencia. De entre las 50 pacientes vacunadas con presencia de virus al inicio de tipo no vacunal, 2 desarrollaron lesión residual/recurrencia (4.0%), ver figura 77.

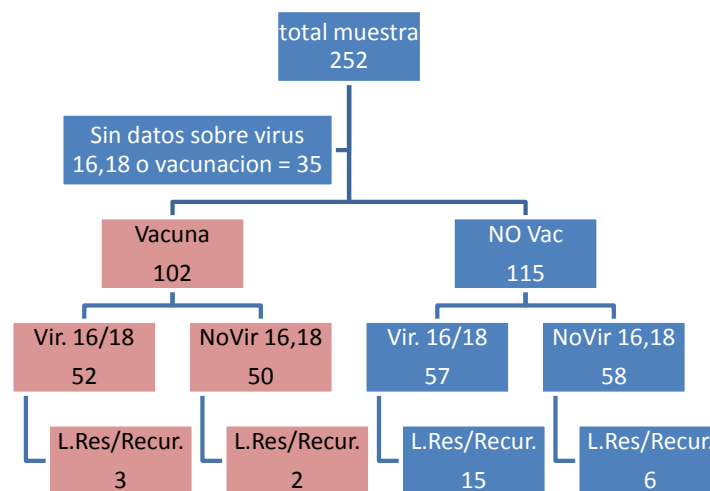


FIGURA 77. Árbol con eventos (lesión residual/recurrente) tras la conización en las pacientes por estado de vacunación (Si/No) y tipo de VPH al inicio.

De entre las 102 pacientes vacunadas, 69 fueron vacunadas con la bivalente y 33 con la tetravalente. De entre las pacientes vacunadas con la bivalente desarrollaron lesión residual/recurrencia 2 de las 37 infectadas con al menos un virus vacunal al inicio (54.5%) y ninguna de las 32 que presentaron al inicio virus no vacunal. De entre las pacientes vacunadas con la tetravalente, desarrollaron lesión residual/recurrencia 1 de las 15 infectadas con al menos un virus vacunal al inicio (6.7%) y 2 de las 18 que presentaron al inicio virus no vacunal (11.1%), ver figura 78.

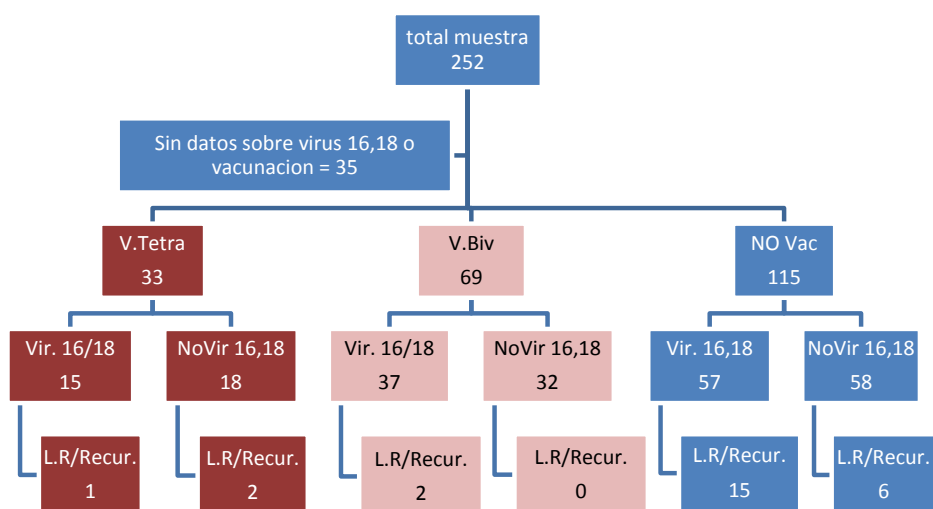


FIGURA 78. Árbol con eventos (lesión residual/recurrente) tras la conización en las pacientes por estado de vacunación (con Bivalente, con Tetravalente, No vacunados) y tipo de infección al inicio.

TABLA 18. Número de pacientes (porcentaje) por estado de vacunación (no vacunada, vacunada, tipo de vacuna) y tipo de infección al inicio que desarrollaron lesión residual/recurrencia (sin considerar las pacientes que no tienen virus en el momento basal)

| Vacuna | Virus basal | | Lesión residual/Recurrente | |
|--------------|-------------|---------|----------------------------|----------|
| | N | Tipo | | N |
| No Vacunadas | 115 | 16,18 | 57 | 15 26.3% |
| | | No16,18 | 58 | 6 10.3% |
| Vacunadas | 102 | 16,18 | 52 | 3 5.8% |
| | | No16,18 | 50 | 2 4.0% |
| Tetravalente | 33 | 16,18 | 15 | 1 6.7% |
| | | No16,18 | 18 | 2 11.1% |
| Bivalente | 69 | 16,18 | 37 | 2 5.4% |
| | | No16,18 | 32 | 0 0.0% |

5.1.4. Relación entre la presencia de infección posterior a la conización y el desarrollo de lesión residual/ recurrente

5.1.4.1. Relación entre la presencia de infección posterior a la conización y el desarrollo de lesión residual/recurrente en función del genotipo de virus basal

De las 252 pacientes en estudio se conoce su genotipo de virus basal, si presentaron infección o no tras la conización y si desarrollaron lesión residual/recurrente en 234 de ellas. Entre las 234 pacientes analizadas finalmente, 119 presentaron al menos un HPV de tipo vacunal (16/18) es decir, el 50.8% del total. El 49.1% restante o bien no presentaban infección al inicio o en caso de presentarlo/s no era/n de tipo vacunal. El 47.9% del total de las pacientes presentaron infección tras la conización frente al 52.1% que se aclararon tras ella. Entre las pacientes con al menos un HPV vacunal al inicio presentaron infección el 47.1%, frente al 52.9% que se aclararon. Entre las pacientes con ausencia de HPV vacunal al inicio presentaron infección el 48.7%, frente al 51.3% que se aclararon. Desarrollaron lesión residual/recurrente el 23.2% de las pacientes infectadas y el 0.8% de las pacientes no infectadas. Entre la pacientes con al menos un HPV vacunal al inicio, desarrollaron lesión residual/recurrente el 30.4% de las que se infectaron tras la conización y el 1.6% de las aclaradas tras ella. Entre las pacientes con ausencia de HPV vacunal al inicio desarrollaron lesión residual/recurrente el 16.1% de las que se infectaron tras la conización y el 0% de las aclaradas tras ella, ver tabla 19.

TABLA 19. Número de pacientes (porcentaje) por genotipo de VPH basal (ausencia de HPV vacunal y al menos un HPV vacunal) y presencia o no de infección tras la conización que desarrollaron lesión residual /recurrente

| Genotipos de VPH basales | | Infección | | No infección | |
|--------------------------|----------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|-----------------------|
| Categorías | N (% respecto total) | (A) (A/N) | Recurrencia (B) (B/A) | (C) (C/N) | Recurrencia (D) (D/C) |
| Ausencia de HPV vacunal | 115 (49.1%) | 56 (48.7%) | 9 (16.1%) | 59 (51.3%) | 0 (0.0%) |
| Al menos un HPV vacunal | 119 (50.8%) | 56 (47.1%) | 17 (30.4%) | 63 (52.9%) | 1 (1.6%) |
| Total | 234 (100%) | 112 (47.9%) | 26 (23.2%) | 122 (52.1%) | 1(0.8%) |

Tal y como se ilustra en la tabla 20, entre las 115 pacientes con ausencia de HVP vacunal al inicio, 9 no presentaban ningún virus. De ellas, 2 (22.2%) se infectaron tras la conización frente 7 (77.8%) que siguió sin desarrollar virus. De entre las 2 pacientes infectadas 1 desarrolló lesión residual/recurrente (50%) mientras que ninguna de las no infectadas tras la conización desarrollaron lesión.

TABLA 20. Número de pacientes (porcentaje) por genotipo de VHP basal (ausencia de VHP, ausencia de HPV vacunal y al menos un HPV vacunal) y presencia o no de infección tras la conización que desarrollaron lesión residual /recurrente

| Genotipos de VPH basales | | Infección | | No infección | |
|--------------------------|----------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|-----------------------|
| Categorías | N (% respecto total) | (A) (A/N) | Recurrencia (B) (B/A) | (C) (C/N) | Recurrencia (D) (D/C) |
| Ausencia de VPH | 9 (3.8%) | 2 (22.2%) | 1 (50%) | 7 (77.8%) | 0 (0.0%) |
| Ausencia de HPV vacunal | 106 (45.3%) | 54 (50.9%) | 8 (14.8%) | 52 (49.1%) | 0 (0.0%) |
| Al menos un HPV vacunal | 119 (50.8%) | 56 (47.1%) | 17 (30.4%) | 63 (52.9%) | 1 (1.6%) |
| Total | 234 (100%) | 112 (47.9%) | 26 (23.2%) | 122 (52.1%) | 1(0.8%) |

5.1.4.2. *Relación entre la presencia de infección posterior a la conización y el desarrollo de lesión residual/recurrente en función del tipo de vacuna.*

La tabla 21 ilustra que el porcentaje de pacientes infectadas tras la conización es mayor entre las no vacunadas (54.5%). El porcentaje de pacientes con vacuna Tetravalente infectadas (32.4%) es menor el porcentaje de las vacunadas con Bivalente (39.4%). El porcentaje de pacientes que presentan lesión también es mayor entre las no vacunadas (18.2%). Sin embargo, las pacientes vacunadas con la tipo Bivalente presentan un menor porcentaje de lesiones tras la conización (2.8%) que las vacunadas con Tetravalente (8.8%). Parece así que la vacuna Tetravalente es más efectiva para prevenir la infección pero la Bivalente es más efectiva para prevenir el desarrollo de lesión residual/recurrencia. Esto es debido a que entre las pacientes infectadas el porcentaje de las que desarrollan lesión residual/recurrencia es muy superior entre las vacunadas con Tetravalente (27.3%) que a las vacunadas con la Bivalente (7.1%).

TABLA 21. (a): Porcentaje de pacientes infectadas con virus tras la conización, (b): porcentaje con lesión residual/recurrente tras la conización y (c): porcentaje con lesión residual/recurrente entre las infectadas tras la conización $(b)=(a)*(c)$

| Vacuna | (a) % Con infección | (b) % Con recurrencia | (c) % Con recurrencia/ Infectadas |
|---------------|---------------------|-----------------------|-----------------------------------|
| No | 54.5% | 18.2% | 33.3% |
| Bivalente | 39.4% | 2.8% | 7.1% |
| Tetraivalente | 32.4% | 8.8% | 27.3% |

5.2. RESULTADOS DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO INFERENCIAL

5.2.1. Estudio de la asociación del estado de vacunación con la presencia de eventos tras la conización

Para estimar el efecto de la vacuna sobre la presencia de eventos (infección y lesión residual/recurrencia) tras la conización descartando efectos de confusión, en primer lugar, se construyó un modelo de regresión logística con la variable Vacuna (no-vacunada, bivalente, tetraivalente) como explicativa principal y controlado por las posibles variables confusoras: nacionalidad (española/ otra), paridad (número de hijos), anticonceptivos hormonales (consume si/no), DIU (uso si/no), preservativo (uso si/no), tipo de conización (quirófano/ ambulatoria), edad en el momento de la conización (en años), motivo de la conización (CIN 2 y CIN 3), PCR basal (grupo 1: HPV 16/18, grupo 2: HPV 31, 33, 45, 52 y 58, grupo 3: otros VPH de AR), Anatomía patológica conización (Negativa para malignidad, CIN 1, CIN 2, CIN 3, Ca infiltrante), márgenes conización (libres, contacta con borde exocervical, contacta con borde endocervical, contacta con ambos bordes), momento de vacunación (antes de conización/después).

Tras realizar el análisis estadístico encontramos que de entre todas estas variables tan sólo la edad en el momento de la conización confundía los resultados (variable confusora). Por tanto finalmente para este estudio se utilizó un modelo de regresión lineal con la variable Vacuna como explicativa principal y la variable edad en el momento de la conización como explicativa secundaria.

Nótese que debido a la fuerte colinealidad existente en nuestros datos entre el tipo de vacuna y el momento de vacunación (ver tabla 13) no es fácil estimar el efecto del momento de vacunación en la presencia de eventos. No obstante en

los modelos ajustados se obtuvo consistentemente que el momento de vacunación tenía menos poder explicativo en el desarrollo de lesión residual/recurrente e infección tras la conización que el tipo de vacuna.

5.2.2. Estudio de la asociación del estado de vacunación con la presencia de infección tras la conización

La tabla 22 recoge los datos obtenidos tras estudiar la relación entre el estado de vacunación de las pacientes y la presencia de infección tras la conización, sin tener y teniendo en cuenta la edad de las pacientes en el momento de la conización (sin ajustar y ajustando por la edad).

Si no tenemos en cuenta la edad de las pacientes en el momento de la conización, los datos obtenidos muestran con mucha evidencia que:

- (a) Las mujeres no vacunadas tienen 2.03 veces más posibilidad de reinfectarse que las vacunadas con IC al 95% (entre 1.18 y 3.50).
- (b) Las mujeres no vacunadas tienen 2.51 veces más posibilidad de infectarse que las vacunadas con el tipo Tetravalente con IC al 95% (entre 1.12 y 5.64). O lo que es lo mismo, vacunarse con Tetravalente reduce la posibilidades de infectarse en 2.51 veces. Mientras, la vacuna Bivalente reduce esta posibilidad en 1.84 veces.

Al ajustar por edad, tan sólo encontramos moderada evidencia de que después de la conización:

- (a) las mujeres no vacunadas tienen 1.75 veces más posibilidad de infectarse que las vacunadas.
- (b) las mujeres no vacunadas tienen 2.10 veces más posibilidad de infectarse que las vacunadas con el tipo Tetravalente. Es decir, vacunarse con Tetravalente reduce las posibilidades de infectarse en 2.10 veces.

Obsérvese que la tabla 22 pone de manifiesto que parte del efecto atribuido a las vacunas de reducir las posibilidades de infectarse es debido al factor edad. Esto puede justificarse ya que, independientemente de si están vacunadas o no, las pacientes jóvenes eliminan antes el virus que las mayores y además en este estudio las mujeres vacunadas son más jóvenes por término medio que las no vacunadas (ver tabla 13).

TABLA 22. Efecto (Odds Ratio (OR) e Intervalo de confianza al 95%) en la presencia de infección tras la conización, sin ajustar y ajustado por la edad, de: (a) vacunarse frente a no vacunarse, (b) no vacunarse frente a vacunarse con cada una de las vacunas y vacunarse con tetravalente frente a bivalente

| Infección | Sin ajustar por edad | | Ajustando por edad | |
|---------------------------|----------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| | ORatio | IC _{95%} | ORatio | IC _{95%} |
| Vacuna (a) | | | | |
| NoVac/Vac | 2.03 | (1.18 ; 3.50)*** | 1.75 | (0.97 ; 3.16)* |
| Tipo de vacuna (b) | | | | |
| NoVac/Bivalente | 1.84 | (1.00; 3.38)** | 1.61 | (0.84;3.08) |
| NoVac/Tetravalente | 2.51 | (1.12; 5.64)** | 2.10 | (0.90; 4.90)* |
| Tetra/Bivalente | 0.73 | (0.31; 1.74) | 0.77 | (0.32 ; 1.83) |

*P-valor < 0.1 ** P-valor ≤ 0.05 ***P-valor ≤ 0.01

5.2.3. Estudio de la asociación del estado de vacunación con el desarrollo de lesión residual/recurrente

La tabla 23 recoge los datos obtenidos tras estudiar la relación entre el estado de vacunación de las pacientes y el desarrollo de lesión residual/ recurrente. Los datos obtenidos muestran que después de la conización:

Si no tenemos en cuenta la edad de las pacientes en el momento de la conización, los datos obtenidos muestran con mucha evidencia que:

- (a) Las posibilidades de presentar lesión se multiplican por 4.42 si no se vacunan con IC al 95% (entre 1.60 y 12.19).
- (b) Las mujeres no vacunadas tienen 7.66 veces más posibilidad de presentar lesión tras la conización que las vacunadas con el tipo Bivalente con IC al 95% (entre 1.74 y 33.73).

Al ajustar por edad, tan sólo encontramos moderada evidencia de que después de la conización:

- (a) Las mujeres no vacunadas tienen 2.93 veces más posibilidad de presentar lesión que las vacunadas.

Y suficiente evidencia de que:

- (b) Las mujeres no vacunadas tienen 5.12 veces más posibilidad de presentar lesión que las vacunadas con el tipo Bivalente con IC al 95% (entre 1.10 y

23.90). Es decir, tenemos una confianza del 95% en que vacunarse con la Bivalente reduce las posibilidades de presentar lesión entre 1.10 y 23.90 veces. La vacuna Tetravalente reduce dicha posibilidad en 1.42 veces (aunque este resultado no es significativo).

TABLA 23. Efecto (Odds Ratio (OR) e Intervalo de confianza al 95%) en el desarrollo de lesión residual/recurrencia, sin ajustar y ajustado por la edad, de: (a) vacunarse frente a no vacunarse, (b) no vacunarse frente a vacunarse con cada una de las vacunas y vacunarse con tetravalente frente a bivalente

| Lesión residual/recurrencia | Sin ajustar por edad | Ajustando por edad |
|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| Vacuna (a) | ORatio IC _{95%} | ORatio IC _{95%} |
| NoVac/Vac | 4.42 (1.60; 12.19)*** | 2.93 (0.98; 8.76)* |
| Tipo de vacuna (b) | ORatio IC _{95%} | ORatio IC _{95%} |
| NoVac/Bivalente | 7.66 (1.74; 33.73)*** | 5.12 (1.10 ;23.90)** |
| NoVac/Tetravalente | 2.26 (0.63; 8.09) | 1.42 (0.37 ;5.53) |
| Tetra/Bivalente | 3.39 (0.54; 21.28) | 3.61 (0.57 ; 22.83) |

*P-valor < 0.1 ** P-valor ≤ 0.05 ***P-valor ≤ 0.01

5.2.4. Estudio de la asociación del estado de vacunación con el desarrollo de lesión residual/recurrente en pacientes infectadas tras la conización

Los datos obtenidos tras estudiar la asociación de la vacuna con el desarrollo de lesión residual/recurrente en pacientes infectadas tras la conización se ilustran en la tabla 24.

Si no tenemos en cuenta la edad de las pacientes en el momento de la conización, los datos obtenidos muestran con mucha evidencia que entre las mujeres infectadas tras la conización:

- (a) Las no vacunadas tienen 3.4 veces más posibilidad de desarrollar lesión residual/recurrente que las vacunadas con IC al 95% (entre 1.15 y 10.03).
- (b) Las no vacunadas tienen 6.5 veces más posibilidad de desarrollar lesión residual/recurrente que las vacunadas con el tipo Bivalente con IC al 95% (entre 1.40 y 30.17).

Al ajustar por edad, tan sólo encontramos moderada evidencia de que después de la conización:

- (b) Entre las mujeres infectadas tras la conización, las no vacunadas y las vacunadas con la Tetravalente tienen 4.57 y 5.68 veces, respectivamente, más posibilidad de presentar lesión residual/recurrente que las vacunadas con el tipo Bivalente.

TABLA 24. En pacientes infectadas tras la conización, efecto (Odds Ratio (OR) e Intervalo de confianza al 95%) en el desarrollo de lesión residual/recurrente, sin ajustar y ajustado por la edad, de: (a) vacunarse frente a no vacunarse, (b) no vacunarse frente a vacunarse con cada una de las vacunas y vacunarse con tetravalente frente a bivalente

| Recurrencia/ Infectadas | Sin ajustar por edad | | Ajustando por edad | |
|---------------------------|----------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| | ORatio | IC _{95%} | ORatio | IC _{95%} |
| Vacuna (a) | | | | |
| NoVac/Vac | 3.40 | (1.15 ; 10.03)** | 2.35 | (0.73; 7.52) |
| Tipo de vacuna (b) | | | | |
| NoVac/Bivalente | 6.50 | (1.4; 30.17)** | 4.57 | (0.93; 22.30)* |
| NoVac/Tetravalente | 1.33 | (0.32;5.58) | 0.80 | (0.17;3.77) |
| Tetra/Bivalente | 4.88 | (0.69; 34.48) | 5.68 | (0.78 ;41.20)* |

*P-valor < 0.1 ** P-valor ≤ 0.05 ***P-valor ≤ 0.01

Obsérvese que las tablas 23 y 24, de nuevo, ponen de manifiesto que parte del efecto atribuido a las vacunas de reducir las posibilidades de desarrollar lesión residual/recurrencia es debido al factor edad.

5.2.5. Estudio de la influencia del estado de los márgenes en la relación entre el estado de vacunación y la presencia de eventos tras la conización

5.2.5.1. Influencia del estado de los márgenes en la relación entre el estado de vacunación y la presencia de infección tras la conización

La tabla 25 ilustra los resultados obtenidos tras estudiar la relación de la vacuna con la aparición de infección tras el tratamiento, en función del estado de los márgenes de la pieza de conización.

TABLA 25. Porcentaje de pacientes infectadas tras la conización según el estado de vacunación y estratificando por el estado de los márgenes en el momento del cono. P-valores obtenidos con modelo de regresión logística ajustado por la edad de conización

| Márgenes afectados | Vacuna | Infección | | | P-valor |
|--------------------|--------|-----------|-----------|---------|---------|
| | | Datos (A) | Casos (B) | % (B/A) | |
| No | Si | 78 | 25 | (32.1%) | 0.015 |
| | No | 86 | 48 | (55.8%) | |
| Si | Si | 25 | 14 | (56.0%) | 0.518 |
| | No | 23 | 12 | (52.2%) | |

Cuando los márgenes no están afectados el riesgo de mostrar infección tras la conización en los vacunados (32.1%) es menor que en los no vacunados (55.8%). Esta diferencia es estadísticamente significativa incluso ajustando por la edad (P -valor= 0.015). Sin embargo, cuando los márgenes están afectados no encontramos diferencias significativas en el de riesgo de infección entre vacunados y no vacunados (P -valor= 0.518).

5.2.5.2. Influencia del estado de los márgenes en la relación entre el estado de vacunación y la presencia de lesión residual/recurrente

La tabla 26 ilustra los resultados obtenidos tras estudiar la relación de la vacuna con el desarrollo de lesión residual/recurrente tras el tratamiento en función del estado de los márgenes de la pieza de conización.

TABLA 26. Porcentaje de pacientes con lesión residual/recurrente, según el estado de vacunación y estratificando por el estado de los márgenes en el momento del cono. P-valores obtenidos con modelo de regresión logística ajustado por la edad de conización

| Márgenes afectados | Vacuna | Lesión residual/Recurrente | | | P-valor |
|--------------------|--------|----------------------------|-----------|---------|---------|
| | | Datos (C) | Casos (D) | % (D/C) | |
| No | Si | 79 | 2 | (2.5%) | 0.035 |
| | No | 88 | 15 | (17.0%) | |
| Si | Si | 25 | 3 | (12.0%) | 0.889 |
| | No | 28 | 6 | (21.4%) | |

Tal y como ilustra la tabla 26 el riesgo de desarrollar lesión residual/recurrente en los vacunados (2.5%) es menor que en los no vacunados (17.0%) cuando los márgenes están libres. Esta diferencia es estadísticamente significativa incluso ajustando por la edad (P -valor= 0.035). Sin embargo, cuando los márgenes están afectados no encontramos diferencias significativas de riesgo de desarrollar lesión residual/recurrencia entre vacunados y no vacunados (P -valor= 0.889).

5.2.6. Estudio de la influencia del tipo de virus basal en la relación entre el estado de vacunación y la presencia de eventos tras la conización

5.2.6.1. Influencia del tipo de virus basal en la relación entre el estado de vacunación y la presencia de infección tras la conización

La tabla 27 ilustra los resultados obtenidos tras estudiar la relación de la vacuna con el desarrollo de infección tras la conización, según el tipo de virus basal que presentan las pacientes.

Tal y como ilustra la tabla 27 cuando en el momento de la conización la paciente no tiene los virus 16 y 18 (virus vacunales) no encontramos diferencias significativas de riesgo de infección entre vacunados y no vacunados (P -valor= 0.548). Sin embargo, cuando la paciente tiene alguno de estos virus o los dos, el riesgo de mostrar infección tras la conización en los vacunados (32.7%) es menor que en los no vacunados (54.5%). Esta diferencia es estadísticamente significativa incluso ajustando por la edad (P -valor= 0.049).

TABLA 27. Porcentaje de pacientes infectadas tras la conización según el estado de vacunación y estratificando por estar o no infectada con el virus 16 y/o el 18 en el momento del cono. P-valores obtenidos con modelo de regresión logística ajustado por la edad de conización

| Virus 16 y/o 18 | Vacuna | Infección | | | P-valor |
|-----------------|--------|-----------|-------|---------|---------|
| | | Datos | Casos | % | |
| | | (A) | (B) | (B/A) | |
| No | Si | 49 | 22 | (44.9%) | 0.548 |
| | No | 54 | 30 | (55.6%) | |
| Si | Si | 52 | 17 | (32.7%) | 0.049 |
| | No | 55 | 30 | (54.5%) | |

5.2.6.2. *Influencia del tipo de virus basal en la relación entre el estado de vacunación y el desarrollo de lesión residual/recurrente*

La tabla 28 ilustra los resultados obtenidos tras estudiar la relación de la vacuna con el desarrollo de lesión residual/recurrente, en función del tipo de virus basal que presentan las pacientes.

TABLA 28. Porcentaje de pacientes con lesión residual/recurrente, según el estado de vacunación y estratificando por estar o no infectada con el virus 16 y/o el 18 en el momento del cono. P-valores obtenidos con modelo de regresión logística ajustado por la edad de conización

| | | Lesión residual/Recurrente | | | P-valor |
|-----------------|--------|----------------------------|-----------|---------|---------|
| Virus 16 y/o 18 | Vacuna | Datos (C) | Casos (D) | % (D/C) | |
| No | Si | 50 | 2 | (4.0%) | 0.646 |
| | No | 58 | 6 | (10.3%) | |
| Si | Si | 52 | 3 | (5.8%) | 0.045 |
| | No | 57 | 15 | (26.3%) | |

Tal y como ilustra la tabla 28, cuando en el momento de la conización la paciente no tiene los virus 16 y 18 no hay diferencias significativas de riesgo de desarrollar lesión residual/recurrente (P -valor= 0.646). Sin embargo, cuando la paciente tiene alguno de estos virus o los dos, el riesgo de desarrollar lesión residual/recurrente en los vacunados (5.8%) es menor que en los no vacunados (26.3%). Esta diferencia es estadísticamente significativa incluso ajustando por la edad (P -valor= 0.045).

VI. DISCUSIÓN

El efecto de la vacunación frente a la infección y a la enfermedad relacionada con el VPH ha sido claramente demostrada después de más diez años de ensayos clínicos fase III con más de 30.000 mujeres, incluidas aquellas mayores de 26 años (Garland et al., 2016b). La eficacia de estas vacunas se explica por la inducción de anticuerpos neutralizantes que previenen la infección, al unirse a los viriones y evitar que éstos se introduzcan en la célula huésped (Schiller et al., 2012). Los anticuerpos neutralizantes podrían hipotéticamente unirse a los viriones producidos por las células infectadas y de esa forma, reducirían la propagación de una infección existente, al limitar la capacidad del virus para infectar nuevas células (Hildesheim et al., 2016).

También es posible que la respuesta inmune mediada por células, inducida por la vacuna a L1, promueva la eliminación de las células infectadas (de Bruijn et al., 1998). Sin embargo, los esfuerzos iniciales para evaluar dicho efecto "terapéutico" de la vacuna no pudieron demostrar una eliminación más rápida o reducción de la persistencia de infecciones prevalentes (Hildesheim et al., 2007; Haupt et al., 2011; Szarewski et al., 2012).

Más recientemente, las aportaciones de estudios randomizados y no-randomizados sugieren un posible beneficio de la vacunación para prevenir la recurrencia de lesiones cervicales después del tratamiento escisional (Joura et al., 2012; Kang et al., 2013; Garland et al., 2016). Por el contrario, existen también trabajos en contra de este posible beneficio de la vacunación en pacientes infectadas por VPH y tratadas por lesiones asociadas a dicha infección (Hildesheim et al., 2016; Giannella et al., 2015).

En la tabla 29 se exponen los estudios que se han publicado a favor y en contra del efecto de la vacunación frente a VPH sobre la aparición de infección y/o recurrencia tras el tratamiento de la lesiones cervicales.

Tabla 29. Resumen de los estudios publicados sobre el Efecto de la Vacunación frente a VPH en pacientes tratadas por lesión cervical

| AUTORES | TIPO ESTUDIO | VACUNA | POBLACIÓN | INFECCIÓN VPH | LESIÓN RESIDUAL/RECURRENTE |
|-------------------------|-----------------------------------|--------------|------------|---|------------------------------------|
| <i>Joura, 2012</i> | <i>Post-hoc</i> | Tetravalente | 15-26 años | No se estudia | Reducción significativa |
| <i>Kang, 2013</i> | Retrospectivo | Tetravalente | 20-45 años | No se estudia | Reducción significativa |
| <i>Giannella, 2015</i> | Retrospectivo 2 casos clínicos | Tetravalente | 30-35 años | No se estudia | Progresión de las lesiones |
| <i>Garland, 2016</i> | <i>Post-hoc</i> | Bivalente | 15-25 años | No se estudia | Reducción significativa |
| <i>Hildesheim, 2016</i> | <i>Post-hoc</i> | Bivalente | 18-25 años | Efecto protector sobre nuevas infecciones | No se observa efecto significativo |

Las mujeres que han sido tratadas previamente, o están bajo tratamiento, por lesiones cervicales representan un grupo de alto riesgo para el desarrollo posterior de cáncer de cuello uterino (riesgo de 2 a 6 veces mayor en comparación con las mujeres con citología normal). Esto podría deberse a que las mujeres tratadas son un grupo de alto riesgo para nuevas infecciones por VPH, o debido a la displasia residual después de un tratamiento incompleto (Rebolj et al., 2012). Además el tratamiento de una lesión no siempre erradicará la infección cercana, ni la infección latente, que puede reactivarse y manifestarse como una infección productiva más adelante (Garland et al., 2016). Por este motivo, aunque se realice el tratamiento oportuno en los casos de CIN, existe un riesgo de enfermedad recurrente en torno al 5-15% para las diferentes técnicas (Kyrgiou et al., 2006). El tiempo medio de recurrencia se sitúa entre 9-10 meses aproximadamente, con un rango de 3-23 meses (Carter et al., 2006).

En nuestra serie obtuvimos una tasa de recurrencia de 11,9% (26/217). El tiempo medio de recurrencia desde la conización fue de 14.2 meses (6-24 meses).

El mecanismo preciso de acción de la vacunación para proteger frente a posterior lesión cervical en mujeres que ya han sido tratadas por una primera lesión es desconocido (Hildesheim et al., 2016). La vacuna podría proteger frente a infecciones de novo tanto para VPH vacunales como no vacunales, mediante protección cruzada. Otro mecanismo adicional sería el de evitar la reactivación viral en mujeres que se han infectado previamente y han desarrollado inmunidad adquirida con VPH-ADN no detectado. De este modo, la vacuna reforzaría la

respuesta inmune natural, manteniendo el virus latente, previniendo la reactivación a una infección productiva, con potencial desarrollo de lesión.

Las ventajas de prevenir la recurrencia de lesiones cervicales tras la conización serían, sobre todo, las de evitar un seguimiento clínico prolongado y segundos tratamientos, así como las de prevenir secuelas psicológicas negativas y ahorrar en gasto sanitario. La mayoría de las pacientes que sufren esta patología se sitúan alrededor de la tercera década de la vida, cuando la mujer aún no ha completado su deseo genésico. Actualmente se acepta que una segunda conización supone un riesgo dos veces mayor de parto prematuro (Jakobsson et al., 2009). En el aspecto económico sanitario, un parto prematuro puede oscilar entre 4500 dólares hasta 100.000 dólares, en caso de prematuridad extrema (Soilly et al., 2013). En general, la vacunación ha resultado costo-efectiva en la mayoría de estudios analizados, como el de Jit et al., 2014 en el que se analizaron los resultados en 179 países. Además del beneficio sobre la reducción de la incidencia de cáncer de cérvix, podría disminuir el gasto en su detección y en tratamientos de lesiones precursoras. En el caso de las pacientes sometidas a tratamiento escisional por lesiones precursoras de cáncer de cérvix, aunque no existen todavía resultados de coste-efectividad, se intuye que, de igual modo, serían positivos. Sin embargo, este tema sería interesante analizarlo en estudios futuros.

En cuanto al presente trabajo, para evaluar el efecto de la vacunación, el objetivo primario fue cuantificar la tasa de infección y de recurrencia tras la conización por CIN 2-3 en las revisiones posteriores durante 24 meses de las 252 pacientes que configuraron la población estudio. La infección se midió como evento positivo o negativo, sin diferenciar las nuevas infecciones (reinfecciones o reactivaciones) de las infecciones persistentes. Esto se debió fundamentalmente a la falta de datos sobre el estado VPH o el genotipo específico en muchas de las revisiones de las pacientes. Por este motivo, no disponemos de suficiente información para explicar el verdadero mecanismo por el que la vacunación podría disminuir la tasa de infección postratamiento. En cuanto a la infección viral sólo se tuvieron en cuenta los VPH de AR y se observó que en las lesiones residuales/recurrentes aparecía en el 100 % de los casos el mismo genotipo asociado a la primera lesión cervical. Este hallazgo coincidía con lo publicado por Kang et al., 2010 y 2013 y no se observa en el estudio de Garland et al., 2016. Para la presencia de lesión cervical postconización se consideró CIN 2-3, ya que es un concepto ampliamente aceptado como marcador surrogado para eficacia de la vacuna

contra el cáncer de cérvix en estudios de vacunas profilácticas (Pagliusi et al., 2004). Se excluyó el CIN 1, dado que éste se considera manifestación clínica de la infección del VPH y no como lesión precursora de cáncer de cérvix. Cualquier CIN 2-3 diagnosticada en cualquiera de las revisiones posteriores a la conización se consideró lesión residual/recurrente por la dificultad de diferenciar entre estos dos conceptos temporales y por la limitada sensibilidad de los métodos diagnósticos, como la citología, con una media que oscila alrededor del 53% (Cuzick et al., 2006).

Además, se analizaron la influencia que podrían tener sobre la vacunación y sus resultados finales (infección y/o recurrencia) variables clínicas, como el estado de los márgenes de la conización y el tipo de VPH encontrado en la primera lesión por la que se indicó el tratamiento.

Se analizó el efecto de las dos vacunas profilácticas frente al VPH, comercializadas hasta la fecha (bivalente y tetravalente) y el momento de la vacunación (antes o después de la conización).

El primer estudio que se publicó en mujeres vacunadas que habían sido tratadas por enfermedad relacionada con VPH fue el de Joura et al., 2012. Se trataba de un análisis a posteriori "*post-hoc*" dentro de las participantes del estudio FUTURE I y II (17622 mujeres 15-26 años, con menos de 4 parejas sexuales y sin anormalidades en la citología) randomizadas, doble ciego con vacuna tetravalente (587 pacientes) o placebo/vacuna hepatitis A (763 pacientes), que a lo largo del estudio precisaron tratamiento por enfermedad cervical, vulvar o vaginal relacionada con VPH. Los objetivos principales fueron valorar la presencia de estos tipos de lesiones 60 días o más después del tratamiento escisional cervical o del diagnóstico de verrugas genitales, VIN o VaIN. Se llegó a la conclusión de que la vacunación previa, entre mujeres que habían recibido tratamiento por enfermedad relacionada con VPH, reducía significativamente (46,2% de reducción, 95% intervalo de confianza, 22,5%-63,2%) la incidencia de enfermedad posterior, incluyendo las lesiones de alto grado.

El segundo estudio en publicarse fue el de Kang et al., 2013, en él se llevó a cabo un análisis retrospectivo sobre 737 pacientes de 20-45 años con diagnóstico histopatológico de CIN 2-3 que habían sido tratadas con técnica escisional (LEEP). A las pacientes se les ofreció la posibilidad de recibir la vacuna tetravalente una semana después del tratamiento, de forma que quedaron constituidos dos grupos (no vacunadas/vacunadas). La media de edad en los dos grupos de pacientes era similar (36,67 y 36,70 respectivamente). El seguimiento se realizó a los 3, 6, 12, 18

y 24 meses postratamiento y el objetivo final fue evaluar la eficacia de la vacuna en la tasa de reducción de CIN 2-3. No se tuvieron en cuenta otras lesiones del tracto genital inferior relacionadas con el VPH ni la infección VPH posterior al tratamiento. Como conclusiones, la afectación de márgenes, la citología endocervical positiva y el no haber recibido la vacuna se asociaron con un riesgo significativamente mayor para enfermedad recurrente ($P<0,01$). En el grupo de pacientes con lesiones CIN 2-3 relacionadas con VPH incluidos en la vacuna (16/18), a diferencia de las pacientes con lesiones no relacionadas con VPH vacunales, la vacunación supuso una reducción significativa de la tasa de recurrencia (2,5% y 8,5%, respectivamente; $P<0,05$). Este es el único estudio de los revisados en el que se evalúa la eficacia real de la vacuna en pacientes después de ser tratadas por lesión cervical asociada al VPH.

En 2016 se publicaron dos estudios con resultados contradictorios sobre la eficacia de la vacuna bivalente en mujeres tratadas (Garland et al.; Hildesheim et al.). El estudio de Garland fue un análisis *post-hoc* dentro del estudio fase III, randomizado, doble ciego PATRICIA que incluyó 18644 pacientes de 15-25 años, con menos de 6 parejas sexuales, independientemente del estado VPH y de la citología basal, con un seguimiento de 48 meses. Se configuraron dos grupos de mujeres que se habían sometido a tratamiento cervical, uno de pacientes vacunadas (bivalente frente a VPH) y otro de pacientes control (vacuna Hepatitis A). El objetivo principal fue evaluar la eficacia de la vacuna bivalente frente a CIN 2+, independientemente del tipo de VPH, a partir de los 60 días del tratamiento escisional. Otros objetivos fueron evaluar la eficacia contra CIN 2+ asociado a VPH 16 y/o 18 o frente a CIN 1+, VIN 1+ o Vain 1+ independiente o asociado a VPH 16 y/o 18, 60 días o más después de la cirugía. Las conclusiones fueron que existía un efecto de protección cruzada para tipos de VPH no contenidos en la vacuna (Wheeler et al., 2012) con una eficacia del 88% frente a posterior CIN 2+, independientemente del tipo de VPH causal. No se observó, sin embargo, eficacia contra CIN 1+ posterior, independientemente del tipo de VPH, aunque sí se demostró eficacia para CIN 1+ asociado a los tipos vacunales de VPH.

El estudio de Hildesheim et al., 2016 es un análisis *post-hoc* del Costa Rica HPV Vaccine Trial, con la vacuna bivalente, en el que participaron 1711 mujeres entre 18-25 años con un seguimiento de 56,7 meses. Como en el estudio de Garland et al., 2016 las pacientes sometidas a tratamiento no se randomizaron para recibir o no la vacuna y tuvieron un seguimiento de 27,3 meses. Se clasificó la presencia de

VPH basal en (negativo; 16/18; 31/33/45; otros oncogénicos, ninguno oncogénico). Es el único de los revisados, junto a nuestro estudio, en el que se evalúa la tasa de infección VPH además de la recurrencia de enfermedad asociada a VPH.

Los objetivos principales fueron evaluar el impacto de la vacuna bivalente:

- sobre la infección prevalente en el momento de la vacunación no se encontraron diferencias significativas en la tasa de aclaramiento de la infección VPH ni de progresión, al igual que en otros estudios (Hildesheim et al., 2007; Haupt et al., 2011; Szarewski et al., 2012). Las vacunas VPH son profilácticas y no proporcionan beneficio terapéutico añadido.
- sobre la tasa de infección VPH y/o lesión cervical después de tratamiento tampoco se obtuvieron diferencias significativas. Se evidenció, sin embargo, un posible beneficio en la tasa de nuevas infecciones postratamiento, demostrando una eficacia significativa frente a los tipos 31/33/45 y otros VPH oncogénicos y no significativa para nuevas infecciones asociadas a VPH 16/18. Este resultado merecería consideración en futuros estudios. En resumen, concluyen que la vacuna no aporta beneficio secundario ni terapéutico e indica que el beneficio de vacunar a las mujeres que reciben tratamiento por enfermedad asociada al VPH, sugerido por otros estudios, estaría probablemente limitado a un pequeño número de mujeres con lesiones causadas por nuevas infecciones VPH después del tratamiento.

En el trabajo de Gianella et al., 2015 se presentan dos casos de mujeres jóvenes, con diferente historia clínica, que se sometieron a vacunación frente a VPH después de un procedimiento de escisión con asa de diatermia (LEEP) por CIN de alto grado y CIN 1 persistente. Durante el seguimiento ambas mujeres experimentaron un agravamiento de sus lesiones cervicales finalizando en un cáncer cervical invasivo y en una displasia severa, respectivamente. Como conclusión, se demostró que una administración de la vacuna frente a VPH postconización no personalizada fue cara e innecesaria.

6.1. VARIABLES DEMOGRÁFICAS DE LA POBLACIÓN

6.1.1. Edad

En el presente estudio las pacientes tenían una edad comprendida entre 18 y 68 años (media 37,32 años). Revisando la bibliografía, entre los trabajos que

estudian el efecto de la vacuna en pacientes tratadas por enfermedad cervical relacionada con VPH, sólo se encontró el de Kang et al., 2013 que incluyó pacientes mayores de 26 años, con un intervalo entre los 20-45 años; el resto de trabajos analizados incluyeron pacientes menores de 26 años. En nuestra serie la media de edad en el grupo de no vacunadas era mayor que la del grupo de vacunadas (41,5 frente a 32.8 respectivamente). Se encontró una influencia significativa de la edad ($P < 0,01$) sobre el riesgo de CIN 2-3 residual/recurrente (1,037 por año más de vida de la paciente en el momento de la conización).

En el estudio de Kang et al., 2013 la media de edad fue de 36,7 en los dos grupos (no-vacunadas vs. vacunadas) y no encontraron diferencias significativas en la edad para la recurrencia ($P = 0,935$). Sin embargo, Verguts et al., 2006 encontraron que las mujeres con recurrencia eran significativamente mayores ($P = 0,007$). Igualmente Paraskevaidis et al., 2003 llegan a la conclusión que la única característica que alcanzó significación estadística para la recurrencia fue la edad. La edad media de las mujeres con recidiva fue de 35.8 años, mientras que la edad promedio de las mujeres sin recurrencia fue de 32.8 años ($P = 0.044$).

Esta asociación entre la edad y la recurrencia y/o infección postratamiento podría estar justificada por cambios en la inmunidad innata y adquirida del huésped. Se han observado alteraciones sobre los linfocitos T y las NK que podrían explicar la mayor duración de las infecciones VPH en pacientes de avanzada edad (Huang et al., 2005). Sin embargo, la respuesta antigénica a la vacuna no depende tanto de la edad, como reflejan los resultados del estudio HPV-FASTER en mujeres mayores de 45 años (Bosch et al., 2016). En el análisis por protocolo, la eficacia de la vacuna tetravalente para la combinación de infección persistente, CIN y/o lesiones genitales externas relacionados con los tipos de VPH vacunales fue del 88,7%, y la eficacia de la vacuna bivalente para la combinación de infección persistente y/o CIN fue del 81,1.

Por tanto, recomendando la vacunación a pacientes de mayor edad estaremos previniendo posibles reinfecciones o reactivaciones por VPH que en la mayoría de los casos serán persistentes.

6.1.2. Origen geográfico

La mayoría de las pacientes de este estudio eran españolas (88,5%), en orden de frecuencia les seguía América Latina (6,3%) y Europa del Este (4%). No se

encontraron diferencias significativas ($P=0,777$) debidas al origen geográfico, para recurrencia de lesión.

En el estudio de Garland et al., 2016 se tuvo en cuenta la variable raza, no encontrando tampoco diferencias significativas en cuanto a recurrencia de CIN 2+ a partir de los 60 días postratamiento.

En el trabajo actual más del 90 % de las pacientes pertenecían a la raza blanca caucasiana y las diferencias epidemiológicas podrían derivarse de los distintas variantes geográficas de los VPH que hubieran causado las lesiones por las que entraron en el estudio. Sin embargo, esta variable no fue estudiada y puede ser objeto de futuros estudios.

6.2. VARIABLES RELACIONADAS CON LOS COFACTORES IMPLICADOS EN EL DESARROLLO DE LESIÓN PRENEOPLÁSICA Y CÁNCER CERVICAL

6.2.1. Tabaco

En nuestra serie el 61,4% de la población eran fumadoras. Aunque el número de fumadoras era mayor en el grupo de las pacientes con lesión postratamiento, no se encontró relación significativa con la tasa de enfermedad residual/recurrente ($P=0,859$).

En los estudios de Kang et al., 2013 y de Hildesheim no se tuvo en cuenta esta variable.

En los estudios de Joura et al., 2012 y Garland et al., 2016 sí se valoró el tabaco, no encontrando diferencias significativas en cuanto a la recurrencia de enfermedad CIN 2+ 60 días o más después del tratamiento.

Paraskevaidis et al., 2003 no observaron diferencias significativas en relación al tabaco.

El tabaco tiene un efecto carcinogénico directo y además produce alteración de la inmunidad local en el cuello uterino, contribuyendo a la persistencia de la infección (Syrjänen et al., 2007).

Aunque no se encuentren diferencias significativas, al igual que en otras patologías tumorales relacionadas con el tabaco, éste puede ser un factor de mayor riesgo de incidencia y de progresión a tener en cuenta.

6.2.2. Paridad

Se ha postulado que el mantenimiento durante muchos años de la zona de transformación en el exocérnix en mujeres multíparas puede facilitar la exposición al VPH (International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer et al., 2006).

En el estudio actual el 69,8% de las pacientes tenían 1 ó más partos. El número de partos no fue un factor de riesgo independiente para enfermedad residual/recurrente ($P=0,204$).

En el resto de trabajos revisados, en los que se evalúa la vacunación, no se tuvo en cuenta esta variable en el estudio de la recurrencia. Sin embargo, Paraskevaidis et al., 2003 tampoco observaron diferencias significativas en relación a la paridad con la recurrencia.

6.2.3. Menopausia

Sólo el 14,7% de nuestras pacientes eran menopáusicas en el momento de la conización. Se encontró relación significativa ($P=0,002$) entre el estado menopáusico y la enfermedad residual/recurrente postratamiento. Este hecho puede explicarse probablemente por la asociación directa entre menopausia y mayor edad de la paciente. Según el metanálisis de de San José et al., 2006 en esta etapa puede existir una pérdida gradual de la inmunidad tipo específica, ocasionada por influencias hormonales responsables, a su vez, de posibles reactivaciones de infecciones previamente no detectables, adquiridas a una edad más temprana.

Un estudio llevado a cabo por Kang et al., 2016 con 206 mujeres postmenopáusicas con CIN 2-3 tratado mediante LEEP puso en evidencia que la infección persistente por el mismo genotipo de VPH de AR, especialmente el VPH 18, debería ser considerado un factor de riesgo para recurrencia CIN 2-3 ($P<0,05$).

En ninguno de los estudios revisados de valoración de la eficacia de la vacuna en la recurrencia de lesiones se evaluó esta variable.

6.2.4. Uso de Anticonceptivos Hormonales

Se postula que los estrógenos y progestágenos pueden potenciar la expresión de genes del VPH en el cérnix a través de mecanismos mediados por receptores

de progesterona y elementos de respuesta hormonal en el genoma viral (Brake et al., 2005; Spurgeon et al., 2014). Otros estudios, en cambio, defienden que los anticonceptivos no son un riesgo independiente para CIN o infecciones de VPH de alto riesgo; sino que los resultados observados se debían al comportamiento sexual diferente en este grupo de mujeres (Syrjänen et al., 2006).

En el presente estudio el 43,7% de las pacientes utilizaban algún método anticonceptivo hormonal de estro-progestágenos en el momento de la conización. No se encontró diferencia significativa ($P=0,963$) en cuanto a recurrencia de lesión CIN 2-3. Sin embargo, a la mayoría de las pacientes se les recomendaba, tras el diagnóstico de la lesión cervical, el uso de preservativo, con el consiguiente abandono de los anticonceptivos hormonales, para acelerar el aclaramiento de la infección VPH (ver apartado 6.2.6 Uso de preservativo).

En ninguno de los estudios revisados de eficacia de la vacuna en pacientes tratadas se evaluó esta variable.

6.2.5. Uso de DIU

En el 2011, Xavier Castellsagué et al. encontraron una fuerte relación inversa entre el uso de DIU y el cáncer cervical ($P<0,0001$), que podría explicarse por mecanismo de abrasión sobre el tejido alterado o por cambios inmunológicos que consiguieran el aclaramiento viral.

De todas nuestras pacientes estudiadas, sólo el 5,6% eran portadoras de DIU. Ninguna de las 14 pacientes que eran portadoras de DIU desarrollaron enfermedad residual/recurrencia postratamiento, aunque no se demostró influencia significativa ($P=0,356$).

En ninguno de los estudios revisados de eficacia de la vacuna en pacientes tratadas se evaluó esta variable.

6.2.6. Uso de Preservativo

La eficacia del preservativo para la transmisión del VPH es controvertida, aunque parece ofrecer cierta protección frente a la displasia cervical de alto grado y el cáncer invasor (Manhart et al., 2002). Podría promover la resolución de la neoplasia cervical y las lesiones de pene, así como acelerar el aclaramiento de la infección tanto en mujeres como en hombres.

La gran mayoría de las pacientes del presente estudio (80,6%) no eran usuarias de preservativo. De las 49 pacientes que lo utilizaron, ninguna desarrolló recurrencia, aunque la diferencia entre los dos grupos no llegó a ser significativa ($P=0,07$).

En ninguno de los estudios revisados de eficacia vacunal en mujeres tratadas se evaluó esta variable.

6.3. VARIABLES RELACIONADAS CON LA VACUNACIÓN

6.3.1. Estado de vacunación

Del total de las 252 pacientes de nuestra población, 106 recibieron alguna de las 2 vacunas, mientras que 117 pacientes no se vacunaron. Del resto de la población se desconocía el estado vacunal. De este modo, los dos grupos seleccionados, vacunadas/no-vacunadas son homogéneos como en el resto de estudios revisados.

En el estudio de Kang se incluyeron 737 pacientes, de las cuales 360 constituyeron el grupo vacunal y 377 el grupo no-vacunal.

En el estudio de Joura con un tamaño muestral inicial de 17622 mujeres, se configuraron 2 grupos después del tratamiento. El grupo vacunal con 587 pacientes y el grupo placebo con 763 pacientes.

En el estudio de Garland con 18644 pacientes reclutadas al inicio se diseñaron 2 grupos después del tratamiento escisional. El grupo vacunal con 190 pacientes y el grupo placebo con 264 pacientes.

En el estudio de Hildesheim con una población muestral de 1711 mujeres se configuraron 2 grupos después del tratamiento escisional. El grupo vacunal con 142 pacientes y el grupo placebo con 169 pacientes.

El estudio de Giannella sólo publica los resultados tras el seguimiento de dos pacientes sometidas a tratamiento escisional y vacunadas posteriormente.

6.3.2. Tipo de vacuna recibida

En este estudio se valoran conjuntamente dos tipos de vacuna diferentes en cuanto a su carga antigénica y a su poder inmunógeno. En general, la vacuna bivalente se considera que es capaz de desarrollar títulos de anticuerpos neutralizantes superiores a los de la tetravalente tanto para VPH 16 como 18

(Romanowski, 2011). Además, la vacuna bivalente demostró ofrecer mayor protección cruzada que la tetravalente (estudios PATRICIA y FUTURE).

En nuestra serie de las 106 pacientes vacunadas, recibieron la vacuna bivalente 72 y la tetravalente 34 pacientes. En el resto de trabajos revisados se evalúa independientemente la vacuna bivalente (Garland et al., 2016; Hildesheim et al., 2016) o la tetravalente (Joura et al., 2012; Kang et al., 2013; Giannella et al., 2015).

En la consulta de Patología Cervical del HUSL, tras el diagnóstico de neoplasia cervical intraepitelial, se recomendaba, indistintamente, cualquiera de las dos vacunas a todas las pacientes. A partir de abril de 2014 el Servicio Murciano de Salud aprobó la financiación de la vacuna bivalente para todas aquellas pacientes conizadas por CIN 2-3. Se administraba la primera dosis durante el primer mes tras el tratamiento. Por ese motivo, contamos con más pacientes vacunadas con bivalente, dado el elevado precio de la vacuna.

En el estudio de Kang et al., 2013 la vacuna recomendada era exclusivamente la tetravalente y el grupo control, como en nuestro caso, lo constituían las pacientes que no habían recibido la vacuna.

En el resto de trabajos revisados, las pacientes en el grupo control recibían la vacuna de Hepatitis A como placebo.

6.3.3. Momento de la vacunación

En el presente estudio valoramos el momento de vacunación antes o después de realizar el procedimiento escisional, pero siempre después de ser diagnosticada la neoplasia intraepitelial de alto grado. Las pacientes se administraban la vacuna inmediatamente antes o después de la conización.

En el estudio de Kang et al., 2013 la vacuna tetravalente se administró en todos los casos una semana después del LEEP, completando las restantes dosis a los 2 y a los 6 meses respectivamente de la primera. En el estudio de Giannella et al., 2015 publican dos casos de pacientes que recibieron la vacuna tetravalente después del tratamiento. En los otros trabajos la vacuna bivalente se administró dentro de ensayos clínicos multicéntricos para evaluar la eficacia de la vacuna: Estudio PATRICIA (Garland et al., 2016) y del Estudio Costa Rica (Hildesheim et al., 2016). En el estudio de Joura et al., 2012, la vacuna tetravalente fue administrada dentro del Estudio FUTURE I y II. Es decir, en los tres casos la vacunación se realizó antes del diagnóstico de la lesión y del tratamiento y los resultados obtenidos son

los de un estudio *post-hoc*. Por tanto, no se puede evaluar el efecto directo de la vacuna tras la conización.

6.4. VARIABLES CLÍNICAS

6.4.1. Motivo de la Conización

En este estudio que se presenta el motivo de conización fue CIN 2 en el 41,6% de las pacientes y CIN 3 en el 58,4%. En el estudio de Kang et al., la indicación más frecuente también fue CIN 3 y, como en nuestro caso, no se evidenciaron diferencias significativas en cuanto a la recurrencia ($P=0,255$; $P>0,99$, respectivamente). En los estudios de Joura y Garland se incluyeron pacientes que habían recibido tratamiento tanto para lesión cervical, como para lesión vulvar o vaginal. En el estudio de Hildesheim las pacientes en algún momento del estudio habían recibido tratamiento por lesión premaligna y, al igual que en los dos anteriores, fueron randomizadas en el momento que entraron en el estudio principal y no en el momento de la conización.

En el estudio de Gianella los dos casos publicados se trataban de un CIN 1 persistente y de un CIN 3.

6.4.2. Tipo de conización

A las pacientes de nuestro estudio se les realizó la conización cervical en quirófano hasta mayo de 2013, con asa de diatermia y anestesia regional o sedación. A partir de esta fecha, el tratamiento pasó a realizarse en ámbito ambulatorio mediante la misma técnica, pero con anestesia local. Se observó en nuestra serie que la conización quirúrgica se asociaba a una tasa menor de recurrencia, pero que no alcanzó diferencia significativa ($P=0,098$). De hecho, tras la revisión de los informes macroscópicos de los estudios histopatológicos de las piezas de conización no se encontraron diferencias sustanciales en la altura de los conos, siendo la media en los dos grupos de conizaciones 10-11 mm. En general, se acepta que para un resultado óptimo de erradicación, mediante métodos destructivos o escisionales, es preciso alcanzar una profundidad de 6-8 mm (Guido et al., 2003).

Observamos tras la implementación de la técnica ambulatoria, la misma tasa de curaciones, recurrencias y una mayor satisfacción por parte de la paciente, así como una optimización de recursos económicos.

6.4.3. Estado de los márgenes de la pieza de conización

En el presente estudio el estado de los márgenes resultó libre de lesión o negativo en el 75,7% de los casos. En el 11,2 % la lesión afectaba al margen endocervical y en el 3,1% a ambos márgenes. No se encontró diferencia significativa entre el estado de afectación de márgenes y la tasa de recurrencia ($P= 0,621$). Posiblemente esto se puede justificar por el efecto térmico del asa de diatermia y la reacción inflamatoria sobre el lecho cervical de conización, que se asocia a tasas muy bajas de lesión residual en piezas de histerectomía realizadas en pacientes con afectación de márgenes.

En general, existen estudios a favor del estado de los márgenes como factor de riesgo de recurrencia (Robinson et al., 1998; Alonso et al., 2006,) y en contra (Murdoch et al., 1992; Verguts et al., 2006)

Tanto el estudio de Kang, como en el de Garland encuentran influencia significativa del estado de los márgenes ($P<0,01$).

Los estudios de Joura y de Hildesheim no tuvieron en cuenta el estado de los márgenes.

6.4.4. Test de VPH basal (preconización)

En este estudio en el 50,4 % de los casos se aisló alguno de los VPH vacunales (16/18) antes del tratamiento. El genotipo más frecuentemente aislado fue el VPH 16, como en la mayoría de trabajos revisados.

En el 12,9% de las pacientes se aisló alguno de los VPH incluidos en la nueva vacuna nonavalente, en el 33% otros VPH de alto riesgo oncogénico y en 3,7% de las pacientes la detección para VPH fue negativa.

En nuestro estudio se comprobó que el VPH basal coincidía en todos los casos con el tipo de VPH aislado en la lesión CIN 2-3 postratamiento. Esto mismo se pudo demostrar en el estudio de Kang et al., 2013 y en otro anterior de este mismo autor de 2010. No se demostró, en cambio, en el estudio de Garland et al., 2016.

6.4.5. Aclaramiento VPH postratamiento

En más del 50 % de los casos tras la conización se produce el aclaramiento del VPH (Elfgrén et al., 2002). En publicaciones recientes, hay una fuerte evidencia

de que el test VPH postratamiento con LEEP puede predecir la probabilidad de enfermedad residual o recurrente (Chua et al., 1997; Nagai et al., 2000; Paraskevaidis et al., 2001). El test VPH a los 6 meses de la conización puede ser un marcador de enfermedad recurrente con mayor sensibilidad y similar especificidad que la citología (Kocken et al., 2012).

En el presente estudio se confirmó el aclaramiento en el 52,1% de las pacientes a los 6 meses postratamiento. Se pudo demostrar, como en el resto de bibliografía, una relación significativa entre las pacientes que conseguían el aclaramiento para VPH a los 6 meses de la conización y una menor tasa de recurrencia ($P=0,04$).

Con respecto a los estudios de eficacia de la vacuna en pacientes tratadas, el trabajo de Hildesheim et al., 2016 es el único de los revisados que evalúa el efecto de la vacuna sobre el aclaramiento de VPH, concluyendo que no existen diferencias significativas entre los grupos de vacunadas/placebo.

6.4.6. Seguimiento postconización

En este estudio, revisamos a las pacientes según el Protocolo de la SEGO en su Guía de Prevención del Cáncer Cervical 2014 (figura 64) a los 6, 12, 18 y 24 meses. Posteriormente, si el co-test había sido negativo se recomendaba co-test a los 3 años, pasando al cribado rutinario durante un mínimo de 20 años.

En caso de márgenes positivos o legrado endocervical positivo se realizaba la primera revisión a los 4 meses.

Alonso et al., 2006 revisaron a las pacientes a los 6, 12, 18 y 24 meses y después al año, adelantando el primer control a los 3 meses cuando los márgenes eran positivos.

Prato et al., 2007 recomiendan diferentes pautas de seguimiento postratamiento, dependiendo de la persistencia VPH a los 3 meses y del estado de los márgenes (3, 9 y 18 meses). Debido al riesgo aumentado para cáncer de cérvix durante los primeros ocho años, hasta cinco veces más que la población general, estaría indicado prolongar el seguimiento un mínimo de 10 años (Soutter et al., 1997).

6.5. EVALUAR SI LA VACUNACIÓN FRENTE AL VPH DISMINUYE LA INCIDENCIA DE LESIÓN PREMALIGNA RESIDUAL/RECURRENTE Y/O LA TASA DE INFECCIÓN VPH EN PACIENTES CONIZADAS POR CIN 2-3

En este estudio el objetivo principal es evaluar la asociación entre la vacunación con cualquiera de las dos vacunas disponibles hasta la fecha (bivalente o tetravalente) y la presencia de eventos tras la conización (infección y/o lesión residual o recurrente). Se evaluó la influencia, por separado, de cualquiera de las dos vacunas (bivalente o tetravalente) y la del momento de la vacunación (antes o después de la conización).

6.5.1. Estudio de la asociación del estado de vacunación con la presencia de infección tras conización

Tras ajustar por la edad en el momento del diagnóstico (variable confusora) los datos de las pacientes de nuestro estudio, encontramos moderada evidencia ($P < 0,1$) de que después de la conización:

- Las mujeres no vacunadas tienen 1,75 veces más posibilidad de infectarse que las vacunadas.
- Las mujeres no vacunadas tienen 2,10 veces más posibilidad de infectarse que las vacunadas con el tipo tetravalente.

Es decir, la vacuna tiene un efecto moderado, con cierta tendencia a la significación estadística sobre la tasa de infección. Es posible que pudiéramos obtener significación aumentando el tamaño muestral. De todos modos, este sería objetivo de futuros estudios.

De todos los estudios revisados de eficacia de vacuna en conizadas, el de Hildesheim es el único que evalúa la tasa de infección postratamiento, observando sólo una eficacia significativa sobre la incidencia de nuevas infecciones para VPH 31, 33, 45 y otros tipos oncogénicos y no significativa frente a nuevas infecciones asociadas a VPH 16/18.

6.5.2. Estudio de la asociación del estado de vacunación con el desarrollo de lesión residual/recurrente

Tras ajustar por la edad en el momento del diagnóstico (variable confusora) los datos de las pacientes de nuestro estudio, encontramos que después de la conización:

- Las mujeres no vacunadas tienen 2,93 veces más posibilidad de presentar lesión que las vacunadas (moderada evidencia: $P < 0,1$).
- Las mujeres no vacunadas tienen 5,12 veces más posibilidad de presentar lesión que las vacunadas con el tipo bivalente (suficiente evidencia: $P \leq 0,05$). El efecto encontrado con la vacuna tetravalente, en cambio, no fue significativo.

Es decir, la vacuna bivalente tiene un efecto significativo en la reducción de la recurrencia de lesiones. Esto se puede explicar porque la vacuna bivalente es más inmunógena. En general, la vacuna bivalente indujo títulos de anticuerpos neutralizantes superiores a los de la tetravalente tanto para VPH 16 como 18 (Romanowski, 2011). Además tiene más protección cruzada que la bivalente, incluso para mujeres mayores de 25 años, en las que no existen estudios para la vacuna tetravalente. La vacuna bivalente demostró eficacia significativa frente a VPH 31, 33, 45 y 52 (Wheeler et al., 2012).

Al no observar asociación significativamente estadística en nuestro estudio entre la vacunación y la tasa de infección postratamiento, a pesar de encontrar disminución significativa de la recurrencia, se nos plantean ciertas cuestiones que no hemos podido contestar. La disminución de la recurrencia podría estar justificada por otros factores diferentes a la reinfección, como por ejemplo la reactivación, el aclaramiento viral u otro mecanismo desconocido. Lo que sí logramos demostrar es que la vacunación con bivalente aseguraba menor tasa de recurrencia, entre otros motivos, por su mayor reactividad cruzada y poder inmunógeno a largo plazo. Se acepta, que respecto al VPH 18, mientras que el 100% de las vacunadas con bivalente se mantienen seropositivas, la seropositividad para las vacunadas con tetravalente desciende al 61-77% a los 44 meses (de Vincenzo et al., 2014). Para conocer el mecanismo exacto de disminución de recurrencia de las vacunas profilácticas frente a VPH es necesario estudios adicionales.

- El trabajo de Joura et al., 2012 demostró una eficacia significativa de la vacuna tetravalente en la reducción de recurrencia (46,2%) para enfermedad relacionada con VPH, 60 días o más posterior al tratamiento, incluyendo lesión de alto grado, independientemente del tipo de VPH.
- El estudio de Kang et al., 2013 demostró que recibir la vacuna tetravalente se asociaba con una reducción significativa para recurrencia CIN 2-3 ($P<0,01$), independientemente de otros factores como la afectación de los márgenes y la citología endocervical positiva.
- En el estudio de Garland et al., 2016 encontraron que existía un efecto de protección cruzada de la vacuna bivalente para tipos de VPH no contenidos en la vacuna (Wheeler et al., 2012) con una eficacia del 88% frente a posterior CIN 2+, independientemente del tipo de VPH causal, 60 días o más posterior a la cirugía. No se observó, sin embargo, eficacia contra CIN 1+ posterior, independientemente del tipo de VPH, aunque sí se demostró eficacia para CIN 1+ asociado a tipos vacunales de VPH.
- En el estudio de Hildesheim et al., 2016 con la vacuna bivalente no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la tasa de lesión cervical postratamiento.
- En el estudio de Gianella et al., 2015 sólo se presentan dos casos de mujeres que recibieron la vacuna tetravalente postratamiento escisional por CIN 1 persistente y CIN 3 que experimentaron un agravamiento de sus lesiones, finalizando en un cáncer cervical invasivo y en una displasia severa, respectivamente.

6.5.3. Estudio del momento de vacunación con el desarrollo de eventos tras la conización

En nuestra serie existía una fuerte colinealidad entre el tipo de vacuna y el momento de la vacunación, ya que la gran mayoría de las pacientes que recibieron la vacuna bivalente fueron aquellas que se acogieron al programa de vacunación financiada después de la conización. No obstante, en los modelos ajustados se obtuvo que el momento de la vacunación era menos determinante, que el tipo de vacuna, para el desarrollo de eventos tras la conización.

En ninguno de los estudios revisados se evaluó el momento de vacunación.

6.6. CONOCER SI SOBRE EL EFECTO DE LA VACUNACIÓN EN MUJERES TRATADAS POR CIN 2-3 PUEDEN INFLUIR CIERTAS VARIABLES CLÍNICAS (ESTADO DE LOS MÁRGENES DEL CONO Y/O TIPO DE VPH ASOCIADO A LA PRIMERA LESIÓN)

6.6.1. Influencia del estado de los márgenes en la relación entre el estado de vacunación y la presencia de infección tras conización

En nuestra serie observamos, cuando los márgenes eran libres, que el riesgo de mostrar infección VPH en las vacunadas era 32,1% frente a 55,8% en las no-vacunadas ($P=0,015$). Esta diferencia era significativa, incluso ajustando por edad. Sin embargo, cuando los márgenes estaban afectados no se encontraron diferencias significativas ($P=0,518$).

Tras el tratamiento de las lesiones cervicales no siempre se erradica la infección cercana, ni la infección latente, que puede reactivarse y manifestarse como una infección productiva más adelante (Garland et al., 2016). Esta situación de infección persistente debe de ser más frecuente en casos de márgenes afectos. La vacunación, aunque no tiene efecto terapéutico si podría contribuir de alguna manera en “bloquear” la carga viral, limitando la capacidad de infectar otras células (Hildesheim et al., 2016).

El resto de estudios sobre vacunación revisados no analizan el efecto de los márgenes del cono sobre la infección postratamiento.

6.6.2. Influencia del estado de los márgenes en la relación entre el estado de vacunación y la presencia de lesión residual/recurrente

En el presente trabajo se observó que, cuando los márgenes eran libres, el riesgo de desarrollar lesión residual/recurrente era menor (2,5%) en las pacientes vacunadas, frente a las no-vacunadas (17,0%). Esta diferencia era estadísticamente significativa ($P=0,035$), incluso ajustando por edad. Sin embargo, cuando los márgenes eran afectos no se encontraron diferencias significativas para lesión residual/recurrente entre las pacientes vacunadas y no vacunadas ($P=0,889$).

En este caso al efecto de disminución de la recurrencia de la vacuna se le suma el efecto protector frente a recurrencia de los márgenes libres del cono. Aunque el estado de los márgenes no sea un factor de riesgo de recurrencia en

muchos estudios por el consecuente efecto térmico y reacción inflamatoria en el cuello uterino tras el tratamiento escisional con asa de diatermia (Verguts et al., 2006).

Tanto el estudio de Kang como en el de Garland encuentran influencia significativa del estado de los márgenes ($P < 0,01$) como factor de riesgo independiente sobre la recurrencia. En el estudio de Kang se demostró la reducción significativa de la vacuna tetravalente, incluso cuando los márgenes eran positivos ($P < 0,01$).

6.6.3. Influencia del tipo de VPH basal asociado a la lesión en la relación entre el estado de vacunación y la presencia de infección tras la conización

En nuestro estudio se observó que en pacientes con lesiones asociadas a alguno de los tipos de VPH vacunales (16/18) disminuía el riesgo de mostrar infección tras la conización, en las pacientes vacunadas (32,7%), frente a las no vacunadas (54,5%). Esta diferencia es estadísticamente significativa, incluso ajustando por edad ($P = 0,049$). Sin embargo, en pacientes con lesiones asociadas a tipos de VPH no vacunales no se observaron diferencias significativas ($P = 0,548$). Esto podría explicarse más como un efecto sobre la reactivación o reinfección que sobre la disminución de nuevas infecciones, pero merecería estudios posteriores.

En el estudio de Hildesheim se observó una reducción significativa de la vacuna bivalente para nuevas infecciones asociadas a VPH 31/33/45 y otros tipos oncogénicos. Sin embargo, no se observó reducción significativa para los tipos VPH 16/18. Esto puede explicarse por la protección cruzada atribuida a la vacuna bivalente frente a VPH 31, 33, 45 y 52 (Wheeler et al., 2012), mientras que la vacuna tetravalente sólo resultó tener protección cruzada para VPH 31 (Brown et al., 2009). En las mujeres adultas (≥ 26 años) la vacuna bivalente demostró eficacia significativa frente a infección persistente a los 6 meses por los VPH 31 y 45 en el análisis por protocolo. Cuando se tenía en cuenta la cohorte ITT, se observó protección significativa frente al VPH 45 pero no frente al VPH 31 (Skinner et al., 2014). No se han presentado resultados de protección cruzada de la vacuna tetravalente para mujeres adultas (Bruni et al., 2015).

6.6.4. Influencia del tipo de VPH basal asociado a la lesión en la relación entre el estado de vacunación y el desarrollo de lesión residual/recurrente

En nuestra serie se observó que cuando la paciente, en el momento de la conización, estaba infectada por cualquiera de los tipos de VPH vacunales (16/18) el riesgo de desarrollar lesión residual/recurrente en los vacunados era menor (5,8%) frente a los no vacunados (26,3%). Esta diferencia era estadísticamente significativa, incluso ajustando por la edad ($P=0,045$). Sin embargo, cuando la paciente no estaba infectada por ninguno de los tipos de VPH vacunales (16/18) no se encontraron, para la vacuna, diferencias significativas frente a lesión residual/recurrente ($P=0,646$).

La explicación a este hallazgo puede ser que los VPH 16/18 son los que se asocian a mayor tasa de recurrencia (Kang et al., 2016) y administrando la vacuna en este grupo se estará actuando en el de mayor riesgo de recurrencia.

Estos datos coinciden con los obtenidos en el estudio de Kang, que en el grupo de pacientes con lesiones CIN 2-3 relacionadas con VPH incluidos en la vacuna (16/18), la vacuna tetravalente supuso una reducción significativa de la tasa de recurrencia: del 8,5% al 2,5% ($P<0,05$).

En el estudio de Garland, con la vacuna bivalente, sin embargo, se demostró un efecto de protección cruzada para tipos de VPH no contenidos en la vacuna (Wheeler et al., 2012) con una eficacia del 88% frente a posterior CIN 2+, independientemente del tipo de VPH causal. No se observó, en cambio, eficacia contra CIN 1+ posterior, independientemente del tipo de VPH, aunque sí se demostró eficacia para CIN 1+ asociado a tipos vacunales de VPH.

El estudio de Hildesheim no encontró diferencias significativas de la vacuna bivalente para lesiones cervicales postratamiento, ni siquiera con las asociadas a las nuevas infecciones por VPH.

Estos hallazgos de la influencia sobre la vacuna, tanto del estado de los márgenes, como del tipo de VPH basal asociado a la lesión, refuerzan la teoría postulada de Gianella et al., 2015 en relación al uso personalizado de la vacuna después de la conización. Estos autores defienden que un uso indiscriminado (márgenes afectos, infección persistente VPH) no sería rentable, debido fundamentalmente a la baja incidencia de recurrencia de neoplasia de alto grado tras conización (5-25%) (Kocken et al., 2011) y a su alto coste.

VII. CONCLUSIONES

1. La vacuna bivalente frente al VPH disminuye el riesgo de nuevas lesiones después de la conización.
2. La vacuna tetravalente frente al VPH tiene tendencia a disminuir la tasa de infección después de la conización.
3. El momento de la vacunación no fue un factor determinante.
4. La recomendación de la vacuna frente al VPH en mujeres conizadas debería realizarse de un modo personalizado, teniendo en cuenta factores como el estado de los márgenes y el tipo de virus asociado a la lesión.
5. Gracias a la vacunación frente al VPH en mujeres sometidas a conización, conseguiremos reducir complicaciones obstétricas, secuelas psicológicas negativas y gasto sanitario.

VIII. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

1. En el período de estudio (2011-2015) la vacuna frente al VPH suponía una estrategia preventiva de elevado coste, y de dudosa eficacia para mujeres ya infectadas por el VPH, por lo tanto el reducido número de pacientes vacunadas en el momento de la conización nos limitó el diseño del grupo control.
2. Al comenzar la financiación de la vacuna bivalente frente a VPH en la Región de Murcia, en abril de 2014, el grupo de pacientes vacunadas con tetravalente fue de menor tamaño muestral.
3. Debido al escaso número de eventos (recurrencias) tras la conización, quizás hubiera sido necesario disponer de mayor tamaño muestral para llegar a resultados estadísticamente significativos en el estudio multivariante. Por dicho motivo, se decidió unificar los criterios de lesión residual y recurrente para aumentar el número de eventos.
4. Algunas historias clínicas revisadas carecían de datos imprescindibles de las variables analizadas. Por tal motivo, en el estudio inferencial se tuvieron que eliminar a todas aquellas pacientes de las que no se disponía de los datos requeridos.
5. La falta de monitorización continua sobre el estado de VPH en las pacientes hace imposible que se pueda distinguir entre conceptos como la reactivación o la infección.

IX. FUTURAS LÍNEAS DE TRABAJO

Realizar un estudio más amplio, randomizado, doble ciego, placebo-control después del tratamiento para CIN 2-3, para superar los posibles sesgos y estimar la verdadera eficacia de la vacuna frente a VPH, para prevenir recurrencia de enfermedad de alto grado y la tasa de infecciones.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACOG Practice Bulletin No. 99: management of abnormal cervical cytology and histology. *Obstet Gynecol* 2008 Dec; 112(6):1419-44.
- Ahuja A, Anderson SM, Khalil A, Shlomchik MJ. Maintenance of the plasma cell pool is independent of memory B cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008; 105(12):4802-4807.
- Alameda Quittlet. 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.
- Arbyn M, Ronco G, Anttila A, Meijer CJ, Poljak M, Ogilvie G, et al. Evidence regarding hu-man papillomavirus testing in secondary prevention of cervical cancer. *Vaccine* 2012 Nov 20; 30. Suppl 5:F88-F99.
- Aureli Torné Bladé, José María Bayas Rodríguez, Xavier Castellsagué Piqué, María Castro Sánchez, Enrique García García, Juan Carlos Martínez Escoriza, Luis María Puig-Tintoré, Alfonso Quesada López-F y José Antonio Vidart Aragón. Vacunación frente al cáncer de cérvix en mujeres fuera de los programas de vacunación sistemática, con o sin infección por el virus del papiloma humano o lesión cervical. Encuesta de opinión y recomendaciones. *Prog Obstet Ginecol*. 2012; 55(Supl. 1):10-31.
- Baldwin PJ, van der Burg SH, Boswell CM, Offringa R, Hickling JK, Dobson J et al. Vaccinia-expressed human papillomavirus 16 and 18 e6 and e7 as a therapeutic vaccination for vulval and vaginal intraepithelial neoplasia. *Clin Cancer Res*. 2003; 9: 5205-5213.
- Baker TS, Newcomb WW, Olson NH, Cowser LM, Olson C, Brown JC. Structures of bovine and human papillomaviruses. Analysis by cryoelectron microscopy and three-dimensional image reconstruction. *Biophys J* 1991; 60:1445-56.
- Bernard HU. The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *J Clin Virol* 2005;32 (Suppl1):S1-6.
- Bernard HU. Regulatory elements in the viral genome. *Virology*. 2013. 445, 197-204.
- 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 simple adequacy. *AM J Obstet Gynecol* 2001; 185:308.
- Beutner KR, Tyring S. Human papillomavirus and human disease. *Am J MED* 1997; 102:9
- Bonanni P, Bechini A, Donato R, Capei R, Sacco C, Levi M, et al. Human papilloma virus vaccination: Impact and recommendations across the world. *Ther Adv Vaccines*. 2015;3: 3–12
- Bosch FX, Muñoz N, De San José S, Guerrero I, Chaffari AM, Kaldor J, et al. Importance of human papillomavirus endemicity in the incidence of cervical cancer: an extension of the hypothesis on sexual behavior. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1994; 3:375-9.
- Bosch FX, Broker TR, Forman D, Moscicki AB, Gillison ML, Doorbar J, et al. Comprehensive control of human papillomavirus infections and related diseases. *Vaccine*. 2013;31 Suppl 7:H1–31.
- Bosch X, Harper D. Prevention strategies of cervical cancer in the HPV vaccine era. *Gynecol Oncol* 2006; 103: 21.
- Bosch FX, Robles C, Díaz M et al., HPV-FASTER: broadening the scope for prevention of HPV-related cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 2016; 13: 119-32.doi: 10.1038/nrclinonc.2015.146.
- Bosch, F.X., Robles, C., Díaz, M., Arbyn, M., Baussano, I., Clavel, C., et al., 2016. HPV- FASTER: broadening the scope for prevention of HPV-related cancer. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 13 (February (2)), 119–132.
- Boshart M, Gissmann L, Ikenberg H, Kleinheinz A, Scheurien W, zur Hausen H. A new type of papillomavirus DNA, its presence in genital cancer biopsies and in cell lines derived from cervical cancer. *EMBO J*. 1984; 3:11-51.
- Brake, T & Lambert, P.F. Estrogen contributes to the onset, persistence, and malignant progression of cervical cancer in a human papillomavirus-transgenic mouse model. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2005; 102, 2490-2495.
- Branca M, Giorgi C, Santini D, Di Bonito L, Ciotti M, Benedetto A, Paba P, Costa S, Bonifacio D, Di Bonito P, Accardi L, Favalli C and Syrjänen K, on behalf of the HPV-Pathogen ISS Study Group. Aberrant expression of VEGF-C is related to grade of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and high risk HPV, but does not predict virus clearance after treatment of CIN or prognosis of cervical cancer. *J Clin Pathol*. 2006 January; 59(1): 40-47.

- Bray F, Loos AH, McCarron P, Weiderpass E, Arbyn M, Moller H, et al. Trends in cervical squamous cell carcinoma incidence in 13 European countries: changing risk and the effects of screening. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005 Mar; 14(3):677-86.
- Breitbart F, et al. Immunization with virus like particles from cottontail rabbit papillomaviruses (CRPV) can protect against experimental CRPV infection. *J Virol*, 1995; 69:3959–3963.
- Brotman, R. M. et al. Interplay between the temporal dynamics of the vaginal microbiota and human papillomavirus detection. *J. Infect. Dis.* 210, 1723-1733 (2014).
- Brown DR, Kjaer SK, Sigurdsson K, Iversen O-E, Hernandez-Avila M, Wheeler CM, et al. The impact of quadrivalent human papillomavirus (HPV; types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine on infection and disease due to oncogenic nonvaccine HPV types in generally HPV-naive women aged 16-26 years. *J Infect Dis.* 2009; 199:926–35.
- Bruinsma F, Lumley J, Tan J, Quinn M. Precancerous changes in the cervix and risk of subsequent preterm birth. *BJOG* 2007; 109(2pt1): 309-13.
- Bruni L, Serrano B, Bosch X, Castellsagué X. Vacuna frente al virus del papiloma humano. Eficacia y seguridad. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2015; 33(5):342-354.
- Bulkmans NW, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Snijders PJ, Meijer CJ. Long-term protective effect of high-risk human papillomavirus testing in population-based cervical screening. *Br J Cancer* 2005 May 9;92(9):1800-2.
- Callahan MK, Postow MA, Wolchok JD. CTLA-4 and PD-1 pathway blockade: combinations in the clinic. *Front Oncol.* 2015; 4:385
- Carozzi FM, Confortini M, Cecchini S, Bisanzio S, Cariaggi MP, Pontenani G, et al. Triage with human papillomavirus testing of women with cytologic abnormalities prompting referral for colposcopy assessment. *Cancer* 2005 Feb 25;105(1):2-7.
- Carter J, Sim J, Land R, Dalrymple C, Abdel-Hadi, M, Pather S. Recurrence after treatment for high-grade dysplasia: Should we modify our post-treatment surveillance protocols? *ANZJOG* 2006; 46: 360–362.
- Castellsagué X, Muñoz N, Pitisuttithum P, Ferris D, Monsonego J, Ault K, et al. End-of-study safety, immunogenicity, and efficacy of quadrivalent HPV

- (types 6, 11, 16, 18) recombinant vaccine in adult women 24-45 years of age. *Br J Cancer*. 2011; 105: 28-37.
- Castellsagué X. et al. (2011) Intrauterine device use, cervical infection with human papillomavirus, and risk of cervical cancer: a pooled analysis of 26 epidemiological studies. *Lancet Oncol*. 12(11):1023-31. En línea: DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(11\)70223-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(11)70223-6)
- Castellsagué X, Bosch FX et al. Vacunas frente al virus del papiloma humano. *Enferm Infecc Microbiol Clin*; 28: 65-77.
- Castellsagué X, Bosch FX, Muñoz N. Environmental co-factors in HPV carcinogenesis. *Virus Research* 2002; 89:191-9.
- Castellsague X, Diaz M, de SS, Munoz N, Herrero R, Franceschi S, et al. Worldwide human papillomavirus etiology of cervical adenocarcinoma and its cofactors: implications for screening and pre-vention. *J Natl Cancer Inst* 2006 Mar 1; 98(5):303-15.
- Castellsague 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 Jun; 84(6):947-56.
- Castle PE, Schiffman M, Wheeler CM, Solo-mon D. Evidence for frequent regression of cervical intraepithelial neoplasia-grade 2. *Obstet Gynecol* 2009 Jan; 113(1):18-25.
- Castle PE, Fetterman B, Ahktar I, et al. Age -appropriate use of human papillomavirus vaccines in the US. *Gynecol Oncol* 2009; 114; 365.
- Castle PE, Giuliano AR. Chapter 4: Genital tract infections, cervical inflammation, and antioxidant nutrients-assessing their roles as human papillomavirus cofactors. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003; 31: 29-34.
- Castle PE, Bulten J, Confortini M, Klinkha-mer P, Pellegrini A, Siebers AG, et al. Age-spe-cific patterns of unsatisfactory results for conven-tional Pap smears and liquid-based cytology: data from two randomised clinical trials. *BJOG* 2010 Aug; 117(9):1067-73.
- Castle PE, Wacholder S, Sherman ME, Lorincz AT, Glass AG, Scott DR, Rush BB, Demuth F, Schiffman M. Absolute risk of subsequent abnormal pap among oncogenic human papillomavirus DNA-positive, cytologically negative women. *Cancer*. 2002 Nov 15; 95(10): 2145-51.

- Castle PE, Wacholder S, Sherman ME, Lorincz AT, Glass AG, Scott DR, Rush BB, Demuth F, Schiffman M. Absolute risk of subsequent abnormal pap among oncogenic human papillomavirus DNA-positive, cytologically negative women. *Cancer*. 2002 Nov 15;95(10): 2145-51.
- Cervarix, ficha técnica . Disponible en <http://www.emea.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/cervarix/H-721-PI-es.pdf>.
- Chabeda A, Yanez RJR, Lamprecht R, Meyers AE, Rybicki EP, Hitzeroth II. Therapeutic vaccines for high-risk HPV-associated diseases. *Papillomavirus Res*. 2017; 5:46-58
- Chan KKL, Tam KF, Ngan HYS. The use of vaginal antitmicrobial after large loop excision of transformation zone: a prospective randomised trial. *BJOG* 2007; 114(8): 970-976.
- Chen HC, Schiffman M, Lin CY, Pan MH, You SL, Chuang LC, et al. Persistence of type-specific human papillomavirus infection and increased long-term risk of cervical cancer. *J Natl Cancer Inst* 2011 Sep 21; 103(18):1387-96.
- Chua KL, Hjerpe A. Human papillomavirus analysis as a prognostic marker following conization of the cervix uteri. *Gynecologic Oncology* 1997; 66:101-13
- Cladel NM, Hu J, Balogh k, Mejia A & Christensen ND. Wounding prior to challenge substantially improves infectivity of cottontail rabbit papillomavirus and allows for standarization of infection. *J. Virol- Methods*.2008. 148, 34-39.
- Clavel C, Masure M, Bory JP, Putaud I, Mangeonjean C, Lo renzato 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.
- Clifford GM, Smith JS, Plummer M, et al. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2003; 88: 63.
- Commission of the European Communities. Recomendación del Consejo sobre Cribado del Cáncer de 2 de diciembre 2003(2203/878/CE). Diario Oficial de la Unión Europea (L327/34, del 16-XII-2003). Web: [http://eur-lex.europa.eu/Notice.do?mmode=dbl&lng1=en,es&lang=&lng2=da,de,el,en,esFi,fr,it,nl,pt,sv,&val=287145:cs&page=1&hwords=cancer+screening-\(Consultado el 26/03/2018\)](http://eur-lex.europa.eu/Notice.do?mmode=dbl&lng1=en,es&lang=&lng2=da,de,el,en,esFi,fr,it,nl,pt,sv,&val=287145:cs&page=1&hwords=cancer+screening-(Consultado el 26/03/2018))
- Conner S, Frey H, Cahill A, Macones G, Colditz G and Tuuli. Loop electrosurgical excision procedure and the risk for preterm birth. *Obstet Gynecol* 2009 Sep; 114 (3):504-10.

- Cornall A M et al. Anal and perianal squamous carcinomas and high-grade intraepithelial lesions exclusively associated with "low-risk" HPV genotypes 6 and 11. *Int. J. Cancer* 133, 2253-2258 (2013).
- Cornall AM, Roberts JM, Garland SM, Hillman RJ, Grulich AE, Tabrizi SN. Anal and perianal squamous carcinomas and high-grade intraepithelial lesions exclusively associated with "low-risk" HPV genotypes 6 and 11. *Int J Cancer* 2013 (133), 9: 2253-58.
- 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 de útero y vulva: recomendaciones para la práctica clínica. *Prog Obst Gin* 2010; 53 (Supl 1): 1-19.
- Cox JT. Epidemiology of cervical intraepithelial neoplasia: the role of human papillomavirus. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1995; 9:1-37.
- Cuzick J, Clavel C, Petry KU et al. Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int j Cancer* 2006; 119:1095.1101.
- 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. *J Low Genit Tract Dis.* 2012; 16: 205-242.
- Davey DD, Neal MH, Wilbur DC, Colgan TJ, Styer PE, Mody DR. Bethesda 2001 implementation and reporting rates: 2003 practices of participants in the College of American Pathologists Interlaboratory Comparison Program in Cervicovaginal Cytology. *ArchPathol Lab Med.* 2004 Nov; 128(11): 1224-9.
- Day PM, Lowy DR, Schiller JT. Papillomaviruses infect cells via a clathrin-dependent pathway. *Virology.* 2003 Mar 1; 307(1):1-11.
- De Bruijn MLH, Greenstone HL, Vermeulen H, et al. L1-specific protection from tumor challenge elicited by HPV16 virus-like particles. *Virology* 1998; 250:371-6
- de Flora S, Bonanni P. The prevention of infection-associated cancers. *Carcinogenesis*, Volume 32, Issue 6, 1 June 2011, Pages 787-795,
- de la Fuente P. Patología tumoral del cuello uterino. En: Usandizaga Beguiristáin JA, De la Fuente Pérez P. *Tratado de Obstetricia y Ginecología*. Vol. 2. 2ª ed. Madrid. Mc Graw-Hill Interamericana, 2005; p. 345-384.

- de San José S. La investigación sobre la infección por virus del papiloma humano (VPH) y el cáncer de cuello de útero en España. En: El virus del papiloma humano y cáncer: epidemiología y prevención. 4ª Monografía de la Sociedad Española de Epidemiología. EMISA SEE. 2006; 8:141-7.
- de San José S: Historia de cribado en mujeres con cáncer infiltrante de cuello uterino. Gaceta Sanitaria 2006; 20:166-70.
- de San José S, Cortés X, Méndez C, Puig-Tintoré L, Torné A, Roura E, Bosch FX, Castellsagué X. 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(2): 234-240.
- de Sanjose 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: 1048–50.
- de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. Virology 2004, 324:17-27.
- de Vincenzo R, Conte C, Ricci C, Scambia G, Capelli G. Long-term efficacy and safety of human papillomavirus vaccination. Int J Womens Health. 2014 ; 6:999–1010.
- de Vos van Steenwijk PJ, van Poelgeest MI, Ramwadhoebe TH, et al. The long-term immune response after HPV 16 peptide vaccination in women with low-grade pre-malignant of the uterine cervix: A placebo-controlled phase II study. Cancer Immunol. Immunother 2014; 63:147-60.
- Denton K, Bergeron C, Klement P, Trunk T, Keller T, Ridder R; European CINtec Cytology Study Group. The sensitivity and specificity of p16INK4a cytology versus HPV testing for detecting High-Grade cervical disease in the triage of ASC-us and Pap cytology results. Am J Clin Pathol. 2010; 134: 12-21.
- Dexeus, S. López-Marín, L. Labastida, R. Bassols, G. y Cararach, M.: Evolución de la terminología colposcópica. En Tratado y Atlas de Patología Cervical (Editado por Dexeus, S. López-Marín, L. Labastida, R. Cararach, M). Barcelona: Masson-Salvat. 1993; 20
- Dillner Dillner J, Rebolj M, Birembaut P, Petry KU, Szarewski A, Munk C, et al. Long term predictive values of cytology and human papillomavirus testing in cervical cancer screening: joint European cohort study. BMJ 2008; 337:a1754.

- Dine J, Gordon RA, Shames Y, Kasler MK, Barton-Burke M. Immune checkpoint inhibitors: an innovation in immunotherapy for the treatment and management of patients with cancer, *Asia Pac J Oncol Nurs*. 2017; 4: 127–135.
- Dobson SR, McNeil S, Dionne M, et al. Immunogenicity of 2 doses of HPV vaccine in younger adolescents vs 3 doses in Young women: a randomized clinical trial. *JAMA* 2013; 309(17):1793-802.
- Donà MG, Vocaturo A, Giuliani M, Ronchetti L, Rollo F, Pescarmona E, Carosi M, Vocaturo G, Benevolo M. p16/ki-67 dual staining in cervico-vaginal cytology: correlation with histology, Human Papillomavirus detection and genotyping in women undergoing colposcopy. *Gynecol Oncol*. 2012; 126(2). 198-202.
- Doobar J et al .The biology and life-cicle of human papillomaviruses. *Vaccine*. 2012. 30(Suppl. 5), F55-F70.
- Duensing A, et al. Centrosome overduplication, chromosomal instability and human papillomavirus oncoproteins . *Environ. Mol. Mutagen*. 50, 741-747 (2009).
- Dürst M, Gissman L, Ikenberg H, zur Hausen H. A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy simples from different geographic regions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80:3812-3815
- Dyson N, Guida P, Münger K, Harlow E.1992. Homologous squences in adenovirus E1A and human papillomavirus E7 proteins mediate interaction with the same set of celular proteins. *J. Virol*. 66, 6893-6902.
- Egawa N et al. The E1 protein of human papillomavirus type 16 is dispensable for maintenance replication of the viral genome. *J. Virol*. 2012. 86, 3276-3283.
- Einstein MH, Schiller JT, Viscidi RP, Strickler HD, Coursaget P, Tan T, Halsey N, Jenkins D. Clinician’s guide to human papillomavirus inmunology: knows and unknowns. *Lancet Infect Dis*. 2009 Jun: 9 (6):347-56.
- Einstein MH, Schiller JY, Viscidi RP, et al. Clinician`s guide to human papillomavirus inmunology: Knowns and unknowns. *Lancet Infect Dis* 2009; 9:347
- Elfgren K, Jacobs M, Walboomers JM, Meijer CJ, Dillner J. Rate of human papillomavirus clearance after treatment of cervical intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol* 2002; 100:965-71
- Escoriza JC, Torné A. Curso de Formación continuada: Prevención del cáncer cervical: vacunación y colposcopia. Tomo 3. Editores Médicos, S.A. EDIMSA.2011

- Fausch, SC., Da Silva, D.M & Kast, W.M. Heterologous papillomavirus virus-like particles and human papillomavirus virus-like particle immune complexes activate human Langerhans cells. *Vaccine*. 2005. 23. 1720-1729.
- Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al . GLOBOCAN 2008 v1.2,Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No.10[Internet].Lyon France: International Agency for Research on Cancer; 2010.<http://globocan.iarc.fr> (Accessed on April 27,2018).
- Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JWW, Comber H, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *European Journal of Cancer*, 2013; 49 (6):1374-403. 10.1016/j.ejca.2012.12.027.
- Ferris, D, Samakoses, R, Block, SL, et al, Long Term Study of a quadrivalent Human Papilloma Virus Vaccine, *Pediatrics*, 2014, 134: e657-e665.
- Fleury AC, Birsner ML, Fader AN. Management of the abnormal Papanicolaou smear and col-poscopy in pregnancy: an evidenced-based review. *Minerva Ginecol* 2012 Apr; 64(2):137-48.
- FUTURE II Study Group. Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent high-grade cervical lesions. *N Engl J Med*. 2007; 356: 1915–27.
- Gardasil, ficha técnica. Disponible en <http://www.emea.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/cervarix/H-703-PI-es.pdf>.
- Gardasil 9, ficha técnica, Disponible en [http://www.ema.europa.eu/docs/es-ES/document_library/EPAR.Product_Information_human/003852/WC500189111.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/es-ES/document_library/EPAR_Product_Information_human/003852/WC500189111.pdf)
- Garland S.M., Hernández-Ávila M, Wheeler CM, et al. Quadrivalent Vaccine against human papillomavirus to prevent anogenital disease. *N Engl J Med*. 2007; 356: 1928-43.
- Garland S, on behalf of the HPV PATRICIA Study Group. Efficacy of the HPV- 16/18 AS04-adjuvanted vaccine against vulvar/vaginal intraepithelial neoplasia. En: 27th International Papilloma Conference and Workshop. September 2011. 2011.
- Garland, S.M., Paavonen, J., Jaisamrarn, U., Naud, P., Salmerón, J., Chow, S.N., et al., 2016a. Prior human papillomavirus-16/18 AS04-adjuvanted vaccination prevents recurrent high grade cervical intraepithelial neoplasia after

- definitive surgical therapy: post-hoc analysis from a randomized controlled trial. *Int. J. Cancer* 139, 2812–2826.
- Garland, S.M., Kjaer, S.K., Muñoz, N., Block, S.L., Brown, D.R., DiNubile, M.J., et al., 2016b. Impact and effectiveness of the quadrivalent human papillomavirus vaccine: a systematic review of 10 years of real-world experience. *Clin. Infect. Dis.* 63, 519–52
- Ge Y, Mody DR, Smith D, Anton R. p16(INK4a) and ProEx C immunostains facilitate differential diagnosis of hyperchromatic crowded groups in liquid-based Papanicolaou tests with menstrual contamination. *Acta Cytol.* 2012; 56(1): 55-61.
- Gentry DJ, Baggisg MS, BradyWalsh PM, Hungler MS, The effect of the loop excision of the transformation zone on cervical length: implications for pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182: 516-20.
- Ghaem-Maghani S, De Silva D, Tipples M et al., Determinants of success in treating cervical intraepithelial neoplasia. *BJOG* 2011; 118: 679-84.
- Gianella L, Mfuta K, FoderoC, Prandi S. Outcome of Nonpersonalized Human Papillomavirus Vaccinations During Postconization Follow-up: A report of Two Cases. *J reprod Med.* 2015; 60(9-10): 455-7.
- Giannini SL, Hanon E, Moris P, van Mechelen M, Morel S, Dessy F, et al. Enhanced humoral and memory B cellular immunity using HPV16/18 L1 VLP vaccine formulated with the MPL/aluminium salt combination (AS04) compared to aluminium salt only. *Vaccine.* 2006; 24 (33-34):5937–40.
- Gillison ML, Broutian T, Pickard RK, et al. Prevalence of oral HPV infection in the United States, 2009-2010. *JAMA* 2012; 307:693.
- Giuliano AR, Palefsky JM, Goldstone S, Moreira ED, Penny ME, Aranda C, et al. Efficacy of quadrivalent HPV vaccine against HPV Infection and disease in males. *N Engl J Med.* 2011;364:401–11.
- Globocan 2012. Cervical cancer. Estimated incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012. http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx (Accessed on March 18, 2015).
- Griffith WF, Stuart GS, GluckKL, Heartwell SF. Vaginal speculum lubrication and its effects on cervical cytology and microbiology. *Contraception* 2005; 72:60.

- 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.
- Grulich AE, van Leeuwen MT, Falster MO, Vajdic CM. Incidence of cancers in people with HIV/AIDS compared with immunosuppressed transplant recipients: a meta-analysis. *Lancet* 2007; 370:59.
- Guido R, Schiffman M, Solomon D, Burke L, for the ASCUS-LSIL Triage Study (ALTS) Group. Postcolposcopy management strategies for women referred with low grade squamous intraepithelial lesions or human papillomavirus DNA-positive atypical squamous cells of undetermined significance: A two-year prospective study. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2003; 188: 1401-1405.
- Harper D.M., DeMars L.R. HPV vaccines – a review of the first decade. *Gynecol. Oncol.* 2017; 146, 196–204.
- Hatch KD, Shingleton HM, Austin JM, Jr., Soong SJ, Bradley DH. Cryosurgery of cervical intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol* 1981 Jun; 57(6):692- 8.
- Haupt RM, Wheeler CM, Brown DR, et al. Impact of an HPV6/11/16/18 L1 virus-like particle vaccine on progression to cervical intra-epithelial neoplasia in seropositive women with HPV16/18 infection. *Int J Cancer* 2011; 129: 2632-42.
- Heinonen A, Gissler M, Riska A, Paavonen J, Tapper A, Jakobsson M. Loop Electrosurgical Excision Procedure and the Risk for Preterm Delivery. *Obstet Gynecol* 2013; 121:1063–8
- Herrero R, Hildesheim A, Rodríguez AC, Wacholder S, Bratti C, Solomon D, et al. Rationale and design of a community-based double-blind randomized clinical trial of an HPV 16 and 18 vaccine in Guanacaste, Costa Rica. *Vaccine*. 2008; 26: 4795–808.
- Hildesheim A, Herrero R, Wacholder S, et al. Effect of human papillomavirus 16/18 L1 viruslike particle vaccine among young women with pre-existing infection: a randomized trial. *JAMA* 2007; 298(7):743-53.
- Hildesheim A, Wacholder S, Catteau G, Struyf F, Dubin G, Herrero R, et al. Efficacy of the HPV-16/18 vaccine: Final according to protocol results from the blinded phase of the randomized Costa Rica HPV-16/18 vaccine trial. *Vaccine*. 2014; 32:5087–97.

- Hildesheim A, Gonzalez P, Kreimer AR, Wacholder S, Schussler J, Rodriguez A, et al. Impact of human papillomavirus (HPV) 16 and 18 vaccination on prevalent infections and rates of cervical lesions after excisional treatment. *Am J Obstet Gynecol.* 2016; 215: 212.
- Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 1998; 338:423-8.
- Hoffmann R, Hirt B, Bechtold V, Beard P & Raj K. Different modes of human papillomavirus DNA replication during maintenance. *J. Virol.* 2006. 80, 4431-4439.
- Hoots BE, Palefski JM, Pimenta JM, Smith JS. Human papillomavirus type distribution in anal cancer and anal intraepithelial lesions. *Int J Cancer* 2009; 124: 2375.
- Huang H, Patel DD, Manton KG. The immune system in aging: roles of cytokines, T cells and NK cells. *Front Biosci* 2005; 10: 192–215.
- Hubert, P. et al. Altered alfa-defensin 5 expression in cervical squamocolumnar junction: implication in the formation of a viral/tumor-permissive microenvironment. *J. Pathol.* 234, 464-477(2014). randomized Costa Rica HPV-16/18 vaccine trial. *Vaccine.* 2014; 32:5087–97.
- Huh WK, Ault KA, Chelmow D, Davey DD, Goulart RA, Garcia F, et al. Use of primary high-risk human papillomavirus testing for cervical cancer screening: Interim clinical guidance. *Gynecol Oncol.* 2015;136:178–82.
- Hung CF, Ma B, Monie A, Tsen SW, Wu TC. Therapeutic human papillomavirus vaccines: current clinical trials and future directions, *Expert Opin Biol Ther.* 2008; 8:421–439.
- IARC. International Agency for Research on Cancer (2005). *Cervix Cancer Screening.* IARC Handbooks of Cancer Prevention, Vol 10. IARC Press, Lyon.
- International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer et al., Carcinoma of the cervix and tobacco smoking; collaborative reanalysis of individual data on 13541 women with carcinoma of the cervix and 23017 women without carcinoma of the cervix from 23 epidemiological studies. *Int J. Cancer* 2006; 118, 1481-1495.
- International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer. Cervical carcinoma and reproductive factors: collaborative reanalysis of individual

- data on 16563 women with cervical carcinoma and 33542 women without cervical carcinoma from 25 epidemiological studies. *Int J. Cancer* 2006; 119, 1108-1124.
- Isaacson Wechsler, E. et al. Reconstruction of human papillomavirus type 16-mediated early-stage neoplasia implicates E6/E7 desregulation and the loss of contact inhibition in neoplastic progression . *J. Virol.*86 2012. 6358-6364.
- Jakobsson M, Gissler M, Paavonen J, Tapper AM. Loop electrosurgical excision procedure and the risk for preterm birth. *Obstet Gynecol* 2009 Sep; 114 (3):504-10.
- Jeronimo J, Khan MJ, Schiffman M, et al. Does the interval between papanicolaou tests influence the quality of cytology? *Cancer* 2005; 105:133.
- Jin G, LanLan Z, Li C, et al. Pregnancy outcome following loop electrosurgical excision procedure (LEEP) a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet* 2014; 289:85-99.
- Jit M, Brisson M, Portnoy A, Hutubessy R. Cost-effectiveness of female human papillomavirus vaccination in 179 countries: a PRIME modelling study. *Lancet Glob Health.* 2014; 2: 406-14.
- Jordan JA, Woodman CB, Mylotte MJ, Emens JM, Williams DR, MacAlary M, et al. The treatment of cervical intraepithelial neoplasia by laser vaporization. *Br J Obstet Gynaecol* 1985 Apr; 92(4):394-8.
- Jordan J, Martin-Hirsch P, Arbyn M, et al. European guidelines for clinical management of abnormal cervical cytology, part 2. *Cytopathology* 2009; 20:5-16.
- Joura EA, Giuliano AR, Iversen O-E, Bouchard C, Mao C, Mehlsen J, et al. A 9-valent HPV vaccine against infection and intraepithelial neoplasia in women. *N Engl J Med.* 2015; 372:711–23.
- Kang WD, OhMJ, KimSM, NamJH, Park CS, Choi HS. Significance of human papillo- mavirus genotyping with high-grade cervical intraepithelial neoplasia treated by a loop electrosurgical excision procedure. *Am J Obstet Gynecol* Jul 2010; 203(1): 72.e1–6
- Kang WD, Choi HS, Kim SM. Is vaccination with quadrivalent HPV vaccine after loop electrosurgical excision procedure effective in preventing recurrence in

- patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN2–3)? *Obstet Gynecol* 2013; 130:264-68.
- Kang WD and Seok MK. Human papillomavirus genotyping as a reliable prognostic marker of recurrence after loop electrosurgical excision procedure for high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2-3) especially in postmenopausal women. *Menopause*. 2016; 23 (1): 81-86.
- Katki HA, Kinney WK, Fetterman B, Lorey T, Poitras NE, Cheung L, et al. Cervical cancer risk for women undergoing concurrent testing for human papillomavirus and cervical cytology: a population-based study in routine clinical practice. *Lancet Oncol*. 2011 Jul; 12(7):663-72.
- Kaufman RH, Adam E, Icenogle J et al. Relevance of human papillomavirus screening in management of cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176:87.
- Kaufmann AM, Nieland JD, Jochmus I, Baur S, Friese K, Gabelsberger J et al. Vaccination trial with HPV16 L1E7 chimeric virus-like particles in women suffering from high grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2/3), *Int J Cancer*. 2007; 121: 2794–2800.
- Kawana K, Adachi K, Kojima S, Taguchi A, Tomio K, Yamashita A et al. Oral vaccination against HPV E7 for treatment of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 (CIN3) elicits E7-specific mucosal immunity in the cervix of CIN3 patients, *Vaccine*. 2014; 32: 6233–6239.
- Khalid S, Dimitiou E, Conroy R et al. The thickness and volumen of LLETZ specimens can predict the relative risk of pregnancy-related morbidity. *BJOG* 2012; 119: 685-91.
- Khan 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;97:107.
- Kocken M, Helmerhorst TJ, Berkhof J: Risk of recurrent high-grade cervical intraepithelial neoplasia after successful treatment: A long-term multi-cohort study. *Lancet Oncol* 2011; 12: 441-450.
- Kocken M, Uijterwaal MH, de Vries AL, Berkhof J, Ket JC, Helmerhorst TJ 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. *Gynecologic Oncology* 2012; 125:500-7
- Konno R, Shin HR, Kim YT, Song YS, Sasagawa T, Inoue M, et al. Human papillomavirus infection and cervical cancer prevention in Japan and Korea. *Vaccine* 2008; 26:30-42.
- Koss LG. *Aspiration Biopsy. Cytological Interpretation and Histologic Base*. 2ª edición, New York. 1992 pp5-6.
- Kovats, S. Estrogen receptors regulate innate immune cells and signalling pathways. *Cell. Immunol.* 15, 63-69 (2015).
- Kyrgiou M, Koliopoulos G, Martin-Hirsch P, Arbyn M, Prendiville W, Paraskeva E. Obstetrics outcomes after conservative treatment for intraepithelial or early invasive cervical lesions: systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2006; 367: 489-98.
- Kyrgiou M, Tsoumpou I, Vrekoussis T, Martin-Hirsch P, Arbyn M, Prendiville W, Mitrou S, Koliopoulos G, Dalkalitsis N, Stamatopoulos P, Paraskeva E. The up-to-date evidence on colposcopy practice and treatment of cervical intraepithelial neoplasia: The cochrane colposcopy & cervical cytopathology collaborative group (C5 group) approach. *Cancer Treat Rev* 2006; 32: 516-23.
- La-Beck NM, Jean GW, Huynh C, Alzghari SK, Lowe DB. Immune checkpoint inhibitors: new insights and current place in cancer therapy, *Pharmacotherapy*. 2015; 35: 963–976.
- Lehtinen M, Paavonen J, Wheeler CM, Jaisamrarn U, Garland SM, Castellsagué X, et al. Overall efficacy of HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine against grade 3 or greater cervical intraepithelial neoplasia: 4-year end-of-study analysis of the randomised, double-blind PATRICIA trial. *Lancet Oncol.* 2012; 13: 89–90.
- Liao GD, Sellors JW, Sun Hong Kong, Zhang X, Bao YP, Jerónimo J et al. P16(INK4a) immunohistochemical staining and predictive value for progression of cervical intraepithelial neoplasia grade 1: A prospective study in China. *Int J cancer.* 2014.
- Li N, Franceschi S, Howell-Jones R, et al. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer* 2011; 128:927.
- Li X, Gao L, Li H, et al. Human papillomavirus infection and laryngeal cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *J Infect Dis* 2013; 207: 479.

- Lin K, et al., Perspectives for preventive and therapeutic HPV vaccines, *J. Formos. Med. Assoc.* 2010; 109 (1): 4–24.
- Liu B, Ye D, Song X, et al. A novel therapeutic fusion protein vaccine by two different families of heat shock proteins linked with HPV 16 E7 generates potent antitumor immunity and antiangiogenesis. *Vaccine* 2008; 26 (10): 1387-96.
- Liu Z, Rashid T & Nyitray A.G. Penises not required: a systematic review of the potential for human papillomavirus horizontal transmission that is non-sexual or does not include penile penetration. *Sex. Health* 2016;13,10-21.
- Litjens RJ, Hopman AH, van de Vijver KK, Ramaekers FC, Kruitwagen RF, Kruse AJ. Molecular biomarkers in cervical cancer diagnosis: a critical appraisal. *Expert Opin Med Diagn.* 2013; 7(4):365-77.
- Löning T, Ikenberg H, Becker J, Gissmann L, Hoepfer I, zur Hausen H. Analysis of oral papillomas, leukoplakias, and invasive carcinomas for human papillomavirus type related DNA. *J. Invest Dermatol* 1985; 84, 417-420.
- Maciag PC, Radulovic S, Rothman J. The first clinical use of a live-attenuated *Listeria monocytogenes* vaccine: a phase I safety study of Lm-LLO-E7 in patients with advanced carcinoma of the cervix. *Vaccine.* 2009 ; 27:3975–3983.
- Maglennon GA, Doobar J. The biology of papillomavirus latency. *Open Virol J* 2012; 6:190.
- Maglennon, G.A, McIntosh, P. & Doobar, J. Persistence of viral DNA in the epithelial basal layer suggests a model for papillomavirus latency following immune regression. *Virology* 2011; 414, 153-163.
- Maglennon, G.A, McIntosh, P. & Doobar, J. Immunosuppression facilitates the reactivation of latent papillomavirus infections. *J. Virol* 2014; 88, 710-716.
- Maksem JA. Endocervical curetting vs. endocervical brushing as case finding methods. *Diagn Cytopathol.* 2006; 34(5):313-6.
- Mamani-Matsuda M, Cosma A, Weller S, et al. The human spleen is a major reservoir for long-lived vaccinia virus-specific memory B cells. *Blood*, 2008; 111(9):4653–4659.
- Manhart LE, Koutsky LA. Do condoms prevent genital HPV infection, external genital warts, or cervical neoplasia? A meta-analysis. *Sex Transm Dis* 2002; 29(11): 725–35.

- Mao C, Kughes JP, Kiviat N, et al. Clinical findings among Young women with genital human papillomavirus infection. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188: 677.
- Marchand L, Mundt M, Klein G, Agarwal SC. Optimal collection technique and devices for a quality pap smear. *WMJ* 2005; 104:51.
- Martin-Hirsch PPL, Paraskevaidis E, Bryant A, Dickinson HO, Keep SL. Surgery for cervical intraepithelial neoplasia. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2010, Issue 6. Art. N^o:CD001318. DOI: 10.1002/14651858. CD001318. pub2.
- Massad LS, Einstein MH, Huh WK, Katki HA, Kinney WK, Schiffman M, Solomon D, Nicolas Wentzensen N, and Lawson HW for the 2012 ASCCP Consensus Guidelines Conference
- Massad LS, Einstein MH, Huh WK, Katki HA, Kinney WK, Schiffman M, et al. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. *J Low Genit Tract Dis* 2013 Apr; 17(5 Suppl 1):S1-S27.
- Mateos Lindemann ML, Rodríguez Domínguez MJ, Chacón de Antonio J, San-dri MT, Tricca A, Sideri M, et al. Analytical comparison of the Cobas® HPV Test with Hybrid Capture 2 for the detection of high-risk human papillomavirus genotypes. *J Molec Diag.* 2011; 14:1–10.
- Mateos-Lindemann ML, Pérez-Castro S, Rodríguez-Iglesias M , Pérez-Gracia MT et al. Diagnóstico microbiológico de la infección por virus del papiloma humano. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2017; 35(9):593–602.
- Matthews k et al. Depletion of Langerhans cells in human papillomavirus type 16 infected skin is associated with E6 mediated down regulation of E-cadherine. *Virology*. 2003. 77, 8378-8385.
- McLaughlin-Drubin ME, Munger K. Oncogenic activities of human papillomaviruses. Review. *Virus Res.* 143(2009) 195-208.
- Meijer CJ, Berkhof J, Castle PE, Hesselink AT, 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 Feb 1; 124(3):516-20.
- Meisels A, Fortin R. 1976. Condylomatous lesions of the cervix and vagina. I. Cytologic patterns. *Acta Cytol.* 1976 . 20 (6): 505-509.
- Meisels A, Fortin R, and Roy M. 1977. Condylomatous of the cervix . II. Cytologic, kolposcopic and histopathologic study .21:379-390.

- Melnikow J, McGahan C, Sawaya GF, Ehlen T, Coldman A. Cervical intraepithelial neoplasia outcomes after treatment: long-term follow-up from the British Columbia Cohort Study. *J Natl Cancer Inst* 2009 May 20; 101(10):721-8.
- Monahan S, Salgaller M. Viral vectors for gene transfer into antigen presenting cells. *Curr Opin Mol Ther.* 1999; 1: 558-564.
- Monie A, Tsen S-W, Wu T-C. Therapeutic HPV DNA vaccines. *Expert Rev Vaccines* 2009; 8(9):1221-23.
- Monsonogo J, Bergeron C, Dachez R, Liaras J, Saurel J, Zerat L et al. Liquidbasedcytology for primary cervical cancer screening : a mukti-centre study. *British J Cancer.* 2001; 84, 360-6.
- Moreno Docón A. Infección por el virus del papiloma humano en mujeres con lesión intraepitelial cervical: aspectos virológicos y clinicopatológicos [tesis doctoral]. Universidad de Murcia. Departamento de Genética y Microbiología; 2014.
- Morrow MP, Yan J, Sardesai NY. Human papillomavirus therapeutic vaccines: targeting viral antigens as immunotherapy for precancerous disease and cancer, *Expert Rev. Vaccin.*2013; 12 (3): 271-283.
- Moscicki AB, Shiboski S, Broering J. The Natural history of human papillomavirus infection as measured by repeated DNA testing in adolescent and young women. *J Pediatr.* 1998;132:277-84.
- Moscicki AB, Hills N, Shiboski S, et al. Risks for incident human papillomavirus infection and low-grade squamous intraepithelial lesion development in young females. *JAMA* 2001; 285:2995.
- 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.
- Moscicki AB, Cox JT. Practice improvement in cervical screening and management (PICSM): symposium on management of cervical abnormalities in adolescents and young women. *J Low Genit Tract Dis* 2010 Jan; 14(1):73-80.
- Munger K, Basile JR, Duensing S, Eichten A, González SL, Grace M, Zacny VL. Biological activities and molecular targets of the human papillomavirus E7 oncoprotein. *Oncogene* 2001; 20: 7888-98.

- Muñoz N, Bosch FX, de San José S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348:518.
- Muñoz N, Kjaer SK, Sigurdsson K, Iversen O-E, Hernandez-Avila M, Wheeler CM, et al. Impact of human papillomavirus (HPV)-6/11/16/18 vaccine on all HPV-associated genital diseases in young women. *J Natl Cancer Inst*. 2010; 102:325–39.
- Murdoch JB, Morgan PR, Lopes A, Monaghan JM. Histological incomplete excision of CIN after large loop excision of the transformation zone (LLETZ) merits careful follow up, not retreatment. *Br J Obstet Gynaecol* 1992; 99(12): 990-3.
- Nandi S, Kwong AT, Holtz BR, Erwin RL, Marcel S, McDonald KA. Techno-economic analysis of a transient plant-based platform for monoclonal antibody production, *MAbs*. 2016; 8: 1456-1466.
- Naud PS, Roteli-Martins CM, De Carvalho NS, et al. Sustained efficacy, immunogenicity and safety of the HPV -16/18 ASO4 adjuvanted vaccine: Final analysis of a long-term follow-up study up to 9.4 years post-vaccination. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 2014;10(8).
- 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.
- Noehr B, Jensen A, Frederiksen K et al. Depth of cervical cone removed by loop electrosurgical excision procedure and subsequent risk of spontaneous preterm delivery. *Obstet Gynecol* 2009; 114: 1232-8.
- Nohr B, Tabor A, Frederiksen K, Kjaer SK. Loop electrosurgical excision of the cervix and subsequent risk of preterm delivery. *Acta Obstet Gynecol* 2007; 86: 596-603.
- Oh ST, Longworth MS, Laimis LA. Roles of the E6 and E7 proteins in the life cycle of low-risk human papillomavirus type 11. *J Virol*. 2004 Mar; 78(5):2620-6.
- Olsson S-E, Kjaer SK, Sigurdsson K, Iversen O-E, Hernandez-Avila M, Wheeler CM, et al. Evaluation of quadrivalent HPV 6/11/16/18 vaccine efficacy against cervical and anogenital disease in subjects with serological evidence of prior vaccine type HPV infection. *Hum Vaccin*. 2009; 5:696–704.

- Oncoguía SEGO: Prevención del cáncer de cuello de útero. Guías de práctica clínica en cáncer ginecológico y mamario. Publicaciones SEGO, Octubre 2014. Oncoguías ISBN: 978-84-612-7418-2 - Vol. 9. Depósito Legal: M-29271-2014.
- Oncoguía SEGO: Prevención del cáncer de cuello de útero. Guías de práctica clínica en cáncer ginecológico y mamario. Publicaciones SEGO, Octubre 2014.
- Paavonen, J et al. Efficacy of a prophylactic adjuvanted bivalent L1 virus-like-particle vaccine against infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: an interim analysis of a phase III double-blind, randomised controlled trial. *Lancet* 2007; 369: 2161-2170 .
- Pagliusi SR, Aguado MT. Efficacy and other milestones for human papillomavirus vaccine introduction. *Vaccine* 2004; 23:569-78.
- Palefsky JM, Giuliano AR, Goldstone S, Moreira ED, Aranda C, Jessen H, et al. HPV vaccine against anal HPV infection and anal intraepithelial neoplasia. *N Engl J Med*. 2011; 365:1576-85.
- Pantanowitz L, Michelow P. Review of human immunodeficiency virus (HIV) and squamous lesions of the uterine cervix. *Diagn Cytopathol* 2011 Jan; 39(1):65-72.
- Paraskevaïdis E, Koliopoulos G, Alamanos Y, Malamou-Mitsi V, Lolis ED, Kitchener HC. Human papillomavirus testing and the outcome of treatment for cervical intraepithelial neoplasia. *Obstetrics and Gynecology* 2001; 98:833-6.
- Paraskevaïdis E, Kalantaridou SN, Paschopoulos M, Zikopoulos K, Diakomanolis E, Dalkalitsis N, Makrydimas G, Pappa L, Malamou-Mitsi V, Agnantis NJ. Factors affecting outcome after incomplete excision of intraepithelial neoplasia. *Eur J Gynecol Oncol* 2003; 6: 541-3.
- Patel S, Chiplunkar S, host immune responses to cervical cancer. *Curr opin Obstet Gynecol*. 2009 Feb; 21(1):54-9.
- Penna C, Fambrini M, Fallani MG, Pieralli A, Scarselli G, Marchionni M. Laser CO2 conization in postmenopausal age: risk of cervical stenosis and unsatisfactory follow-up. *Gynecol Oncol* 2005; 96: 771-775.
- Pérez-Martin J, Navarro-Alonso JA, Cayuela-Fuentes J, Bernal-González, P. Vaccination Program against HPV in Women with Excisional Treatment Due to Preneoplastic Cervical Lesions in the Region of Murcia: Results of the First Year. *Clin Res Infect Dis* 2016; 3(3): 1031.

- Pfister H, Gissmann L. Heterogeneity of human papiloma viruses. *Bull Cancer*. 1978; 65(2):165-7.
- Piccoli R, Mandato VD, Lavitola G, Acunzo G, Bifulco G, Tommaselli GA, et al. Atypical squamous cells and low squamous intraepithelial lesions in postmenopausal women: implications for management. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2008 Oct; 140(2):269-74.
- Pinto AP, Schlecht NI, Ye Woo T, Crum CP, Cibas ES. Biomarker (ProexTMC, p16ink4A, and MiB-1) distinction of high grade squamous intraepithelial lesion from its mimics. *Mod Pathol* 2008; 21: 1067-74.
- Pinto AP, Crum CP, Hirsch MS. Molecular markers of early cervical neoplasia. *Diagn Histopathol*. 2010; 16(10):445-54.
- Pirtea, L, Grigoras D, Matusz P, Pirtea M, Moleriu L, Tudor A, et al. Human Papillomavirus Persistence after Cone Excision in Women with Cervical High Grade Squamous Intraepithelial Lesion. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology* 2016 Article 3076380, 6 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2016/3076380>
- Plummer, M. et al. Global burden of cancers attributable to infection in 2012: a synthetic analysis. *Lancet Glob. Health* .2016. 4.e609-e616.
- Prato B, Ghelardi A, Gadducci A et al. Correlation of recurrence rates and times with posttreatment human papillomavirus status in patients treated with loop electrosurgical excision procedure conization for cervical squamous intraepithelial lesions. *Int J Gynecol Cancer* 2008; 18: 90–94.
- Preaubert L, Gondry J, Mancini J, Chevreau J et al. Benefits of direct colposcopy vision for optimal LLETZ procedure: A prospective multicenter study. *J Lower Gen Tract Dis* 2016; 20: 15-21)
- 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; 96:1054-1060.
- Prendiville W. The treatment of CIN: what are the risks? *Cytopathology* 2009; 20: 145-53.
- Puig-Tintoré LM, Alba A, Bosch FX, Castellsagué X, Coll C, Cortes X, Torné A, Vidart JA. La infección por papilomavirus. Documento de consenso de la SEGO, SEC y AEPCC. Documentos de Consenso SEGO 2002. (Madrid) Meditex-Sanex, 2003. 41 104 (ISSN: 1138-6185).

- Puig-Tintoré L, Alba A, Bayas JM, Cararach M, Castellsagué X, Martínez-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.
- Puig-Tintoré L, Alba A, Bayas JM, Cararach M, Castellsagué X, Martínez Escoriza JC, Torné A. *Curso de Formación continuada: Prevención del cáncer cervical: vacunación y colposcopia (Tomos 3-4)*. (Madrid) Editores Médicos, S.A. EDIMSA. 2011.
- Rebolj M, Helmerhorst T, Habbema D, et al. Risk of cervical cancer after completed post-treatment follow-up of cervical intraepithelial neoplasia: population based cohort study. *BMJ* 2012; 345: e6855
- Robinson WR, Lund ED, Adams J. The predictive value of LEEP specimen margin status for residual/recurrent cervical intra- epithelial neoplasia. *Int J Gynecol Cancer* 1998;8:109-12.
- Romanowski B. Long-term protection against cervical infection with the human papillomavirus. Review of currently available vaccines. *Human Vaccines* 2011. 7; 2: 161-169.
- Romanowski B, Schwarz T, Ferguson L, et al. Immunogenicity and safety of HPV 16/18 AS04-adyuvanted vaccine administered as a 2-dose schedule compared with the licensed 3-dose schedule. *Human Vaccines* 2011; 7(12)1-13.
- Ronco G, Dillner J, Elfstrom KM, Tunesi S, Snijders PJ, Arbyn M, et al. Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomised controlled trials. *Lancet* 2014 Feb 8; 383(9916):524-32.
- Rosales R, López-Contreras M, Rosales C, Magallanes-Molina JR, González-Vergara R, Arroyo-Cázares JM et al. Regression of human papillomavirus intraepithelial lesions is induced by MVA E2 therapeutic vaccine. *Hum Gene Ther.* 2014; 25: 1035–1049.
- Rositch AF, Burke AE, Viscidi RP, et al. Contributions of recent and past sexual partnerships on incident human papillomavirus detection: acquisition and reactivation in older women. *Cancer Res* 2012; 72:6183.
- Sadler L, Saftlas A. Cervical surgery and preterm birth. *J PerinatalMed* 2007; 35: 5-9.

- Sasieni P, Castanon A, Cuzick J. Effectiveness of cervical screening with age: population based case control study of prospectively recorded data. *BMJ* 2009; 339:b2968.
- Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, Kulasingam SL, Cain J, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *Am J Clin Pathol* 2012 Apr; 137(4):516-42.
- Scheffner M, Münger K, Byrne JC, Howley PM. The state of p53 and retinoblastoma genes in human cervical carcinomas cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991 Jul 1;88 (13): 5523-7.
- Schledermann D, Andersen BT, Bisgaard K, Dohse M, Ejersbo D, Hoelund B, et al. Are adjunctive markers useful in routine cervical cancer screening? Application of p16 (INK4a) and HPV-PCR on ThinPrep samples with histological follow-up. *Diagn Cytopathol*. 2008; 36(7): 453-9.
- Schenk U, Herbert A, Solomon D, y cols. Terminology. IAC Task Force Summary. *Acta Cytol*, 42: 5. 1998.
- Schiffman M, Castle PE, Jerónimo J, et al. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet* 2007; 370:890.
- Schiffman MH, Bauer HM, Hoover RN, et al. Epidemiologic evidence that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85:958.
- Schiller JT, Lowy DR. Understanding and learning from the success of prophylactic human papillomavirus vaccines. *Nat Rev Microbiol* 2012; 10: 681-92.
- 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.
- Schwartz T, Leo O. Immune response to human papillomavirus after prophylactic vaccination with AS04-adyuvanted HPV 16/18 vaccine: Improving upon nature. *Gynecol Oncol* 2008; 110 (3 Suppl 1): S1-10.
- Schwarz TF, Spaczynski M, Schneider A, Wysocki J, Galaj A, Perona P, et al. Immunogenicity and tolerability of an HPV-16/18 AS04-adyuvanted prophylactic cervical cancer vaccine in women aged 15-55 years. *Vaccine*. 2009; 27: 581-7.

- Scotto J, Bailar JC III, Rigoni Stern and medical statistics. A nineteenth-century approach to cancer research. *Hist Med Allied Sci.*1969; 24:65-75.
- Shen KY, Chang LS, Leng CH, Liu SJ. Self-adjuvanting lipopeptides for therapeutic HPV vaccine development: potential clinical impact. *Expert Rev Vaccin.* 2015; 14: 383–394.
- Sherman ME, Schiffman M, Cox JT. Effects of age and human papilloma viral load on colposcopy triage: data from the randomized Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion Triage Study (ALTS). *J Natl Cancer Inst* 2002 Jan 16; 94(2):102-7.
- Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin.* 2013 ;63(1):11-30.
- Sigurdsson K. Is a liquid-based cytology more sensitive than a conventional Pap smear? *Cytopathology.* 2013; 24:254-63.
- Skapa P, Robova H, Rob L, Zamecnik J. p16 immunoprofiles of squamous lesions of the uterine cervix-implications for the reclassification of atypical immature squamous metaplasia. *Pathol Oncol Res.* 2013; 19:707-714.
- Skeate JG, Woodham AW, Einstein MH, Diane M, Da Silva DM, Kast WM. Current therapeutic vaccination and immunotherapy strategies for HPV-related diseases. *Hum Vaccin Immunother.* 2016; 12: 1418–1429.
- Skinner EN, Gehrig PA, Van Le L. High-grade squamous intra-epithelial lesions: abbreviating posttreatment surveillance. *Obstet Gynecol* 2004; 103:488-92.
- Skinner SR, Szarewski A, Romanowski B, Garland SM, Lazcano-Ponce E, Salmerón J, et al. GlaxoSmithKline. Study to evaluate the efficacy of the human papillomavirus vaccine in healthy adult women of 26 years of age and older. *Lancet.* 2014; 384:2213–27.
- Soilly A.L., Lejeune C, Quantin C, Bejean S, Gouyon J.B. Economic analysis of the costs associated with prematurity from a literature review. *Public Health.* 2013; 128 (1): 43-62.
- Solomon D, Davey D, Kurman R, et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA* 2002; 287: 2114 .
- Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, et al. The 2001 Bethesda System. *JAMA,* 2002; 287: 2114.

- Soutter WP, de Barros Lopes A, Fletcher A et al. Invasive cervical cancer after conservative therapy for cervical intraepithelial neoplasia. *Lancet* 1997; 349:978–80.
- 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.
- Soutter WP, Butler JS, Tipples M. The role of colposcopy in the follow up of women treated for cervical intraepithelial neoplasia. *BJOG* 2006 May; 113(5):511-4.
- Sperling T et al. Human papillomavirus type 8 interferes with a novel C/EBP β mediated mechanism of Keratinocyte CCL20 chemokine expression and Langerhans cell migration. *PLoS Pathog.* 8.e 1002833(2012).
- Spurgeon M. E., Chung S.H & Lambert P.F. Recurrence of cervical cancer in mice after selective estrogen modulator therapy. *Am. J: Pathol* 2014; 184, 530-54.
- Stanley, M. A. Epithelial cell responses to infection with human papillomavirus. *Clin. Microbiol. Rev.* 2012. 25:215-222.
- Stanley M, Pinto LA, Trimble C. Human papillomavirus vaccines – immune responses. *Vaccine.* 2012; 30 Suppl 5:F83–7.
- Stevanović S, Draper LM, Langan MM, Campbell TE, Kwong ML, Wunderlich JR et al. Complete regression of metastatic cervical cancer after treatment with human papillomavirus–targeted tumor-infiltrating T cells. *J Clin Oncol.* 2015; 33: 1543–1550.
- Suzich JA, et al. Systematic immunization with papillomaviruses L1 protection completely prevents the development of viral mucosal papilloma. *PNAS*, 1995; 92(25):11533–11557.
- Syrjänen KJ, Schabalova IP, Petrivivhev N, Kozachenko VP, Zakharova T, Pajanidi A et al. Oral Contraceptives are not an Independent Risk Factor for Cervical Intraepithelial Neoplasia or High-risk Human Papillomavirus Infection. *Anticancer Research* 2006. 26: 4729-4740.
- Syrjänen KJ, Schabalova IP, Petrivivhev N, Kozachenko VP, Zakharova T, Pajanidi A et al. Smoking is an independent risk factor for oncogenic human Papillomavirus (HPV) infections but not high –grade CIN. *Eur J Epidemiol* 2007; 22: 723-35.

- Szarewski A, Poppe WAJ, Skinner SR, et al. Efficacy of the human papillomavirus 16/18 AS04-adjuvanted vaccine in women aged 15-25 years with and without serological evidence of previous exposure to HPV-16/18. *Int J Cancer* 2012; 131:106-16.
- Tatti S, Fleider L, Tinnirello MA, Caruso R. Enfoque integral de las patologías relacionadas con el virus del papilloma humano. 2017. Panamericana.
- Terry G, Ho L, Jenkins D, Hills M, Singer A, Mansel B, Beverly E. Definition of human papillomavirus type 16 DNA levels in low and high grade cervical lesions by a simple polymerase chain reaction technique. *Arch Virol*. 1993; 128:123-33.
- Theiler RN, Farr SL, Karon JM, et al. High-risk human papillomavirus reactivation in human immunodeficiency virus-infected women: risk factors for cervical viral shedding. *Obstet Gynecol* 2010; 115:1150.
- Tomson TT, Roden RB, Wu TC. Human papillomavirus vaccines for the prevention and treatment of cervical cancer. *Current Opinion in Investigational Drugs*. 2004; 5(12): 1247-61.
- Torné A. Hallazgos anormales. Cambios menores y mayores. En Puig Tintoré L.M. y Andia Ortiz D. (Editores) "Patología del Tracto Genital Inferior y Colposcopia, en España 2005". Editado por AEPC, 2006: 27-31 (ISBN 84-609-7825-7).
- Torre LA, Bray F, Siegel RL et al. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2015; 65:87.
- Trimble, C. L. et al. Human papillomavirus 16-associated cervical intraepithelial neoplasia in human excludes CD 8 T cells from dysplastic epithelium. *J. Immunol.* 185, 7107-7114 (2010).
- Trottier H, Franco EL. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine* 2006; 24 (Supl 1) S1-15.
- Tummers B & Burg SH. High risk human papillomavirus targets crossroads in immune signaling. *Viruses*. 2015. 7,2485-2506.
- van der Burg SH, Melief CJ. Therapeutic vaccination against human papilloma virus induced malignancies, *Curr. Opin. Immunol*. 2011; 23 (2): 252-257.
- van der Burg, S.H., de Jong, A., Welters, M.J.P., Offringa, R. & Melief, C.J.M. The status of HPV 16-specific T-cell reactivity in health and disease as a guide to HPV vaccine development. *Virus Res*. 2002; 89, 275-284.

- Van Krieking G, Castellsagué X, Cibuta D, Demarteau N et al., Estimation of the potential overall impact of human papillomavirus vaccination on cervical cancer cases and deaths. *Vaccine* 2014; 32:733.
- Verguts J, Bronselaer B, Donders G et al. Prediction of recurrence after treatment for high-grade cervical intraepithelial neoplasia: the role of human papillomavirus testing and age at conization. *BJOG* 2006; 113:1303-7
- Villa LL, Sichero L, Rahal P, Caballero O, Ferenczy A, Rohan T et al. Molecular variants of human papillomavirus types 16 and 18 preferentially associated with cervical neoplasia. *J Gen Virol* 2000; 81:2959-68.
- Vinokurova S, Wentzensen N, Kraus I, Klaes R, Driesch C, Melsheimer et al. Type-dependent integration frequency of human papillomavirus genomes in cervical lesions. *Cancer Res* 2008; 68:307-13.
- Vinokurova S. et al. Type-dependent integration frequency of human papillomavirus genomes in cervical lesions. *Cancer Res.* 2008; 68, 307-313 .
- Visser J. et al. Frequencies and role of regulatory T cells in patients with premalignant cervical neoplasia. *Clin. Exp. Immunol.* 2007; 150, 199-209.
- Volpers C, Unckell F, Schirmacher P, Streeck RE, Sapp M. Binding and internalization of human papillomavirus type 33 virus-like particles by eukariotic cells. *J Virol.* 1995 Jun; 69(6):3258-64.
- Vonka V, Kanka J, Roth Z. Herpes simple type 2 virus and cervical neoplasia. *Adv* 1987; 48:149-91.
- Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJ, Peto J, Meijer CJ, Muñoz. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *N J Pathol.* 1999; 189(1):12.
- Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV et al., Human Papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999; 189: 12-9.
- Wang SS, Sherman ME, Hildesheim A, La-cney JV, Jr., Devesa S. Cervical adenocarcinoma and squamous cell carcinoma incidence trends among white women and black women in the United States for 1976-2000. *Cancer* 2004 Mar 1; 100(5):1035-44.
- Wang SS, Hildesheim A. Chapter 5: Viral and host factors in human papillomavirus persistence and progression. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003 : 35.

- Warren C.J et al. APOBEC3A functions as a restrictor factor of human papillomavirus. *J. Virol.* 89, 688-702 (2015).
- Welters MJ, Kenter GG, Piersma SJ, Vloon AP, Lowik MJ, Berendsvan der Meer DM, et al. Induction of tumor-specific CD4+ and CD8+ T-cell immunity in cervical cancer patients by a human papillomaavirus type 16 E6 and E7 long peptides vaccine. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 178-87.
- Werness BA, Levine AJ, Howley PM, 1990. Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science* 248,76-79.
- Wheeler CM, Castellsagué X, Garland SM, Szarewski A, Paavonen J, Naud P, et al. Cross-protective efficacy of HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine against cervical infection and precancer caused by non-vaccine oncogenic HPV types: 4-year end-of-study analysis of the randomised, double-blind PATRICIA trial. *Lancet Oncol.* 2012; 13:100–10
- Whitlock EP, Vesco KK, Eder M, Lin JS, Senger CA, Burda BU. Liquid-based cytology and human papillomavirus testing to screen for cervical cancer: a systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med.* 2011; 155 (10):687. Epub 2011 Oct 17.
- WHO. Human Papillomavirus vaccines: WHO position paper, October 2014, Nº 43, 89, 465-492. <http://www.who.int/wer>.
- WHO/ICO Information Center of HPV and Cervical Cancer (HPV Information Center). Human Papillomavirus and Related Cancers in the World. Summary Report 2010. <http://www.who.int/hpvcentre/en/> (Accessed on September 19, 2011).
- Willoughby BJ, Faulkner K, Stamp EC, Whitaker CJ et al. A descriptive study of the decline in cervical screening coverage rates in the North East and Yorkshire and the Humber Regions of the UK from 1995 to 2005. *Journal of Public Health*, Volume 28, Issue 4, 1 December 2006, Pages 355–360, <https://doi.org/10.1093/pubmed/fdl062>
- Wilson JMG. Principles and practice of screening for disease. Public Health Papers nº 34, WHO, Geneva, 1968.
- Wira, C. R. Rodríguez- García, M.& Patel, M.V. The role of sex hormones in immune protection of the female reproductive tract. *Nat. Rev. Immunol.* 15, 217-230 (2015).

- Woo YL et al. Characterising the local immune responses in cervical intraepithelial neoplasia: a cross-sectional and longitudinal analysis. *BJOG* 115, 1616-1621; discussion 1621-1622(2008).
- Wright TC, Bosch FX, Franco EL, Cuzick J, Schiller JT, Garnett GP, Meheus A. Chapter 30: HPV vaccines and screening in the prevention of cervical cancer; conclusions from a 2006 work-shop of international experts. *Vaccine*. 2006 Aug 31; 24 Suppl 3 : S3/251-61. Review.
- Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D. 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical screening tests. *J Low Genit Tract Dis* 2007 Oct; 11(4):201-22.
- Wright TC Jr, Stoler MH, Behrens CM, Apple R, Derion T, Wright TL. The ATHENA human papillomavirus study: Design, methods, and baseline results. *Am J Obstet Gynecol*. 2012; 206:46.e1-11.
- Yang L, et al. The E1 protein of bovine papilloma virus 1 is an ATP-dependent DNA helicase, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* .1993; 90 (11): 5086-5090.
- Ziemke P, Marquardt K, Griesser H. Predictive value of the combined p16 and Ki-67 immunocytochemistry in Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesions. *Acta Cytol*. 2014; 58(5):489-94.
- Zehbe I, Richard C., De Carlo CA., Shai A, Lambert PF, Lichting H, Tommasino M, Sherman L . Human papillomavirus 16 E6 variants differ in their dysregulation of human keratinocyte differentiation and apoptosis. *Virology*. 2009 Jan 5;383(1):69-77.
- Ziegert C, Wentzensen N, Vinokurova S, Kissel'jov F, Eienkel J, Hoeckel M, von Knebel Doeberitz M. A comprehensive analysis of HPV integration loci in anogenital lesions combining transcript and genome-based amplification techniques. *Oncogene* 2003; 22:3977-3984.
- zur Hausen H. Condilomata acuminata and human genital cancer. *Cancer Res*. 1975; 36:794.
- zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nature Reviews Cancer* 2002; 2(5): 342-350.

XI. ANEXOS

ANEXO 1. INFORME DE CONSULTA DE PATOLOGÍA CERVICAL

SERVICIO DE GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA
HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO SANTA LUCÍA CARTAGENA

INFORME DE CONSULTA DE PATOLOGÍA CERVICAL

NHC xxx Servicio GINECOLOGÍA Pág. 1 de 2 Nombre xx Sec./Unidad 1ª Apellido xxx F. Consulta
16/05/20xx 09:30 2º Apellido xxx Nº AC 18-xxxxxx Sexo Mujer DNI / Pasaporte xxx F. Nacim.
20/11/19xx Dirección Plaza xxx Edad 51 Años Teléfono 968xxxxxx NSS 28/040xxxxxx Cod. SNS xx CIP
Auto. CARMxxxxxx

ANTECEDENTES PERSONALES:

- Alergias:
- Serología:
- Tabaco:

ANTECEDENTES GINECOLÓGICOS:

- Antecedentes de Patología Cervical
- Métodos anticonceptivos
- Paridad
- Menopausia
- Vacuna VPH

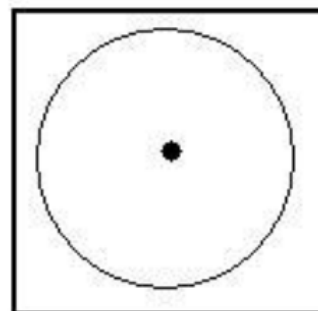
PRUEBAS EFECTUADAS:

- Citología
- Test de VPH
- Colposcopia
- Biopsia cervical

DIAGNÓSTICO




TRATAMIENTO

REVISIÓN



Fdo:
Dr/Dra.
Nº
Colegiado/a:

ANEXO 2. CONSENTIMIENTO INFORMADO DE LA CONIZACIÓN CERVICAL

| | | |
|---|--|---|
|  <p>Región de Murcia Consejería de Sanidad y Consumo</p> |  <p>de Salud Cartagenés</p> |  <p>Servicio Murciano de Salud</p> |
| CONSENTIMIENTO INFORMADO | | |
| SERVICIO DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA | ETIQUETA IDENTIFICATIVA | |
| Conización cervical ambulatoria | | |
| <p>1ª EXPLICACION: He sido informada de que es necesario/conveniente proceder, en mi situación, a una CONIZACION CERVICAL AMBULATORIA</p> <p>Se trata de una intervención quirúrgica consistente en la extirpación de una parte del cuello del útero en forma de cono cuya finalidad puede ser diagnóstica y/o terapéutica. En mi caso concreto el motivo es:</p> <p>_____</p> <p>Me ha sido explicada la existencia de otras posibles opciones terapéuticas como amputación cervical, tratamiento destructivo local o histerectomía en determinadas condiciones.</p> <p>2º MODO DE REALIZACION: La conización se efectuará con anestesia local.</p> <p>La conización puede efectuarse con bisturí, con láser o con asa electro-quirúrgica. En mi caso concreto se efectuará mediante asa electro-quirúrgica, habiéndome explicado las ventajas e inconvenientes de cada uno de estos métodos.</p> <p>La pieza extirpada se someterá a estudio anatómico patológico posterior, siendo informada de los resultados.</p> <p>Dependiendo de los resultados anatómico patológicos, y por tanto del diagnóstico definitivo, puede ser necesario completar esta intervención con otra más amplia de la que se me informará en su caso.</p> <p>Si en el momento del acto quirúrgico surgiera algún imprevisto, el equipo médico podrá variar la técnica quirúrgica programada.</p> <p>3º RIESGOS: Toda intervención quirúrgica, tanto por la propia técnica quirúrgica como por la situación vital de cada paciente (diabetes, cardiopatías, hipertensión, edad avanzada, anemia, obesidad, etc.), lleva implícita una serie de complicaciones y potencialmente serias que podrían requerir tratamientos complementarios, tanto médicos como quirúrgicos, así como un mínimo porcentaje de mortalidad.</p> <p>Las complicaciones potenciales de la intervención quirúrgica son: hemorragia (inmediata o tardía), estenosis cervical, cuello uterino incompetente, riesgos anestésicos, extirpación incompleta de la lesión (márgenes positivos), lesión residual y lesión de “novo”, quemaduras accidentales en caso de utilizar electrocirugía, tanto en el electrodo activo como en quemaduras distales.</p> <p>Por mi situación actual el Médico me ha explicado que pueden aumentar o aparecer riesgos o complicaciones como: _____</p> <p>Se me aclaran todos estos conceptos en lenguaje claro y sencillo y el Facultativo que me ha atendido me ha permitido realizar todas las observaciones y me ha aclarado todas las dudas que le he planteado.</p> | | |

DECLARACIONES Y FIRMAS

1º PACIENTE

Yo, Dº/Dª, con D.N.I., **declaro que**, tras haber leído los puntos 1º, 2º y 3º referentes a la prueba/procedimiento que me van a realizar y tras escuchar la explicación del Dr., he comprendido perfectamente todo lo anterior, por lo que **doy mi consentimiento** para que me realicen la CONIZACION CERVICAL. También declaro que puedo retirar este consentimiento cuando lo desee.

Fdo.
(nombre y dos apellidos, con mayúsculas)

Fecha:/...../.....

2º REPRESENTANTE LEGAL

Yo, Dº/Dª, con D.N.I., como representante legal en calidad de: **declaro que**, tras haber leído
(especificar relación con el paciente)

los puntos 1º, 2º y 3º referentes a la prueba que le van a realizar a mi representado y tras escuchar la explicación del Dr., he comprendido perfectamente todo lo anterior, por lo que **doy mi consentimiento** para que le realicen la CONIZACION CERVICAL. También declaro que puedo retirar este consentimiento cuando lo desee.

Fdo.
(nombre y dos apellidos, con mayúsculas)

Fecha:/...../.....

3º FACULTATIVO

Yo, Dº/Dª, con Nº de colegiado, declaro que **he informado** al paciente y/o a su representante legal arriba mencionado del propósito y naturaleza del procedimiento/prueba que nos ocupa, así como de sus riesgos y alternativas.

Fdo.
(nombre y dos apellidos, con mayúsculas)

Fecha:/...../.....

REVOCACION

(el paciente)

Yo, Dº/Dª, con D.N.I., revoco este consentimiento firmado anteriormente en fecha/...../....., y expreso mi deseo de no proseguir con el procedimiento/prueba, asumiendo toda responsabilidad y posibles consecuencias que esta decisión pudiera conllevar.

Fdo.
(nombre y dos apellidos, con mayúsculas)

Fecha:/...../.....

(representante/tutor legal)

Yo, Dº/Dª, con D.N.I., revoco este consentimiento firmado anteriormente en fecha/...../....., y expreso mi deseo de no proseguir con el procedimiento/prueba, asumiendo toda responsabilidad y posibles consecuencias que esta decisión pudiera conllevar.

Fdo.
(nombre y dos apellidos, con mayúsculas)

Fecha:/...../.....

NO CONFORMIDAD

Si usted, ante testigos, no acepta firmar este documento, hágalo constar.

Fdo.
(nombre y dos apellidos, con mayúsculas)

Fecha:/...../.....

ANEXO 3. INFORMACIÓN PARA LA PACIENTE SOBRE LA CONIZACIÓN

Hospital General Universitario
Santa Lucía

Departamento de
Obstetricia y Ginecología



HOSPITAL UNIVERSITARIO
SANTA MARÍA DEL ROSELL

CONIZACION CERVICAL AMBULATORIA CON ASA DE DIATERMIA**ETIQUETA IDENTIFICATIVA**

Fecha prevista de realización: _____ **Hora:** _____

LUGAR: hospital Santa María del Rosell, 1º planta, GINECOLOGIA UPTGI
(junto a quirófanos)

RECOMENDACIONES PREVIAS

- 1- Medicación 2 horas previas a la intervención:
 - Azitromicina 1 gr - 1 sobre oral si no es alérgico
 - Paracetamol 1 gr. o Nolotil 1 cp si no es alérgico
- 2- Procure acudir acompañada a la consulta
- 3- Evitar accesorios metálicos (sortijas, pendientes, piercing...)

RECOMENDACIONES DE CUIDADOS POSTERIORES

- 1- Reposo relativo durante 2-3 días
- 2- En las 3 semanas siguientes:
 - no utilizar tampones
 - no bañarse (ducharse está permitido)
 - no mantener relaciones sexuales
- 3- Si tiene molestias puede tomar su analgésico habitual
- 4- Utilizar Blastoestimulina óvulos - 1 óvulo por la noche durante 10 días (empezar el tratamiento a los 5 días de la intervención o después de la regla)
- 5- Recuerde que puede manchar en los días posteriores a la intervención (hasta 10-15 días), siendo cada vez menor el manchado, excepto entre el 7º y 8º día tras la conización que puede haber un aumento del sangrado vaginal por el desprendimiento de la costra de la cicatriz que queda en el cuello uterino.

ANEXO 4. RECOMENDACIONES DE LA VACUNA FRENTE A VPH TRAS CONIZACIÓN



Hospital General Universitario
Santa Lucía

Departamento de
Obstetricia y Ginecología



HOSPITAL UNIVERSITARIO
SANTA MARÍA DEL ROSELL

RECOMENDACIÓN DE VACUNACIÓN FRENTE A VPH PARA PACIENTES CONIZADAS

ETIQUETA IDENTIFICATIVA

Fecha de realización: _____ Hora: _____

Dada la patología que ha motivado la intervención y con el objetivo de prevenir lesiones futuras, le aconsejamos la VACUNA frente a VPH:

CERVARIX

- | | Fecha |
|--|-------|
| • 1ª dosis: | |
| • 2ª dosis (al mes de la 1ª dosis) | |
| • 3ª dosis (entre 6 m-1 año de la primera dosis) | |

GARDASIL

- | | Fecha |
|--|-------|
| • 1ª dosis: | |
| • 2ª dosis (a los 2 meses de la 1ª dosis) | |
| • 3ª dosis (entre 6 m-1 año de la primera dosis) | |

