



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA

**DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSTGRADO
E INVESTIGACIÓN**

**INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES
DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO**

**EXPRESIÓN Y COMPARACIÓN DE DIFERENTES MARCADORES
INMUNOHISTOQUÍMICOS EN EL DIAGNOSTICO HISTOLÓGICO DE
LESIONES DE BAJO Y ALTO GRADO DE CÉRVIX.**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE PRESENTA:
DR. CARLOS SÁNCHEZ LARA**

**PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA ESPECIALIDAD DE:
ANATOMIA PATOLÓGICA**

**ASESOR DE TESIS
DR. FERNANDO ENRIQUE DE LA TORRE RENDÓN**

**NO. DE REGISTRO DE PROTOCOLO:
052.2009**

2011





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DR. FÉLIX OCTAVIO MARTÍNEZ ALCALÁ
COORDINADOR DE CAPADESI

DR. GUILBALDO PATIÑO
CARRANZA
JEFE DE ENSEÑANZA

DRA. MARTHA EUNICE RODRÍGUEZ
ARELLANO
JEFE DE INVESTIGACIÓN

DR. LUIS CISNEROS SOTELO
PROFESOR TITULAR

DR. FERNANDO ENRIQUE DE LA TORRE RENDÓN
ASESOR DE TESIS

Agradecimientos

A mi alma Mater que me ha dado la oportunidad de estudiar y pertenecer a ella

A mis padres Joel Sánchez Guerra e Isabel Lara Silva, y a mis hermanos Joel y Margarita por apoyarme en mi formación profesional y humana.

A mi esposa Rocío y a mis hijos Sofía y Saúl por su paciencia, apoyo y por ser la razón para seguir adelante.

A los académicos y profesores que con su apoyo y trabajo contribuyeron a mi formación profesional.

Al personal del servicio de Patología del Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos que me brindó su apoyo en estos valiosos años de mi vida.

Dr. Carlos Sánchez Lara

Índice

Resumen	2
Abstract	4
Introducción	6
Material y método	13
Resultados	18
Discusión	28
Conclusiones	30
Bibliografía	31
Anexos	34

Resumen

Las lesiones premalignas de cérvix se dividen en bajo o alto grado según sus características morfológicas; las de bajo grado muestran habitualmente coilocitosis, proliferación de células basales (hasta 30% del espesor del epitelio), actividad mitótica, comúnmente restringida a la capa basal, atipia en capa media y superficial del epitelio, poca o nula atipia de células basales, papilomatosis, paraqueratosis. Y las lesiones de alto grado presentan proliferación de células inmaduras atípicas (30 a 100% del espesor del epitelio), atipia moderada a intensa en todo el espesor del epitelio, actividad mitótica aumentada y con figuras mitóticas por arriba de la capa basal, mitosis atípicas, puede haber coilocitosis, comúnmente asociada con atipia intensa y pleomorfismo nuclear, papilomatosis, paraqueratosis, queratosis o engrosamiento del epitelio, o extensión hacia las glándulas endocervicales.

En estudios recientes se ha obtenido evidencia mediante marcadores inmunohistoquímicos de diferentes grados de actividad proliferativa y de la asociación con el virus del papiloma humano de alto riesgo. Con objeto de estudiar la relación existente entre criterios histológicos y marcadores inmunohistoquímicos de lesiones escamosas de bajo y alto grado del cuello uterino en casos de nuestro Hospital seleccionamos 60 casos del archivo del Servicio de Patología diagnosticados entre 2001 y 2011. Realizamos el análisis mediante criterios histológicos "score", y de forma espontánea por tres observadores (patólogos) y tinciones por reacciones de inmunohistoquímica para evaluar la actividad proliferativa y la asociación indirecta con virus del papiloma humano de alto riesgo.

Encontramos que las lesiones de bajo grado tenían un puntaje en base a criterios del “score” de 9 a 23 puntos con un promedio de 14.65 puntos, con actividad proliferativa de Ki67: 7 casos con positividad basal de 10 a 30%, con un promedio de 16.42%, y 12 casos con positividad suprabasal de 10 a 60%, con un promedio de 20.41%; y para p16 7 casos (35%) fueron positivos y 13 casos (65%) fueron negativos. En cuanto a las lesiones de alto grado mostraron puntaje de 9 a 34 puntos, con un promedio de 23.03 puntos, con actividad proliferativa de Ki67: 8 casos con positividad basal de 10 a 40%, con un promedio de 18.12%, y 13 casos con positividad suprabasal de 5 a 40%, con un promedio de 23.84%; y para p16: 19 casos (79.17%) fueron positivos y 5 casos (20.83%) fueron negativos. Por lo tanto podemos concluir que en general hay una mayor actividad proliferativa y expresión de p16 en lesiones de alto grado, así como se observó que el análisis por score nos sirve para detectar si hay o no lesión, sin embargo no hay una división significativa para detectar lesiones de bajo o alto grado ya que mostro un amplio rango, aunque el promedio para cada lesión si fue diferente, lo que nos ayudaría en el diagnóstico de dichas lesiones. Aun cuando esta serie es pequeña es posible recomendar que ante la sospecha de lesión escamosa intraepitelial se realice investigación de actividad proliferativa con Ki 67 y asociación a virus del papiloma humano de alto riesgo con p16. Es necesario el desarrollo de otras técnicas para identificar con mayor certeza este tipo de lesiones con un número mayor de casos y otros marcadores inmunohistoquímicos.

Abstract

Premalignant cervical lesions are divided into low or high grade according to their morphological characteristics, the low-grade usually show koilocytosis, basal cell proliferation (up to 30% of the thickness of the epithelium), mitotic activity, usually restricted to the basal layer, atypia in layer middle and superficial of the epithelium, little or no basal cell atypia, papillomatosis, parakeratosis. And the high-grade lesions have atypical proliferation of immature cells (30 to 100% of the thickness of the epithelium), moderate to severe atypia throughout the thickness of the epithelium, increased mitotic activity and mitotic figures above the basal layer, atypical mitosis, may have koilocytosis, commonly associated with intense atypia and nuclear pleomorphism, papillomatosis, parakeratosis, keratosis or thickening of the epithelium, or extension into endocervical glands. Recent studies evidence has been obtained by immunohistochemical markers of varying degrees of proliferative activity and association with human papillomavirus high-risk. To study the relationship between histological criteria and immunohistochemical markers of squamous lesions of low and high grade cervical cases in our hospital we selected 60 cases from the Pathology Department diagnosed between 2001 and 2011. We perform the analysis by histologic criteria "score" and spontaneously by three observers (pathologists) and immunohistochemical staining reactions to assess the proliferative activity and indirect association with HPV high risk. We found that low-grade lesions had a score based on criteria of "score" of 9 to 23 points with an average of 14.65 points, Ki67 proliferative activity: 7 cases with positive basal 10 to 30%, averaging of 16.42%, and 12 cases with positive suprabasal 10 to 60%, with

an average of 20.41% and for p16 7 cases (35%) were positive and 13 cases (65%) were negative. As for high-grade lesions showed score of 9 to 34 points, with an average of 23.03 points, Ki67 proliferative activity: 8 cases with a positive basal 10 to 40%, with an average of 18.12%, and 13 cases with positive suprabasal 5 to 40%, with an average of 23.84% and for p16: 19 cases (79.17%) were positive and 5 cases (20.83%) were negative. Therefore we can conclude that in general there is a higher proliferative activity and p16 expression in high-grade lesions, and it was observed that the score analysis allows us to detect whether there is lesion, however there is a significant division in detecting low or high and he showed a wide range, although the average for each lesion if it was different, which would help in diagnosing such lesions. While this number is small it is possible to recommend that in suspected squamous intraepithelial lesion research is performed with Ki-67 proliferative activity and association with human papillomavirus high-risk with p16. It is necessary to develop other techniques to identify with greater certainty this type of lesion with a greater number of cases and other immunohistochemical markers.

Introducción

El cáncer cérvicouterino es un problema de salud pública ya que es la segunda causa de muerte por neoplasias malignas en la mujer a nivel mundial. Sin embargo, gracias a la información actual, a la citología y a la histopatología se le puede detectar tempranamente y tratar oportunamente, reduciendo el impacto de esta enfermedad. ⁽¹⁾

Fue en el siglo XIX (1845), cuando hubo uno de los primeros reportes de transmisión de verrugas en humanos, cuando por un accidente, a un fabricante de velas de cera, que mientras estaba removiendo una verruga con su instrumento se lastimó debajo de la uña. Tiempo después apareció en el lugar de la lesión una verruga, que luego de destruirla repetidamente reaparecía, hasta que la uña fue finalmente removida. ⁽¹⁾ En otro experimento, el investigador Ullmann inoculó extractos de papilomas laríngeos en heridas hechas por el mismo en su brazo. Después de 9 meses brotó una verruga en el sitio de inoculación. ⁽¹⁾

El concepto de que algunas verrugas pueden progresar a la malignidad fue establecido por los estudios de Shope, Rous y otros, que estudiaron la transmisión de verrugas que aparecen de manera natural en los conejos llamados de cola de algodón. Estos investigadores descubrieron que las lesiones formadas en conejos domésticos, después de inocularlos con extracto de verrugas de los conejos de cola de algodón, eran sensibles a la progresión maligna. Así el primer virus del papiloma fue aislado de conejos por Richard Shope en 1933. ⁽¹⁾ El Dr. Harald zur

Hausen fue el primero en demostrar, por medio de experimentos de hibridación, que las verrugas genitales y los tejidos de cáncer cervicouterino, contienen genomas del virus del papiloma humano. Esta relación entre el cáncer cérvicouterino y el virus del papiloma humano, propuesta a principios de los años 80's, continúa siendo hoy explorada por diversos medios, como la inmunohistoquímica y la biología molecular. ⁽¹⁾

El cáncer cervicouterino persiste como un problema de salud no resuelto al nivel mundial. Después del cáncer de mama, es el más frecuente en el sexo femenino y ocupa el séptimo lugar entre todas las neoplasias malignas que afectan a ambos sexos, y se reporta la mayor incidencia en las mujeres con edades comprendidas entre los 40 y 50 años. Cada año son diagnosticados 437 000 casos nuevos al nivel mundial, y, aproximadamente, la mitad muere. ⁽²⁾ El factor de riesgo que se ha asociado con mayor fuerza para el cáncer cervicouterino es la infección por virus del papiloma humano, y el riesgo de adquirir esta infección esta dado por: el número de parejas sexuales que se haya tenido; pareja sexual con cáncer de cervicouterino o de pene; la edad (la infección es más común en mujeres jóvenes sexualmente activas, de 18 a 30 años de edad. El Cáncer cervicouterino es más común después de los 35 años, lo que sugiere infección a temprana edad y progresión lenta a cáncer.); la persistencia viral, que es común entre los tipos virales de alto riesgo, 16 y 18, y factor determinante en el desarrollo a cáncer; ^(3,4) uso prolongado de anticonceptivos orales (la región larga de control, LCR por las siglas en inglés, en el genoma viral, contiene elementos de respuesta a

glucocorticoides, inducibles por hormonas esteroideas como la progesterona.(1); coinfección con otros virus, como el del herpes simple (HSV) tipo 2, citomegalovirus (CMV), herpesvirus humano tipos 6 y 7(HHV-6), detectados todos en el cérvix; y la predisposición genética de cada individuo. ⁽¹⁾

Las lesiones del cuello del útero, continúan ocupando un lugar preponderante entre las mujeres que contempla el Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas (RHNM). Durante el año 2003 se registraron 9,227 casos de cáncer cervicouterino, además del in situ que ocupa ahora el primer lugar de todas las neoplasias en México con 14,867. Cerca de la mitad de los casos de cáncer cervicouterino (46%) se presentaron entre las mujeres de 35 a 54 años de edad y 11 de cada cien tenían más de 70 años de edad, lo que ubica a estos grupos de edad como los más sobresalientes entre esta población. Asimismo el carcinoma in situ se registró frecuentemente en las más jóvenes, es decir en las de 25 a 49 años agrupando a 63% de los casos. Las entidades con mayor proporción de registros fueron el Distrito Federal, (20%) y Estado de México (5%). En el ISSSTE se registraron 1759(40.7%) en el año 2003. ⁽⁵⁾

La nomenclatura y concepto de las lesiones premalignas del epitelio escamoso del cuello uterino han evolucionado en los últimos 32 años, se ha simplificado desde que se establecieron las propuestas del grupo del Sistema Bethesda de la siguiente manera: ⁽¹⁰⁾

1) Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado:

- a) Infección por VPH (condiloma ordinario).
 - b) Displasia leve o NIC 1.
- 2) Lesión intraepitelial escamosa de alto grado:
- a) Displasia moderada o NIC 2.
 - b) Displasia intensa o NIC 3.
 - c) Carcinoma epidermoide in situ (debe incluirse, también, al condiloma atípico).

Las alteraciones histológicas generales de las lesiones intraepiteliales escamosas del cuello uterino son las siguientes: ⁽¹⁰⁾

Criterios mayores: Anisonucleosis, pleomorfismo nuclear, heterocromasia.

Criterios menores: Mitosis por arriba del estrato basal, mitosis anormales, proliferación de células basales, engrosamiento epitelial (acantosis), papilomatosis, paraqueratosis.

Las alteraciones citológicas generales de las lesiones intraepiteliales escamosas del cuello uterino se presentan a continuación: ⁽¹⁰⁾

Nucleares:

- Macronucleosis.
- Hendiduras y lobulaciones.
- Contorno angulado.
- Irregularidad del contorno nuclear.
- Hiper Cromatismo.
- Gránulos gruesos de cromatina.

-Engrosamiento de la membrana nuclear.

-Anisonucleosis.

-Heterocromasia.

Citoplásmicas:

-Halos perinucleares.

De las alteraciones citadas anteriormente, las características de la lesión intraepitelial escamosa de bajo grado son: ⁽¹⁰⁾

-Habitualmente hay coilocitosis.

-Proliferación de células basales (hasta 30% del espesor del epitelio).

-Actividad mitótica, comúnmente restringida a la capa basal.

-La atipia predomina en las capas medias y superficiales del epitelio.

-Poca o nula atipia de células basales.

-Puede haber grados variables de papilomatosis, paraqueratosis.

Las características de la lesión intraepitelial escamosa de alto grado son: ⁽¹⁰⁾

-Proliferación de células inmaduras atípicas (30 a 100% del espesor del epitelio).

-Atipia moderada a intensa en todo el espesor del epitelio, incluida la capa basal que se encuentra desorganizada.

-Actividad mitótica aumentada y con figuras por arriba de la capa basal.

-Mitosis atípicas.

-Puede haber coilocitosis, comúnmente asociada con atipia intensa y pleomorfismo nuclear.

-Puede haber grados variables de papilomatosis, paraqueratosis, queratosis o engrosamiento del epitelio, o extensión hacia las glándulas endocervicales.

La diferenciación de este tipo de lesiones es de vital importancia, ya que de esto depende el tratamiento y pronóstico de las pacientes; puesto que en las lesiones de bajo grado el tratamiento puede darse por criocirugía (congelamiento), por calor o por escisión quirúrgica (cono cervical) y en las lesiones de alto grado se necesita un tratamiento quirúrgico más agresivo. ⁽¹⁰⁾

Los marcadores inmunohistoquímicos que se usaran en este estudio son:

1.-Proteína 16 (p16INK4a): La proteína p16, codificada por el gen supresor CDKN2A (MTS1, INK4A) situado en el cromosoma 9p21, es un inhibidor de las quinasas dependientes de ciclinas (cdk) que desacelera el ciclo celular inactivando la función de los complejos cdk4- y cdk6-ciclina D. Estos complejos regulan el punto de control de la fase G1 del ciclo celular mediante la fosforilación y la subsiguiente inactivación de retinoblastoma (pRb), lo cual libera E2F y permite a la célula entrar en la fase S. Se ha demostrado la existencia de una correlación recíproca entre pRb y p16, razón por la cual existe una fuerte sobreexpresión de p16 tanto en los carcinomas como en las lesiones premalignas del cérvix uterino. El papel potencial de la p16INK4a en la predicción de lesiones premalignas de cérvix es discutido aun, y se necesita realizar más estudios para lograr mejores resultados y validar los que existen. ⁽⁷⁾

2.-Ki 67: es un anticuerpo monoclonal para evaluar con exactitud la fracción de crecimiento de las neoplasias humanas ya que está asociado a la proliferación

celular, se expresa exclusivamente en el núcleo de las células que se encuentran en fase de proliferación (G1, S, G2 y M) y no se detecta en aquellas en fase G0, en reposo. Por lo que se ha sugerido su uso en lesiones premalignas o malignas, para valorar su pronóstico. En este caso se utilizara en lesiones premalignas de cérvix. ⁽⁹⁾

Estos y otros estudios con marcadores inmunohistoquímicos aun se encuentran en discusión, en la actualidad se han utilizado con mayor frecuencia p16 y Ki 67 para el diagnóstico y pronóstico de este tipo de lesiones. ⁽¹⁰⁾

Material y método:

Se realizó la búsqueda de biopsias de cérvix con diagnóstico de lesión escamosa intraepitelial de alto y bajo grado en la base de datos del servicio de patología quirúrgica del Hospital Lic. Adolfo López Mateos, ISSSTE durante el periodo comprendido entre los años 2001 al 2011, y se obtuvieron un total 60 casos que fueron incluidos para este estudio. Todas las biopsias fueron fijadas en formol y procesadas por método histológico de rutina, teñidas con hematoxilina y eosina, posteriormente se realizaron cortes para tinción por método de inmunohistoquímica utilizando anticuerpos monoclonales para proteína 16 (p16INK4a) y para Ki 67. Se llevó a cabo un análisis basado en una serie de criterios histológicos “score” de dichas lesiones consistentes en hallazgos de diferentes autores:

Criterios para lesión de Bajo Grado y Alto Grado (^{12, 13, 14, 15, 16,17})

Autor	NIC 1 (LEIBG)	NIC 2 (LEIAG)	NIC3 (LEIAG)
CRUM	Macronucleosis. Hiper Cromasia. Nucléolo poco evidente. Coilocitos. Pleomorfismo leve Anisonucleosis. Multinucleación. Cromatina finamente granular. Engrosamiento epitelial. Hiperqueratosis o paraqueratosis.	Macronucleosis, hipercromasia, coilocitos (raro), pleomorfismo moderado a intenso, hiperqueratosis, aumento del índice mitótico, pérdida de la polaridad, mitosis atípicas. Inmadurez mayor al segundo tercio del epitelio.	

<p>YAO S.FU</p>	<p>Células inmaduras en tercio inferior. Macronucleosis en tercio inferior. Núcleo redondo a oval con cromatina finamente granular Multinucleación Citoplasma reducido Actividad mitótica rara y limitada al tercio inferior Coilocitosis Anormalidades nucleares: macronucleosis, hiper cromasia, pleomorfismo leve. Nucléolo raro.</p>	<p>Células inmaduras hasta el tercio medio, Pleomorfismo moderado. Anisonucleosis . Mitosis normales y atípicas en tercio medio Coilocitosis (raro)</p>	<p>Células inmaduras en el total del epitelio. Perdida de la polaridad. Las células basales están reemplazadas o entremezcladas con células anormales con macronucleosis. Anisonucleosis Hacia la superficie hay desorganización evidente. Pleomorfismo intenso. Hiper cromasia. Cromatina en grumos gruesos Citoplasma escaso a moderado Bordes celulares poco definidos Nucléolo (raro)</p>
<p>BLAUSTEIN'S</p>	<p>Atipia nuclear: Anisonucleosis, Macronucleosis. Hiper cromasia. Afección del primer tercio del primer tercio. Hacia la superficie núcleos picnoticos y pequeños. Coilocitosis (halos perinucleares con engrosamiento de las membranas celulares) Multinucleación Engrosamiento epitelial Papilomatosis y</p>	<p>Atipia por arriba del tercio medio del epitelio, anisonucleosis, pleomorfismo moderado a intenso, perdida de la polaridad, macronucleosis, nucléolo prominente y cromocentros (raros). Mitosis normales y atípicas arriba de la primera mitad del epitelio, citoplasma escaso, coilocitosis ocasionalmente, hiperqueratosis y paraqueratosis</p>	

	acantosis		
DALLENBACH	<p>Papilomatosis Coilocitosis. Células inmaduras hasta el primer tercio del epitelio. Pleomorfismo leve. Multinucleación. Macronucleosis Engrosamiento epitelial</p>	<p>Papilomatosis Coilocitosis ocasional. Células inmaduras hasta el segundo tercio del epitelio. Pleomorfismo moderado. Macronucleosis. Mitosis suprabasales y atípicas. Engrosamiento epitelial</p>	<p>Macronucleosis. Anisonucleosis. Hiper cromasia, aumento en el número de mitosis, papilomatosis, paraqueratosis, mitosis atípicas. Coilocitosis ocasional. Inmadurez de la totalidad del epitelio Mitosis suprabasales y atípicas. Pleomorfismo intenso</p>
ROBBOY	<p>Coilocitos Multinucleación Paraqueratosis Acantosis Papilomatosis Disqueratosis Anormalidades nucleares en el tercio basal del epitelio Figuras mitóticas en el tercio basal Hiper cromasia Pérdida de la polaridad</p>	<p>Macronucleosis Figuras mitóticas normales y atípicas en los dos primeros tercios del epitelio. Pleomorfismo moderada. Pérdida de la polaridad. Hiper cromasia variable. Anisonucleosis</p>	<p>No hay maduración celular. Engrosamiento epitelial. Mitosis suprabasales y atípicas. Pleomorfismo intenso. Anisonucleosis. Macronucleosis. Pérdida de la polaridad. Hiper cromasia.</p>
RICHART	<p>Coilocitos. Paraqueratosis o hiperqueratosis. Multinucleación. Engrosamiento</p>	<p>Inmadurez hasta el tercio medio epitelial. Engrosamiento epitelial.</p>	<p>Inmadurez en el total del espesor. Engrosamiento epitelial. Heterocromasia Macronucleosis.</p>

	epitelial	Heterocromasi a Macronucleosi s. Mitosis suprabasales. Pleomorfismo moderado. Anisonucleosis Polaridad nuclear alterada.	Mitosis suprabasales y atípicas. Pleomorfismo intenso. Anisonucleosis. Polaridad nuclear alterada.
--	-----------	---	---

Quedando de la siguiente manera:

Criterios histológicos				
Criterio	No hay	Leve o focal	Moderado	Intenso
Anisonucleosis	0	2	3	4
Pleomorfismo nuclear	0	2	3	4
Heterocromasia	0	2	3	4
Mitosis atípicas	0	-	-	4
Multinucleación	0	1	2	3
Mitosis suprabasales	0	1	2	3
Polaridad nuclear alterada	0	1	2	3
Paraqueratosis o queratosis	0	1	2	3
Macronucleosis	0	1	2	3
Células inmaduras	0	1	2	3
Engrosamiento epithelial	0	1	2	3

Posteriormente se analizaron los mismos casos dando un diagnóstico de manera espontánea y se clasificaron de la siguiente forma: Sin lesión, lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (LEIBG), lesión escamosa intraepitelial de alto grado (LEIAG).

Los marcadores inmunohistoquímicos se evaluaron de la siguiente forma; P16: expresión y distribución (focal o esporádico, en banda o difuso). Ki 67: extensión (en base a positividad basal o suprabasal) y porcentaje de acuerdo al índice de células epiteliales positivas con el objetivo de 40x (porcentaje).

Al final de estas tres evaluaciones se sometieron a un análisis estadístico de concordancia mediante el índice kappa, y posteriormente se realizó una prueba con resultado dicotómico para analizar sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo, proporción de falsos positivos, proporción de falsos negativos y exactitud de cada prueba diagnóstica (score y diagnóstico espontáneo) con la prueba de referencia (estudios de inmunohistoquímica).

Resultados

Los resultados en base a diagnóstico por calificación del score se observan en el anexo 1, y a continuación se muestra los resultados del índice kappa

Diagnostico por "score"	Valor de kappa: Obs2-Obs1/ Obs2-Obs3	Valor de p: Obs2-Obs1/ Obs2-Obs3
Anisonucleosis	0.344/0.321	0.0001
Pleomorfismo nuclear	0.532/0.294	0.0001
Heterocromasia	0.330/0.219	0.0001
Mitosis atipicas	0.651/0.651	0.0030
Multinucleacion	0.214/0.133	0.0001/0.065
Mitosis suprabasales	0.560/0.242	0.0001
Polaridad nuclear alterada	0.363/0.029	0.0001
Paraqueratosis o queratosis	0.073/0.338	0.053/0.004
Macronucleosis	0.260/0.157	0.0001/0.30
Celulas inmaduras	0.557/0.274	0.0001
Engrosamiento epitelial	0.110/0.166	0.002
Papilomatosis	0.38/ 0.16	0.135/0.096
Total	0.10/-0.17	>0.05

Fuente: Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos, ISSSTE.

Los resultados en base a diagnóstico espontáneo se observan en el anexo 2 y a continuación se muestra los resultados del índice kappa

Diagnostico espontaneo	Valor de kappa:	Valor de p:
Sin lesion	0.273/0.063	0.013/0.441
Leibg	0.562/0.440	0.0001
Leiag	0.898/0.726	0.0001

Fuente: Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos, ISSSTE.

Los resultados en base a diagnóstico por inmunohistoquímica se observan en el anexo 3 y a continuación se muestra los resultados del índice kappa

KI67	Valor de kappa:	Valor de p:
Negativo	0.227/0.178	0.121/0.229
Basal	0.393/0.285	0.004/0.044
Suprabasal	0.526/0.491	0.0001
0-10%	0.759/0.586	0.0001
11-30%	0.629/0.289	0.0001/0.041
31-100%	0.699/0.266	0.0001/0.23

Fuente: Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos, ISSSTE.

P16	Valor de kappa:	Valor de p:
Positivo	0.767/0.800	0.0001
Negativo	0.767/0.800	0.0001
Focal-negativo	0.767/0.800	0.0001
En banda-difuso	0.767/0.800	0.0001

Fuente: Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos, ISSSTE.

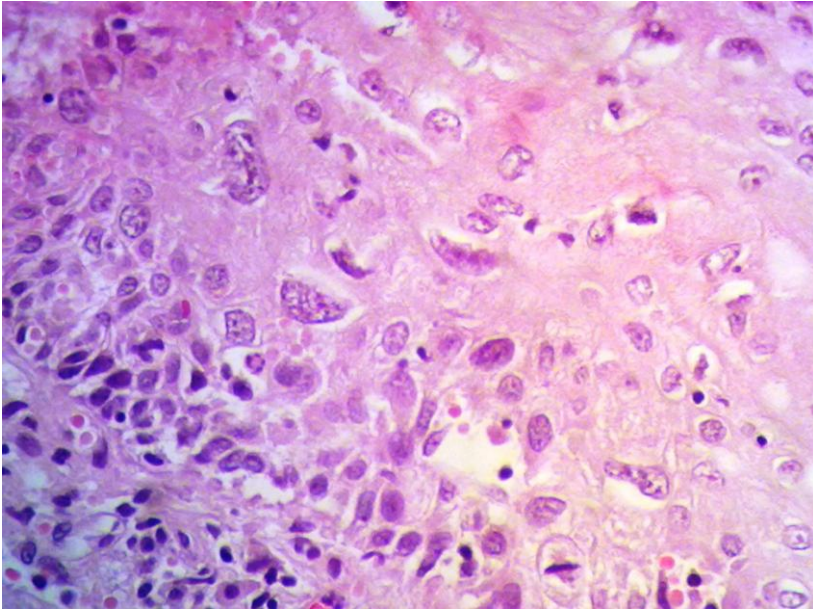
Como se vio en estas tablas la mayor concordancia interobservador se obtuvo en la valoración de inmunohistoquímica para p16, seguida del ki67, después el diagnóstico espontaneo y por último la calificación por score, aunque estadísticamente no hay una buena concordancia porque tendría que tener un resultado cercano a la unidad. Quizás esto se deba al número de muestras y a la experiencia de los observadores.

Los hallazgos morfológicos de los casos con diagnóstico de las lesiones de bajo grado fueron los siguientes:

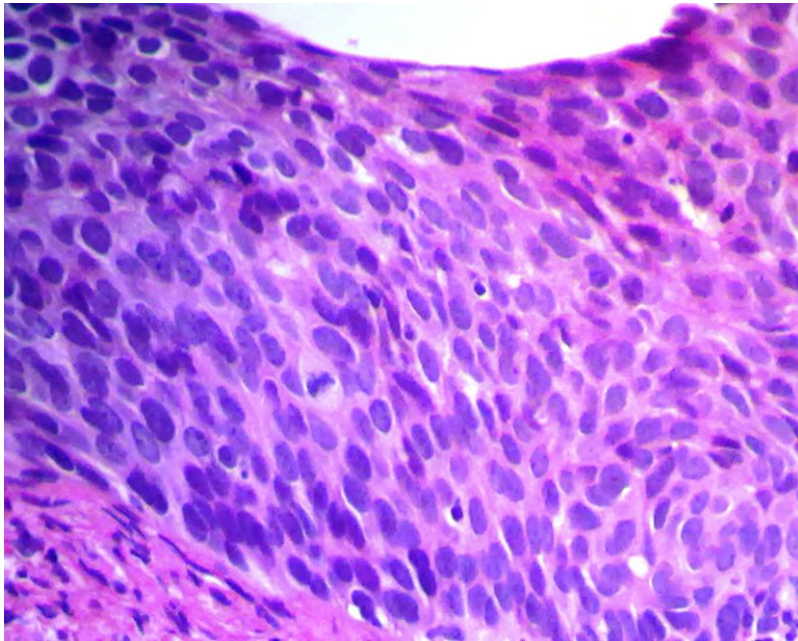
Lesion	Score (rango)	Score (promedio)
LEIBG	9-23	14.65
LEIAG	9-34	23.03

Fuente: Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos, ISSSTE.

Con esta tabla se concluye que no hay diferencia real para el diagnóstico mediante el “score” de lesiones de bajo y alto grado, aunque estas últimas muestran una mayor puntuación; sin embargo este “score” de criterios histológicos si nos sirve para determinar si hay o no lesión.



Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (hematoxilina-eosina)



Lesión escamosa intraepitelial de alto grado (hematoxilina-eosina)

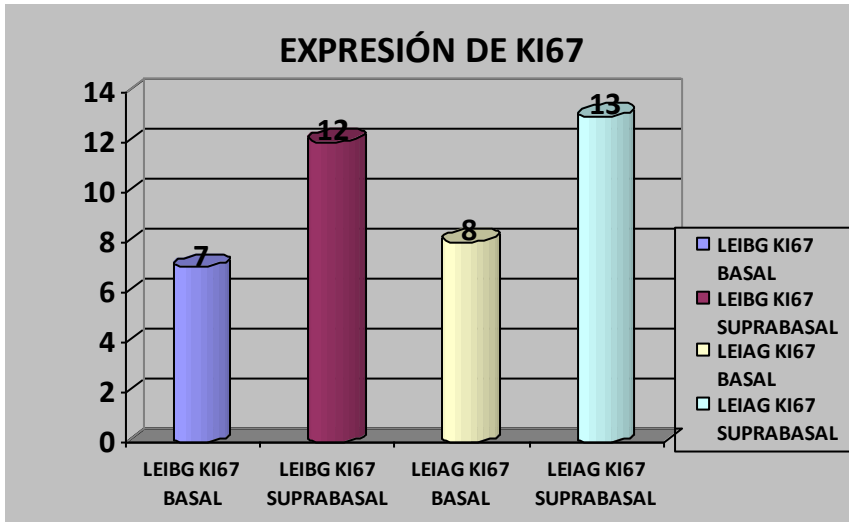
Los resultados de ki67 y p16 para lesiones de bajo y alto grado quedaron como se especifican en las siguientes tablas.

Lesión	Ki67 (rango)	Ki67 (promedio)
LEIBG Ki67 Basal	7(10-30%)	16.42%
LEIBG Ki67 Suprabasal	12(10-60%)	20.41%

Fuente: Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos, ISSSTE.

Lesion	Ki67 (rango)	Ki67 (promedio)
LEIAG ki67 basal	8(10-40%)	18.12%
LEIAG ki67 suprabasal	13(5-40%)	23.84%

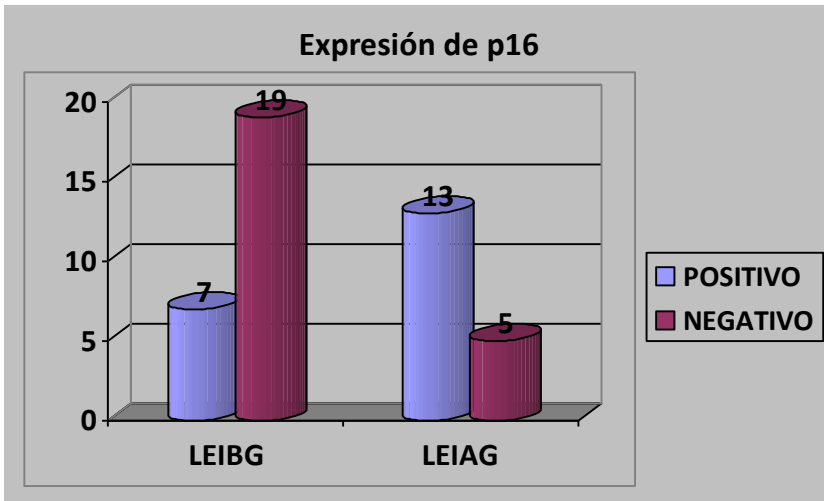
Fuente: Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos, ISSSTE.



Fuente: Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos, ISSSTE.

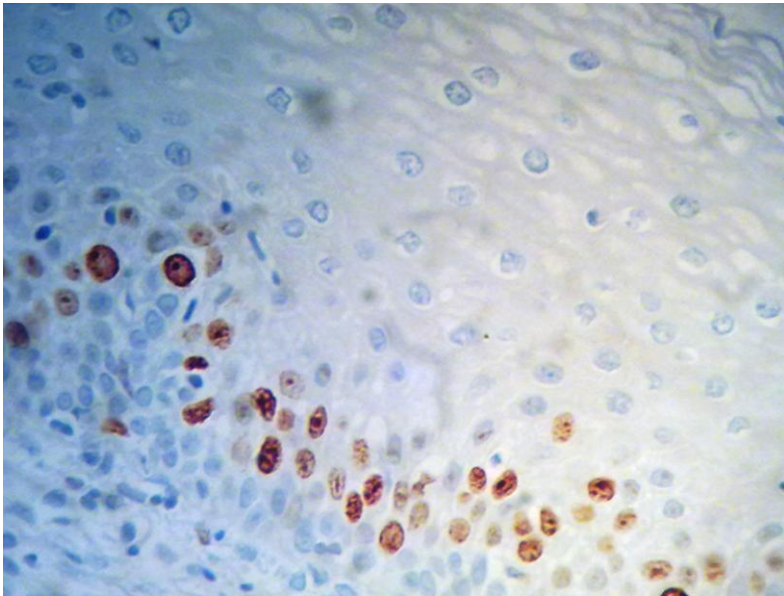
Lesión	P16 (+)	P16(-)
LEIBG	7(35%)	13(65%)
LEIAG	19(79.17%)	5(20.83%)

Fuente: Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos, ISSSTE.

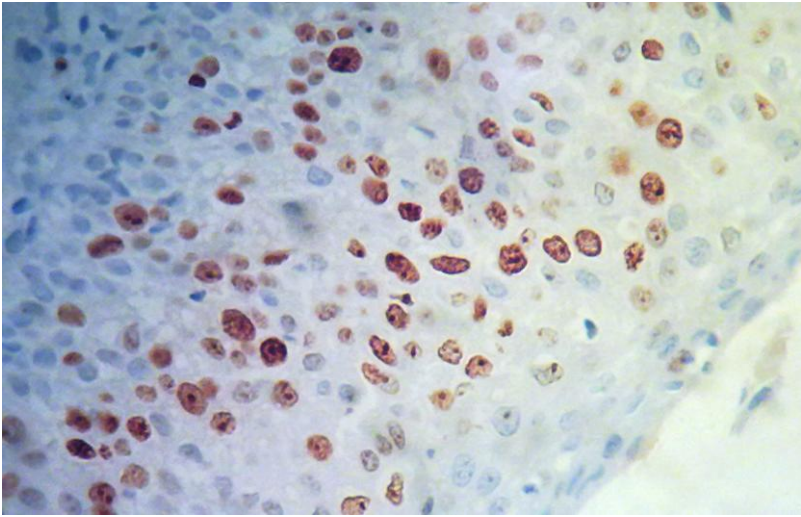


Fuente: Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos, ISSSTE.

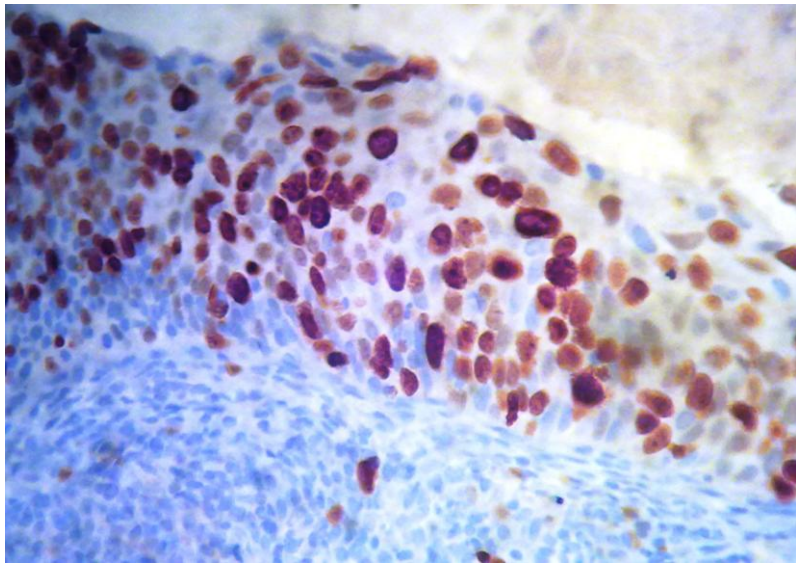
Como vemos si hay una diferencia entre lesiones de bajo y alto grado, ya que estas últimas mostraron una mayor actividad proliferativa en general. Además los resultados de p16 son concordantes con lo reportado en la literatura, ya que puede haber lesiones de bajo grado asociadas con infección por el virus del papiloma de alto riesgo, sin embargo el porcentaje de estas es mucho menor comparado con las de alto grado como lo observamos en nuestros resultados.



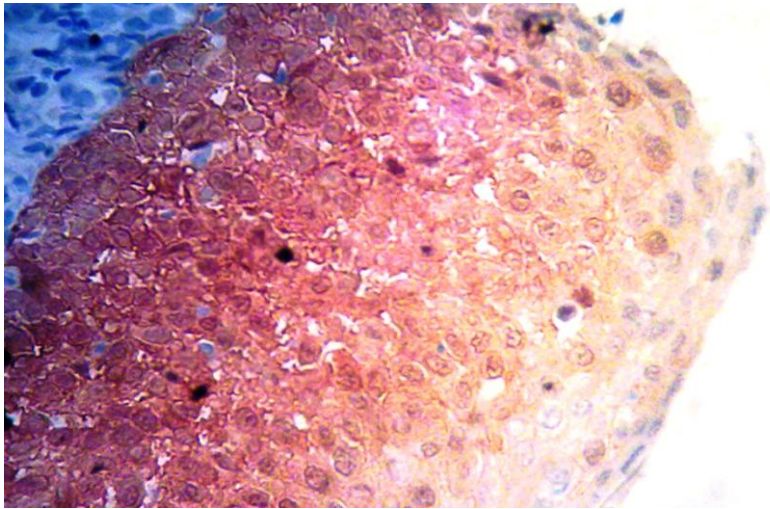
Positividad basal para ki67 en LEIBG



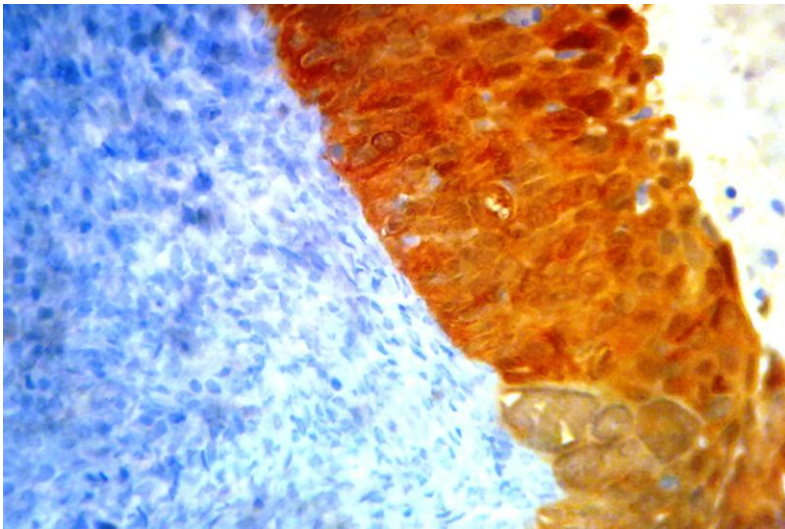
Positividad suprabasal para ki67 en LEIBG



Positividad suprabasal para ki67 en LEIAG



Expresión en banda de p16 en LEIBG (Inmunohistoquímica)



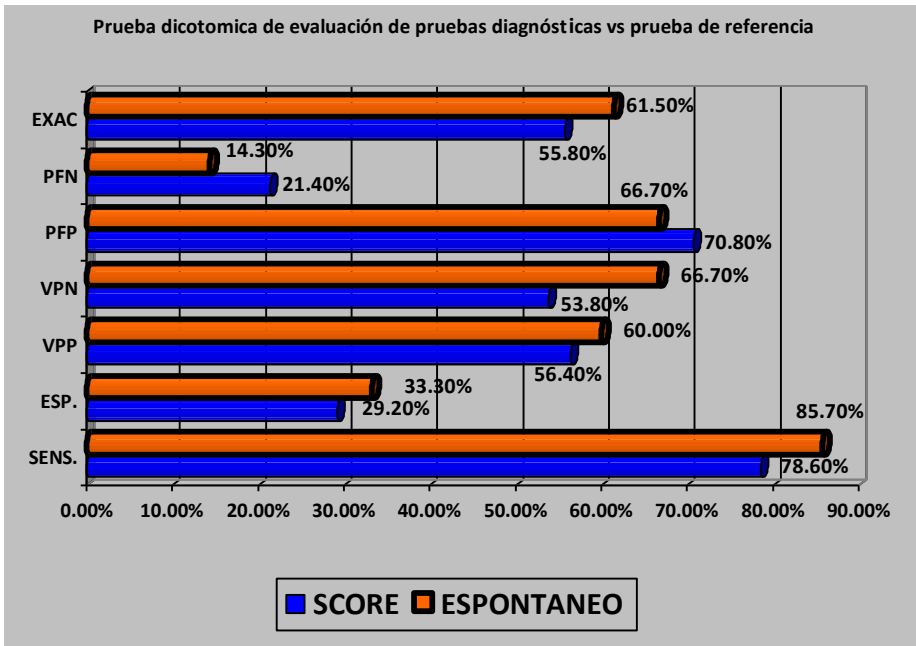
Expresión de forma difusa de p16 en LEIAG (Inmunohistoquímica)

El análisis y comparación de las dos pruebas diagnósticas (“score y espontaneo”) con la prueba de referencia (inmunohistoquímica) fue el siguiente:

	Evaluación por "Score"	IC 95%	Evaluación espontánea	IC 95%
Sensibilidad	78.6%	60.5 a 89.8%	85.7%	68.5 a 94.3%
Especificidad	29.2%	14.9 a 49.2%	33.3%	18.0 a 53.3%
Valor predictivo positivo	56.4%	41.0 a 70.7%	60.0%	44.6 a 73.7%
Valor predictivo negativo	53.8%	29.1 a 76.8%	66.7%	39.1 a 86.2%
Proporción de falsos positivos	70.8%	50.8 a 85.1%	66.7%	46.7 a 82.0%
Proporción de falsos negativos	21.4%	10.2 a 39.5%	14.3%	5.7 a 31.5%
Exactitud	55.8%	42.3 a 68.4%	61.5%	48.0 a 73.5%

Fuente: Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos, ISSSTE.

Los valores fueron similares en las dos pruebas diagnósticas, sin embargo los que se obtuvieron de la evaluación espontánea fueron ligeramente mejores como se observó.



Fuente: Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos, ISSSTE.

Se excluyeron del estudio de inmunohistoquímica para ki67: 2 casos por falta de material, 12 porque después de reevaluarlos se descartó la presencia de lesión y 6 por ser inadecuados o no valorables para la reacción de inmunohistoquímica.

Discusión

En el Hospital Regional “Lic. Adolfo López Mateos, ISSSTE las lesiones escamosas intraepiteliales se presentan con mucha frecuencia, actualmente predominando los casos de LEIBG. Desde la descripción inicial de la implicación del virus del papiloma humano como causante de lesiones de este tipo, a mediados del siglo XIX, y sobre todo desde los últimos 32 años, en los cuales ha cambiado la nomenclatura y criterios histológicos de dichas lesiones existe una elevada confusión diagnóstica y falta de concordancia por diversos especialistas como ginecólogos, oncólogos y patólogos, aunado a la inexperiencia misma de estos, se pueden sobre diagnosticar o subdiagnosticar lo que es de vital importancia para realizar tratamiento adecuado de las pacientes. La búsqueda de criterios histológicos y marcadores inmunohistoquímicos para realizar un diagnóstico adecuado sigue siendo controvertido ya que a pesar de que existen investigaciones aún poco amplias que argumentan la existencia de nuevos marcadores inmunohistoquímicos , no fue posible en este estudio realizar estos estudios debido sobre todo al costo de dichos marcadores, sin embargo los criterios histológicos descritos con anterioridad, y los marcadores p16 y Ki67 utilizados en este estudio muestran una expresión confiable, pero que puede ser variable debido a la conservación del material tisular, técnica y experiencia del patólogo, de forma consistente a lo descrito en la literatura.

El diagnóstico diferencial incluye aquellas lesiones simuladores tales como glucogenización, atrofia, cambios por reparación o por radioterapia, metaplasia escamosa inmadura.

El tratamiento en general depende del tipo de la lesión, es quirúrgico mediante criocirugía, cono cervical amplio e incluso histerectomía, ya que las LEIAG pueden evolucionar a Carcinoma epidermoide del cuello uterino. Se han descrito recidiva sobre todo debido a que las lesiones asociadas con virus del papiloma humano, ya que este puede quedar de forma latente, por lo que se recomienda la vigilancia clínica de estas pacientes.

Conclusiones

Las lesiones escamosas intraepiteliales de bajo y alto grado son lesiones premalignas del cuello uterino que pueden pasar inadvertidas por la falta de pericia, el diagnóstico correcto requiere de la exclusión de otras lesiones simuladoras ya descritas anteriormente y para llevar a cabo un adecuado diagnóstico es necesario una buena correlación de los hallazgos clínicos, citológicos e histopatológicos. El origen infeccioso por el virus del papiloma humano, aunado a la expresión de marcadores inmunohistoquímicos, como los analizados en este estudio, sigue siendo un factor muy importante a considerar, aunque en la presente investigación no se pudieron realizar los diferentes marcadores existentes y tampoco el muestreo fue extenso para hallar una correlación consistente, sobre todo debido a los costos elevados, es vital realizar un exhaustivo análisis de los tejidos con lesiones escamosas intraepiteliales de cuello uterino, para poder apoyar al adecuado y efectivo tratamiento de estas pacientes evitando así recurrencias y/o terapéuticas excesivas.

Bibliografía

Referencias bibliográficas:

- 1.-López-Saavedra, A.; Lizano-Soberón, M. Cáncer cérvicouterino y el virus del papiloma humano: La historia que no termina. *Cancerología* 1:31-55.2006.
www.incan.edu.mx/i/revista/articulos/Articulo2.pdf
- 2.- León Cruz, G., Faxas, M. Cáncer de cuello uterino: aspectos inmunológicos y genéticos de mayor relevancia. *Rev. Cubana Med.* 43; 2004.
bvs.sld.cu/revistas/med/vol43_1_04/med08104.html.
3. - Adam E, Berkova Z, Daxnerova Z; Papillomavirus detection: demographic and behavioral characteristics influencing the identification of cervical disease. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 182: 257-264. 2000. www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10694321
4. - Burk RD, Kelly P, Feldman J; Declining presence of cervicovaginal human papillomavirus infection with age is independent of other risk factors. *Sex. Transm. Dis.* 23: 333-341, 1996 www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8836027
- 5.-Registro histopatológico de neoplasias malignas. Secretaría de Salud de México. 2003.
- 6.-Guida, T.; Salvatore, G.; et al. Mitogenic Effects of the Up-Regulation of Minichromosome Maintenance Proteins in Anaplastic Thyroid Carcinoma. *J. Clin. Endocrinol. & Metabolism.* 90:4703-4709, 2005.
jcem.endojournals.org/cgi/rapidpdf/jc.2004-2459v1.pdf

- 7.-Kalof, A. ; Cooper, K. p16INK4a Immunoexpression: Surrogate Marker of High-risk HPV and High-grade Cervical Intraepithelial Neoplasia. *Adv. Anat Path.* 13(4):190-194, 2006. www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16858153
- 8.-Hernández, S.; Abad, M.; Serrano de Dios, E.; et al. Topoisomerasa II alfa: marcador de proliferación celular. *Sociedad Española de Anatomía Patológica.* 2004. www.seap.es/reuniones/2004/ihq.htm
- 9.- Toro de Méndez, M. Medición inmunohistoquímica de la actividad proliferativa en carcinoma epidermoide de cuello uterino. *CONGANAT.* 2005. www.conganat.org/7congreso/PDF/160.pdf
- 10.-De la Torre Rendón, F. E. Lesión premaligna escamosa del cuello uterino, un enfoque actualizado. *Patología;* 46:332-42, 2008 www.nietoeditores.com.mx/download/patologia/octubre-diciembre2008/Pato46-4-332-42.pdf
- 11.-Heras A., et al. Immunohistochemical expression of p16, MCM2, topo II alpha and MCM2/ topo II alpha in cervical squamous intraepithelial lesions. *BIO SB Inc., Santa Barbara, CA, USA. Hospital CIMA, Chihuahua, México and Hospital Córdoba, Córdoba, Argentina Path Oncol. Res* 2007;13:123-9.
- 12.-Crum, C. F. et al. *Diagnostic Gynecologic and Obstetric Pathology.* Elsevier Saunders. 2006. 287-320.
- 13.- Fu Y.. *Pathology of the Uterine Cervix, Vagina and Vulva.* Saunders. Second edition. 2002. P 272-335.
- 14.- Kurman, R. J.. *Blaustein's Pathology Of The Female Genital Tract.* Springer - verlag new york, inc. 5th Edition. P 253-324.

- 15.- Dallenbach-Hellweg, G. Color Atlas of Histopathology of the Cervix Uteri. Second Edition. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2006. P 82-95.
- 16.- Robboy, S., et al. Pathology of the Female Reproductive Tract. Churchill Livingstone. 2008. P. 189-216.
- 17.- Richart, R.M. Cervical intraepithelial neoplasia. Pathology Annual:1973. Meredith corporation. Vol. 8. P. 301-326.

Anexos

Anexo 1

CRITERIO	9239-09				740-09				1643-C-09				6339-10				5967-10			
	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X
ANISONUCLEOSIS	3	3	3		2	2	2		3	2	3		2	2	2		2	0	2	
PLEOMORFISMO NUCLEAR	3	3	3		0	0	2		3	2	3		2	3	2		0	0	2	
HETEROCROMASIA	3	4	3		0	0	2		3	2	3		2	3	2		0	0	2	
MITOSIS ATÍPICAS	0	4	0		0	0	0		0	0	0		0	0	0		0	0	0	
MULTINUCLEACIÓN	2	2	3		1	1	2		1	2	2		1	2	1		1	0	1	
MITOSIS SUPRABASALES	1	1	3		0	0	1		1	1	1		1	1	1		0	0	0	
POLARIDAD NUCLEAR ALTERADA	2	2	3		1	0	2		2	2	3		1	1	2		0	0	2	
PARAQUERATOSIS O QUERATOSIS	1	0	2		1	0	1		2	2	3		2	0	0		1	0	1	
MACRONUCLEOSIS	2	2	2		1	1	1		2	3	2		1	3	1		1	0	1	
CÉLULAS INMADURAS	1	1	2		0	0	1		2	3	2		1	1	1		0	0	1	
ENGROSAMIENTO EPITHELIAL	2	1	2		2	1	2		2	1	3		2	1	2		0	0	0	
PAPILOMATOSIS	1	0	1		0	0	2		1	0	3		1	0	2		0	0	1	
SUMA	21	23	27		8	5	18		22	20	28		16	17	16		5	0	13	

CRITERIO	6189-10				4426-09				7677-09				3701-09				2899-10			
	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X
ANISONUCLEOSIS	3	4	4		4	4	4		4	3	3		3	4	3		0	0	2	
PLEOMORFISMO NUCLEAR	4	4	4		4	4	4		3	3	3		3	3	3		0	0	2	
HETEROCROMASIA	3	4	4		4	4	4		3	3	3		3	3	3		0	0	2	
MITOSIS ATÍPICAS	0	0	0		0	0	0		0	0	0		0	0	0		0	0	0	
MULTINUCLEACIÓN	1	2	1		0	0	1		0	0	1		2	1	1		1	0	1	
MITOSIS SUPRABASALES	1	1	2		2	3	2		1	1	2		1	0	0		0	0	1	
POLARIDAD NUCLEAR ALTERADA	3	3	3		3	3	3		3	3	3		2	3	3		1	0	2	
PARAQUERATOSIS O QUERATOSIS	2	1	1		1	0	3		1	0	0		1	0	1		2	0	0	
MACRONUCLEOSIS	3	3	3		3	3	3		1	2	2		2	3	2		1	0	1	
CÉLULAS INMADURAS	2	2	2		3	3	3		3	3	3		3	2	3		1	0	1	
ENGROSAMIENTO EPITHELIAL	3	1	3		1	0	3		2	0	2		1	0	2		2	3	3	
PAPILOMATOSIS	2	1	3		1	0	2		1	0	1		1	0	1		2	0	3	
SUMA	27	26	30		26	24	32		22	18	23		22	19	22		10	3	18	

CRITERIO	2140-10				3646-09				2554-09				1643-EC-09				8186-10			
	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X
ANISONUCLEOSIS	2	3	2		2	2	2		2	2	2		2	I	2		3	4	4	
PLEOMORFISMO NUCLEAR	2	2	2		2	2	2		2	2	2		0	N	2		3	4	4	

HETEROCROMASIA	2	2	2		2	0	2		2	0	2		2	S	2		3	4	4	
MITOSIS ATÍPICAS	0	0	0		0	0	0		0	0	0		0	U	0		4	4	4	
MULTINUCLEACIÓN	2	3	3		1	0	2		1	2	0		1	F	2		1	2	2	
MITOSIS SUPRABASALES	0	0	1		0	0	1		0	0	0		0	I	1		2	3	3	
POLARIDAD NUCLEAR ALTERADA	1	1	3		1	1	3		1	1	3		1	C	2		2	3	3	
PARAQUERATOSIS O QUERATOSIS	2	2	2		1	1	2		2	1	0		1	I	3		1	2	0	
MACRONUCLEOSIS	1	2	2		2	3	1		2	2	2		1	E	1		3	3	2	
CÉLULAS INMADURAS	1	0	1		0	1	1		0	0	1		1	N	1		3	3	3	
ENGROSAMIENTO EPITHELIAL	2	2	3		2	1	2		2	3	2		1	T	3		3	2	3	
PAPILOMATOSIS	1	0	3		1	0	1		0	0	0		2	E	3		3	0	3	
SUMA	16	17	23		11	11	19		14	13	14		11	-	22		31	34	32	

CRITERIO	6197-09				7447-08				1915-11				3932-11				3035-C2-10			
	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X
ANISONUCLEOSIS	0	0	0		2	0	3		4	4	4		4	4	4		2	2	2	
PLEOMORFISMO NUCLEAR	3	2	4		2	2	3		4	4	4		4	4	4		2	0	2	
HETEROCROMASIA	3	2	4		2	2	3		4	4	4		4	4	4		0	0	2	
MITOSIS ATÍPICAS	0	0	0		0	0	0		0	0	0		0	0	0		0	0	0	
MULTINUCLEACIÓN	1	0	0		0	0	1		1	1	1		2	1	1		0	0	0	
MITOSIS SUPRABASALES	2	2	1		1	0	1		2	2	3		1	1	2		1	0	1	

POLARIDAD NUCLEAR ALTERADA	2	3	3		2	0	3		2	3	3		3	3	3		1	0	2	
PARAQUERATOSIS O QUERATOSIS	0	0	3		2	1	2		2	1	3		0	0	0		1	2	2	
MACRONUCLEOSIS	1	1	3		1	1	2		2	3	2		2	2	2		1	0	1	
CÉLULAS INMADURAS	3	3	3		2	1	3		3	3	3		3	3	3		1	1	1	
ENGROSAMIENTO EPITHELIAL	2	0	2		2	2	2		2	2	3		1	0	3		1	0	2	
PAPILOMATOSIS	2	0	3		1	0	2		1	0	3		0	0	0		0	0	1	
SUMA	19	13	26		17	9	25		27	27	33		24	22	26		10	5	17	

	2349-11				1129-06				2003-06				7436-09				4600-07			
CRITERIO	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X
ANISONUCLEOSIS	2	2	2		3	3	4		3	4	3		3	4	4		3	3	3	
PLEOMORFISMO NUCLEAR	2	2	2		3	3	4		4	4	3		3	4	4		3	3	3	
HETEROCROMASIA	2	0	2		3	3	4		3	4	3		3	4	4		3	4	3	
MITOSIS ATÍPICAS	0	0	0		0	0	0		4	4	4		0	0	0		0	0	0	
MULTINUCLEACIÓN	2	2	2		1	2	3		1	3	1		1	2	1		2	2	1	
MITOSIS SUPRABASALES	1	1	2		2	3	3		2	3	2		2	3	2		1	2	1	
POLARIDAD NUCLEAR ALTERADA	2	1	3		2	3	3		2	3	3		3	3	3		2	3	3	
PARAQUERATOSIS O QUERATOSIS	1	0	2		1	1	3		2	1	2		1	0	2		1	0	2	
MACRONUCLEOSIS	2	2	2		2	2	3		2	3	2		1	3	2		2	2	2	

CÉLULAS INMADURAS	1	1	1		3	3	3		3	2	2		3	3	3		0	3	3	
ENGROSAMIENTO EPITHELIAL	2	2	2		2	2	3		2	2	3		2	3	3		1	0	3	
PAPILOMATOSIS	0	0	1		1	0	2		1	0	3		2	0	3		0	0	3	
SUMA	18	13	21		23	25	35		29	33	31		24	29	31		18	22	27	

CRITERIO	3173-06				135-08				9274-07				6034-07				7371-07			
	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X
ANISONUCLEOSIS	2	3	2		2	2	2		2	2	2		2	0	2		3	4	3	
PLEOMORFISMO NUCLEAR	2	3	2		2	0	2		2	2	2		0	0	2		3	4	3	
HETEROCROMASIA	2	3	2		2	0	2		2	0	2		2	2	2		3	4	3	
MITOSIS ATÍPICAS	0	0	0		0	0	0		0	0	0		0	0	0		0	4	0	
MULTINUCLEACIÓN	2	3	2		0	0	0		1	0	1		0	0	0		2	3	0	
MITOSIS SUPRABASALES	0	0	1		0	0	0		1	1	1		0	0	0		2	2	1	
POLARIDAD NUCLEAR ALTERADA	2	2	2		2	0	2		2	2	3		2	1	3		3	3	3	
PARAQUERATOSIS O QUERATOSIS	1	0	1		0	0	0		1	1	1		1	0	0		2	2	2	
MACRONUCLEOSIS	1	2	2		1	1	1		1	0	1		0	0	2		2	3	2	
CÉLULAS INMADURAS	1	0	1		0	0	1		2	3	1		1	1	1		2	3	2	
ENGROSAMIENTO EPITHELIAL	3	3	3		2	1	2		1	0	2		1	0	0		1	0	3	
PAPILOMATOSIS	2	1	3		0	0	0		1	0	1		0	0	0		0	0	1	
SUMA	18	20	21		11	4	12		16	11	17		9	4	12		23	32	23	

CRITERIO	686-C1-08				3736-08				2643-08				2540-08				4035-08			
	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X
ANISONUCLEOSIS	2	3	2		2	2	2		2	0	3		2	2	2		2	2	2	
PLEOMORFISMO NUCLEAR	2	3	2		2	2	2		2	2	3		2	2	2		2	2	2	
HETEROCROMASIA	2	3	2		2	2	2		2	0	3		2	2	2		2	2	2	
MITOSIS ATÍPICAS	0	0	0		0	0	0		0	0	0		0	0	0		0	0	0	
MULTINUCLEACIÓN	2	3	2		1	2	0		1	1	0		1	3	2		1	0	1	
MITOSIS SUPRABASALES	0	0	0		0	0	0		0	0	1		0	0	0		0	0	0	
POLARIDAD NUCLEAR ALTERADA	2	2	3		2	2	2		1	2	3		2	2	3		1	1	2	
PARAQUERATOSIS O QUERATOSIS	1	1	1		0	0	0		2	1	2		2	1	2		2	1	1	
MACRONUCLEOSIS	1	2	1		1	2	1		1	1	3		1	2	2		1	1	1	
CÉLULAS INMADURAS	2	2	2		0	0	1		2	2	2		1	1	1		0	0	1	
ENGROSAMIENTO EPITHELIAL	2	2	2		1	2	2		1	2	2		2	2	3		2	1	2	
PAPILOMATOSIS	1	1	2		1	0	2		0	0	0		1	0	2		0	0	1	
SUMA	17	22	19		12	14	14		14	11	22		16	17	21		13	10	15	

CRITERIO	3746-08				6545-08				6033-08				5694-08				7198-08			
	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X
ANISONUCLEOSIS	2	2	2		3	2	4		0	0	2		3	4	3		2	4	3	
PLEOMORFISMO NUCLEAR	2	2	2		3	2	4		0	0	2		3	4	3		2	2	3	

HETEROCROMASIA	2	2	2		3	3	4		0	0	2		2	4	3		2	0	3	
MITOSIS ATÍPICAS	0	0	0		0	0	0		0	0	0		0	0	0		0	0	0	
MULTINUCLEACIÓN	1	0	0		1	3	1		1	0	1		0	0	0		0	2	0	
MITOSIS SUPRABASALES	0	0	0		1	0	1		1	0	1		2	3	2		0	0	1	
POLARIDAD NUCLEAR ALTERADA	1	1	2		2	2	3		1	0	2		2	2	3		1	1	2	
PARAQUERATOSIS O QUERATOSIS	2	1	1		1	0	2		1	1	1		1	1	1		1	2	1	
MACRONUCLEOSIS	1	1	1		1	2	2		1	0	1		1	1	2		1	2	1	
CÉLULAS INMADURAS	0	0	0		2	2	3		1	0	1		1	2	1		0	0	1	
ENGROSAMIENTO EPITHELIAL	2	0	2		1	0	1		3	3	3		1	0	1		1	0	0	
PAPILOMATOSIS	0	0	0		0	0	1		2	0	3		1	0	1		0	0	0	
SUMA	13	9	12		18	16	26		11	4	16		17	21	20		10	13	15	

	7196-08				7749-08				2337-08				1373-08				7547-10			
CRITERIO	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X
ANISONUCLEOSIS	2	3	2		2	2	3		2	0	2		3	3	3		3	3	2	
PLEOMORFISMO NUCLEAR	2	2	2		3	2	3		2	0	2		3	2	3		3	3	2	
HETEROCROMASIA	2	2	2		3	2	3		0	0	2		3	3	3		3	2	2	
MITOSIS ATÍPICAS	0	0	0		0	0	0		0	0	0		0	0	1		0	0	0	
MULTINUCLEACIÓN	1	2	2		1	0	1		2	1	0		1	1	2		2	3	3	
MITOSIS SUPRABASALES	0	0	0		0	0	3		0	0	0		0	0	1		2	2	2	

POLARIDAD NUCLEAR ALTERADA	1	2	2		2	3	3		1	1	3		1	2	3		2	1	2	
PARAQUERATOSIS O QUERATOSIS	2	0	2		2	2	2		0	1	1		1	1	2		1	2	2	
MACRONUCLEOSIS	1	1	1		2	2	1		1	1	1		1	2	2		2	3	2	
CÉLULAS INMADURAS	0	0	1		2	3	3		1	1	1		1	1	2		1	0	1	
ENGROSAMIENTO EPITHELIAL	2	0	2		2	1	2		1	0	1		1	1	2		1	1	2	
PAPILOMATOSIS	1	0	2		0	0	2		0	0	0		0	0	1		2	0	3	
SUMA	14	12	18		19	17	26		10	5	13		15	16	25		22	20	23	

	2499-11				1918-11				1512-11				686-C2-08				2112-11			
CRITERIO	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X
ANISONUCLEOSIS	3	4	3		3	3	3		2	2	2		2	2	2		3	3	3	
PLEOMORFISMO NUCLEAR	3	3	3		3	3	3		2	2	2		2	2	2		3	3	3	
HETEROCROMASIA	3	4	3		3	3	3		2	2	2		2	2	2		3	3	3	
MITOSIS ATÍPICAS	0	0	0		0	0	0		0	0	0		0	0	0		0	0	0	
MULTINUCLEACIÓN	2	2	0		2	2	2		1	1	0		1	1	1		0	0	1	
MITOSIS SUPRABASALES	2	2	2		2	3	2		0	0	0		0	0	0		0	0	0	
POLARIDAD NUCLEAR ALTERADA	2	2	3		2	2	3		2	1	2		1	1	3		3	2	3	
PARAQUERATOSIS O QUERATOSIS	1	1	0		1	1	1		1	1	0		0	1	1		0	0	0	
MACRONUCLEOSIS	2	3	2		2	2	2		1	1	1		1	2	1		3	2	3	

CÉLULAS INMADURAS	2	2	1		2	2	2		1	1	1		1	1	1		2	2	2	
ENGROSAMIENTO EPITHELIAL	1	0	1		1	1	1		0	0	0		1	1	2		0	0	0	
PAPILOMATOSIS	0	0	0		1	0	1		0	0	0		1	2	2		0	0	0	
SUMA	21	23	18		22	22	23		12	11	10		12	13	17		17	15	18	

CRITERIO	819-10				663-10				6138-10				482-10				8236-10			
	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X
ANISONUCLEOSIS	2	3	3		3	3	3		3	2	4		3	4	3		2	2	2	
PLEOMORFISMO NUCLEAR	2	3	3		3	3	3		4	2	4		3	3	3		2	2	2	
HETEROCROMASIA	3	3	3		3	4	3		4	2	4		3	4	3		2	2	2	
MITOSIS ATÍPICAS	0	0	0		0	0	0		0	0	0		0	0	0		0	0	0	
MULTINUCLEACIÓN	3	3	3		2	3	2		0	0	0		0	3	0		1	0	1	
MITOSIS SUPRABASALES	0	0	1		2	3	3		1	0	0		2	3	2		0	0	0	
POLARIDAD NUCLEAR ALTERADA	2	2	3		2	3	3		2	2	3		2	3	1		1	1	2	
PARAQUERATOSIS O QUERATOSIS	2	1	1		2	1	1		0	0	0		2	0	0		0	0	0	
MACRONUCLEOSIS	2	3	2		1	2	3		1	0	2		1	3	1		1	1	1	
CÉLULAS INMADURAS	0	0	2		2	2	1		2	1	3		2	3	1		1	0	1	
ENGROSAMIENTO EPITHELIAL	0	0	1		1	1	2		1	0	0		3	0	3		2	1	1	
PAPILOMATOSIS	1	0	1		0	0	3		0	0	0		2	0	3		1	0	1	
SUMA	17	18	23		21	25	27		18	9	20		23	26	20		13	9	13	

CRITERIO	6341-10				3100-10				2213-10				7646-10				942-10			
	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X	ob1	ob2	ob3	X
ANISONUCLEOSIS	2	2	2		1	0	1		1	2	3		2	2	3		3	4	3	
PLEOMORFISMO NUCLEAR	2	2	2		1	0	1		0	0	3		2	0	3		3	4	3	
HETEROCROMASIA	2	2	2		1	0	1		2	0	3		2	2	3		3	3	3	
MITOSIS ATÍPICAS	0	0	0		0	0	0		0	0	0		0	0	0		0	0	0	
MULTINUCLEACIÓN	0	0	1		1	1	0		1	1	1		1	3	1		2	3	3	
MITOSIS SUPRABASALES	1	0	1		0	0	0		0	0	1		0	0	2		1	1	1	
POLARIDAD NUCLEAR ALTERADA	1	1	2		1	1	2		1	2	3		1	1	2		1	2	3	
PARAQUERATOSIS O QUERATOSIS	1	0	0		2	2	2		2	0	2		2	1	1		2	1	2	
MACRONUCLEOSIS	1	1	0		1	0	1		0	0	0		1	0	1		1	0	2	
CÉLULAS INMADURAS	0	0	1		1	0	1		2	2	3		1	1	1		0	0	2	
ENGROSAMIENTO EPITHELIAL	0	0	0		1	0	1		2	0	2		1	2	2		2	3	3	
PAPILOMATOSIS	0	0	0		1	0	1		2	0	3		2	0	1		1	0	3	
SUMA	10	8	11		11	4	11		13	7	24		15	12	20		19	21	26	

Anexo 2

DIAGNÓSTICO DE FORMA ESPONTANEA

No. Quirúrgico	Observador 1	Observador 2	Observador 3
9239-09	LEIBG	LEIBG	LEIAG
740-09	LEIBG	SIN LESIÓN	LEIBG
1643-C-09	LEIAG	LEIAG	LEIAG
6339-10	LEIBG	LEIBG	LEIBG
5967-10	SIN LESION	SIN LESIÓN	LEIBG
6189-10	LEIAG	LEIAG	LEIAG
4426-09	LEIAG	LEIAG	LEIAG
7677-09	LEIAG	LEIAG	LEIAG
3701-09	LEIAG	LEIAG	LEIAG
2899-10	SIN LESION	SIN LESIÓN	LEIBG
2140-10	LEIBG	LEIBG	LEIBG
3646-09	LEIBG	LEIBG	LEIBG
2554-09	LEIBG	LEIBG	LEIBG
1643-EC-09	LEIBG	INSUFICIENTE	LEIBG
8186-10	LEIAG	LEIAG	LEIAG
6197-09	LEIAG	LEIAG	LEIAG
7447-08	LEIAG	SIN LESION	LEIAG
1915-11	LEIAG	LEIAG	LEIAG
3932-11	LEIAG	LEIAG	LEIAG
3035-C2-10	LEIBG	ATIPIA LIMITROFE	LEIBG
2349-11	LEIBG	LEIBG	LEIBG

1129-06	LEIAG	LEIAG	LEIAG
2003-06	LEIAG	LEIAG	LEIAG
7436-09	LEIAG	LEIAG	LEIAG
4600-07	LEIAG/LEIBG	LEIAG/LEIBG	LEIAG
3173-06	LEIBG	LEIBG	LEIBG
135-08	LEIBG	ATIPIA LIMITROFE	LEIBG
9274-07	LEIBG/LEIAG	LEIAG	LEIBG
6034-07	LEIBG	SIN LESION	LEIBG
7371-07	LEIAG	LEIAG	LEIAG
686-C1-08	LEIBG	LEIBG/LEIAG	LEIBG
3736-08	LEIBG	LEIBG	LEIBG
2643-08	LEIBG	ATIPIA LIMITROFE	LEIAG
2540-08	LEIBG	LEIBG	LEIBG
4035-08	LEIBG	LEIBG	LEIBG
3746-08	LEIBG	LEIBG	SIN LESIÓN
6545-08	LEIAG	LEIAG	LEIAG
6033-08	LEIBG	SIN LESIÓN	LEIBG
5694-08	LEIAG	LEIAG	LEIBG
7198-08	LEIBG	LEIBG	LEIBG
7196-08	LEIBG	LEIBG	LEIBG
7749-08	LEIAG	LEIAG	LEIAG
2337-08	LEIBG	SIN LESION	LEIBG
1373-08	LEIAG	LEIAG	LEIAG
7547-10	LEIAG	LEIBG	LEIBG

2499-11	LEIAG	LEIAG	LEIAG
1918-11	LEIAG	LEIAG	LEIAG
1512-11	LEIBG	LEIBG	SIN LESION
686-C2-08	LEIBG	LEIBG	LEIBG
2112-11	LEIAG	LEIAG	LEIBG
819-10	LEIAG	LEIBG	LEIAG
663-10	LEIAG	LEIAG	LEIAG
6138-10	LEIAG	LEIAG	LEIAG
482-10	LEIAG	LEIAG	LEIBG
8236-10	LEIBG	LEIBG	LEIBG
6341-10	LEIBG	ATIPIA LIMITROFE	LEIBG
3100-10	SIN LESIÓN	SIN LESION	SIN LESION
2213-10	LEIBG	SIN LESION	LEIAG
7646-10	LEIBG	LEIBG	LEIBG
942-10	LEIBG	LEIBG	LEIBG

LEIBG (Lesion escamosa intraepitelial de bajo grado); LEIAG (Lesion escamosa intraepitelial de alto grado)

Anexo 3

DIAGNOSTICO INMUNOHISTOQUIMICO KI 67

No. quirúrgico	Distribución			Porcentaje de células positivas		
	Observador 1	Observador 2	Observador 3	Observador 1	Observador 2	Observador 3
9239-09	Suprabasal	Basal	Suprabasal	30	25	30
740-09	Basal	Basal	Basal	10	<10	10
1643-C-09	Basal	Inadecuado	Basal	<10	Inadecuado	5
6339-10	Basal	Basal	Basal	10	10	20
5967-10	Basal	Basal	Basal	10	5	20
6189-10	Suprabasal	Basal	Suprabasal	10	10	20
4426-09	Basal	Basal	Basal	10	15	10
7677-09	Suprabasal	Suprabasal	Suprabasal	40	40	70
3701-09	Suprabasal	Suprabasal	Suprabasal	50	40	60
2899-10	Basal	--	Basal	<5	--	1
2140-10	Suprabasal	Suprabasal	Suprabasal	40	20	40
3646-09	Suprabasal	Suprabasal	Suprabasal	25	30	40
2554-09	Suprabasal	Suprabasal	Suprabasal	15	15	10
1643-EC-09	Suprabasal	Suprabasal	Basal	15	20	5
8186-10	Suprabasal	Suprabasal	Suprabasal	60	60	70
6197-09	Suprabasal	Suprabasal	Suprabasal	30	30	40
7447-08	Suprabasal	Suprabasal	Suprabasal	30	30	30
1915-11	Suprabasal	Suprabasal	Suprabasal	30	25	40
3932-11	Suprabasal	Suprabasal	Suprabasal	30	40	70

3035-C2-10	Basal	Basal	Basal	10	<10	5
2349-11	Suprabasal	Suprabasal	Suprabasal	20	20	30
1129-06	Suprabasal	Suprabasal	Suprabasal	40	20	40
2003-06	Suprabasal	Suprabasal	Suprabasal	30	25	40
7436-09	Sin laminilla	Sin laminilla	Sin laminilla	Sin laminilla	Sin laminilla	Sin laminilla
4600-07	Negativo	Inadecuado	Negativo	0	--	5
3173-06	Suprabasal	Basal	Suprabasal	20	30	40
135-08	Basal	Basal	Basal	10	<10	5
9274-07	Basal	Basal	Basal	10	10	10
6034-07	Basal	No valorable	Basal	<5	--	1
7371-07	Suprabasal	Suprabasal	Suprabasal	10	5	10
686-C1-08	Suprabasal	Basal	Suprabasal	10	20	30
3736-08	Basal	Basal	Basal	10	10	10
2643-08	Suprabasal	Basal	Subrabasal	15	15	15
2540-08	Suprabasal	Basal	Suprabasal	10	<10	50
4035-08	Basal	No valorable	Basal	1	--	5
3746-08	Suprabasal	Suprabasal	Suprabasal	10	10	30
6545-08	Basal	Basal	Basal	10	15	15
6033-08	Suprabasal	No valorable	Suprabasal	10	--	40
5694-08	Suprabasal	Suprabasal	Basal	10	<10	5
7198-08	Suprabasal	Suprabasal	Suprabasal	15	25	30
7196-08	Basal	Basal	Suprabasal	10	10	40
7749-08	Suprabasal	Basal	Suprabasal	15	20	30
2337-08	Basal	Basal	Basal	<10	<10	5

1373-08	Suprabasal	Basal	Suprabasal	40	25	30
7547-10	Suprabasal	Suprabasal	Suprabasal	40	60	30
2499-11	Suprabasal	Suprabasal	Subrabasal	15	15	30
1918-11	Suprabasal	Basal	Suprabasal	10	<10	10
1512-11	Suprabasal	Suprabasal	Suprabasal	15	20	40
686-C2-08	Suprabasal	Basal	Suprabasal	15	20	40
2112-11	Suprabasal	Suprabasal	Suprabasal	30	25	40
819-10	Suprabasal	Suprabasal	Suprabasal	15	10	15
663-10	Suprabasal	Suprabasal	Suprabasal	10	10	10
6138-10	Suprabasal	No valorable	Suprabasal	10	--	40
482-10	Basal	Basal	Negativo	5	10	10
8236-10	Suprabasal	Suprabasal	Suprabasal	10	20	15
6341-10	Suprabasal	Basal	Basal	10	10	10
3100-10	Basal	Suprabasal	Basal	5	10	5
2213-10	Basal	Suprabasal	Basal	5	10	10
7646-10	Suprabasal	Suprabasal	Suprabasal	10	20	20
942-10	Sin laminilla	Sin laminilla	Sin laminilla	Sin laminilla	Sin laminilla	Sin laminilla

Nota Se dividieron para su evaluación en tres grupos en cuanto a porcentaje; de 0 a 10% de células positivas, de 11 a 30% de células positivas y de 31 a 100 % de células positivas.

DIAGNOSTICO INMUNOHISTOQUIMICO P16

No. quirúrgico	Expresión			Distribución		
	Observador 1	Observador 2	Observador 3	Observador 1	Observador 2	Observador 3

9239-09	Positivo	Positivo	Positivo	En banda	En banda	En banda
740-09	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
1643-C-09	Positivo	Positivo	Positivo	En banda	En banda	En banda
6339-10	Negativo	Negativo	Negativo	----	----	-----
5967-10	Negativo	Negativo	Negativo	----	---	-----
6189-10	Positivo	Positivo	Positivo	En banda	En banda	En banda
4426-09	Positivo	Positivo	Positivo	Difuso	Difuso	Difuso
7677-09	Positivo	Positivo	Positivo	Difuso	Difuso	Difuso
3701-09	Positivo	Positivo	Positivo	Difuso	Difuso	Difuso
2899-10	Negativo	Negativo	Negativo	----	No valorable	-----
2140-10	Positivo	Negativo	Positivo	En banda	---	Difuso
3646-09	Positivo	Positivo	Positivo	Difuso	Difuso	Difuso
2554-09	Negativo	Negativo	Negativo	Esporádico	Esporádico	Esporádico
1643-EC-09	Positivo	Positivo	Positivo	En banda	En banda	En banda
8186-10	Positivo	Positivo	Positivo	Difuso	Difuso	Difuso
6197-09	Positivo	Positivo	Positivo	Difuso	Difuso	Difuso
7447-08	Positivo	Positivo	Positivo	En banda	Difuso	En banda
1915-11	Positivo	Positivo	Positivo	En banda	Difuso	En banda
3932-11	Positivo	Positivo	Positivo	En banda	Difuso	En banda
3035-C2-10	Negativo	Negativo	Negativo	----	----	-----
2349-11	Positivo	Negativo	Positivo	En banda	Focal	En banda
1129-06	Positivo	Positivo	Positivo	En banda	Difuso	En banda
2003-06	Positivo	Positivo	Positivo	En banda	En banda	En banda
7436-09	Positivo	Positivo	Positivo	Difuso	Difuso	Difuso

4600-07	Negativo	Inadecuado	Negativo	----	-----	-----
3173-06	Negativo	Negativo	Negativo	----	-----	Esporádico
135-08	Negativo	Negativo	Negativo	----	-----	-----
9274-07	Negativo	Negativo	Negativo	----	-----	-----
6034-07	Positivo	Negativo	Positivo	En banda	-----	En banda
7371-07	Positivo	Positivo	Positivo	Difuso	Difuso	Difuso
686-C1-08	Negativo	Positivo	Negativo	----	Dudoso	-----
3736-08	Negativo	Negativo	Negativo	----	-----	-----
2643-08	Negativo	Negativo	Negativo	Esporádico	-----	Esporádico
2540-08	Negativo	Negativo	Negativo	----	-----	-----
4035-08	Negativo	Negativo	Negativo	----	-----	-----
3746-08	Negativo	Negativo	Negativo	----	-----	-----
6545-08	Negativo	Negativo	Negativo	----	-----	-----
6033-08	Negativo	Negativo	Negativo	----	-----	-----
5694-08	Negativo	Negativo	Negativo	-----	-----	-----
7198-08	Positivo	Positivo	Positivo	En banda	En banda	En banda
7196-08	Negativo	Negativo	Negativo	----	-----	-----
7749-08	Positivo	Positivo	Positivo	En banda	En banda	En banda
2337-08	Negativo	Negativo	Negativo	----	-----	-----
1373-08	Positivo	Positivo	Positivo	En banda	En banda	En banda
7547-10	Positivo	Positivo	Positivo	En banda	Difuso	En banda
2499-11	Positivo	Positivo	Positivo	Difuso	Difuso	Difuso
1918-11	Positivo	Negativo	Negativo	En banda	-----	-----
1512-11	Negativo	Negativo	Negativo	----	-----	-----

686-C2-08	Positivo	Positivo	Positivo	En banda	En Banda	En banda
2112-11	Positivo	Positivo	Positivo	En banda	En banda	En banda
819-10	Positivo	Negativo	Positivo	En banda	-----	En banda
663-10	Positivo	Positivo	Positivo	Difuso	Difuso	Difuso
6138-10	Negativo	Positivo	Negativo	Esporádico	En banda	-----
482-10	Negativo	Negativo	Negativo	----	-----	----
8236-10	Positivo	Positivo	Positivo	En banda	En banda	Difuso
6341-10	Negativo	Negativo	Negativo	----	-----	-----
3100-10	Negativo	Negativo	Negativo	----	-----	-----
2213-10	Negativo	Negativo	Negativo	----	-----	-----
7646-10	Negativo	Negativo	Negativo	----	Focal	-----
942-10	Positivo	Positivo	Positivo	Difuso	En Banda	En banda

Nota: La positividad se evalúa con distribución en banda o difusa y la negatividad como focal, esporádico o que no hay expresión.