



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA

CURSO DE ESPECIALIDAD EN GINECOLOGÍA ONCOLÓGICA

**Asociación del P 16 y Ki 67 en recurrencias en Lesiones
intraepiteliales de alto grado**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

SUBESPECIALISTA EN GINECOLOGIA ONCOLOGICA

PRESENTA:

DRA. DENISE ACUÑA GONZÁLEZ

DR. SALIM ABRAHAM BARQUET MUÑOZ

DIRECTOR DE TESIS



CIUDAD DE MÉXICO CIUDAD DE MÉXICO A 23 DE JUNIO DEL 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

AUTORIZACIÓN DE TESIS

Determinar la expresión del P16 y Ki67 con la progresión o recurrencia de las lesiones de alto grado (NIC2 y NIC3)

Dr. Salim Abraham Barquet Muñoz
Director de Tesis y asesor metodológico
Instituto Nacional de Cancerología

Dr. José Gregorio Chanona Vilchis
Asesor de la revisión de Patología
Instituto Nacional de Cancerología

Dra. Sylvia Verónica Villavicencio Valencia
Subdirectora de Educación Médica
Instituto Nacional de Cancerología

Dra. Denise Acuña González
Médico Residente de Tercer Grado Ginecología Oncológica
Autor
Instituto Nacional de Cancerología

Índice:

1.- Introducción	4
2.- Marco Teórico	7
3.1 Planteamiento del problema	9
3.2 Formulación del Problema	9
3.3 Objetivos	9
3.3.1 Objetivo General	9
3.3.2 Objetivos específicos	9
3.3.3 Objetivos secundarios	9
3.4 Justificación	9
3.5 Limitaciones del estudio	10
3.6 Fortalezas del estudio	10
4. Hipótesis	10
5. Definición y Categorización de variables	10
6. Metodología	11
6.1 Diseño de Investigación	11
6.2.1 Población y muestra	11
6.2.2 Criterios de inclusión	11
6.2.3 Criterios de exclusión	12
6.2.3 Metodología en la revisión por patología	12
6.3 Recolección de datos	15
7.- Análisis de datos	15
8.-Resultados	16
9.-Discusión	24
10.-Conclusion	29
11. Aspectos administrativos	30
12.- Cronograma de Actividades	30
13.- Bibliografía	31

1.- Introducción:

El CaCU es el segundo cáncer más frecuente de distribución mundial que se presenta en la población femenina, con una estimación de 530 232 casos nuevos, de los cuales aproximadamente el 86 % (453 531 casos) se presenta en los países en desarrollo. De acuerdo con estimaciones de la OMS en 2008, ¹ la tasa estandarizada a nivel mundial es de 15.2 x 100 mil mujeres, solo por debajo del cáncer de mama (38.9 x 100 mil mujeres). Las tasas con mayor incidencia por CaCU se presentan en las regiones de África, sureste de Asia y las Américas, con intervalo de 30.7, 24.4 y 15.3 x 100 mil mujeres, respectivamente, que comparativamente con otras áreas geográficas de baja frecuencia llegan a ser mayores de 1.7 a 3.4 veces^{1,3}.

En los países de América Latina el CaCU es el segundo cáncer más común en mujeres. Los países con tasas de incidencia mayores de 30 x 100 mil mujeres son Guyana (44.7), Nicaragua (39.9), Honduras (37.8), El Salvador (37.2 x 100 mil), Bolivia (36.4), Paraguay (35.0), Perú (34.5), Venezuela (31.4) y Guatemala (30.5). Solo Chile y Puerto Rico presentan tasas menores de 15 x 100 mil mujeres (14.4 y 7.5, respectivamente). Los países más desarrollados muestran tendencias importantes hacia la disminución en la incidencia de casos. Por ejemplo, Dinamarca, que tenía una tasa de 22.5 x 100 mil en 1975, disminuyó 20 puntos para una tasa reportada de 2.5 x 100 mil mujeres en 2008. Sin embargo, en países con menor desarrollo no es tan evidente esta relación. Las muertes por CaCU ocupan el tercer lugar de la mortalidad por cáncer en la mujer en el mundo, con un total de 31 712 defunciones,² lo cual representa el 8.22 % de las muertes ocurridas por neoplasias malignas, con una tasa de mortalidad estandarizada de 7.8 x 100 mil mujeres. Las tasas de mortalidad son coincidentes con la incidencia reportada para países en el área de las Américas. Las tasas de mortalidad más elevadas por arriba de 20 x 100 mil mujeres se observaron en Jamaica, Guyana y Nicaragua, mientras que las más bajas, menores a 7 defunciones x 100 mil mujeres se reportaron en Uruguay, Chile y Puerto Rico (6.8, 6.6 y 2.8 respectivamente).⁴ En los países en desarrollo la mayor importancia del CaCU se debe a las altas tasas de mortalidad reportadas, las cuales

están relacionadas con el diagnóstico tardío en etapas avanzadas de la enfermedad.^{5,6} En México, de acuerdo con la OMS (2008), la frecuencia de casos nuevos de CaCU fue de 10 186, lo cual representa una tasa estandarizada a nivel mundial de 19.2 x 100 mil mujeres; esto implica un riesgo acumulado de 1.94 x 100 mujeres.¹ El CaCU ocupa el segundo lugar en frecuencia de morbilidad por neoplasias malignas en la mujer, después del cáncer de mama (27.2 x 100 mil mujeres), a diferencia de las mujeres hispanas residentes en Estados Unidos, donde el CaCU ocupa el séptimo lugar de las neoplasias, mientras que el cáncer de mama se mantiene en la primera posición. Para el 2017 se estima un total 1,7 millones mujeres tendrán Cáncer cervicouterino, se estiman 12,820 nuevos casos y una mortalidad de 4,120 casos. ⁷

La tasa de mortalidad en México disminuyó aproximadamente 2.5 % por año en la década de los noventa y aproximadamente 5 % por año en la última década, con un estimado en el 2008 de 9.7 x 100 mil mujeres (5061 defunciones), el cual se considera todavía excesivamente alto.^{3,8}

La introducción del tamizaje para el CaCU ha reducido la incidencia de cáncer; sin embargo, la tasa de Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC) en sus diferentes grados es significativamente alta. ⁹

La infección genital por VPH es considerada como una de las infecciones más frecuentes de transmisión sexual (ETS) en la población mundial, presente sobretodo en mujeres jóvenes, aunque también están ampliamente difundidas entre adultos que han sido sexualmente activos.¹⁰ La infección del epitelio escamoso del tracto genital por diferentes tipos de VPH se manifiesta en forma clínica, subclínica o latente. La infección clínica por VPH se define como cualquier lesión visible en el epitelio o que causa síntomas. La infección subclínica no causa síntomas y puede diagnosticarse solo con ayuda del colposcopio o microscopio, mientras que la infección latente no se asocia con anomalías del epitelio escamoso y puede ser detectada solo por virología. La historia natural de la infección por VPH demuestra que la resolución espontánea se presenta en el 90 % de mujeres inmunocompetentes en aproximadamente el curso de dos años.¹¹ La tasa de infección en población femenina se estima en 40 % para mujeres de 20 a 29 años de edad y en población general independiente de la edad se reportan cifras de 13 a 15 %, ^{10,12,13} cifras que exceden por mucho el número de casos de cáncer invasor estimado en menos del 0.01 %. Por otro lado, más del 98 % de los casos de cáncer invasor del cérvix uterino están asociados a algún tipo de VPH. Esta es la principal razón por la que se ha establecido que la infección por VPH es una causa necesaria

pero no suficiente para desarrollar un cáncer invasor.¹⁴ Así se han determinado otros factores de riesgo que se asocian tanto a la adquisición de una infección por VPH como a su persistencia, condiciones que favorecen el subsecuente desarrollo de un cáncer invasor. Entre ellos se encuentran los tipos y subtipos virales, entre los que se identifican como los de mayor probabilidad para la persistencia de la infección los VPH 31, 16, 58 y 52. La carga viral, definida como el número de genomas de VPH presentes en las células, ha mostrado una correlación con la severidad de la enfermedad. Niveles mayores de VPH de alto riesgo fueron detectados en NIC3 y lesiones invasoras, comparados con los presentes en lesiones de bajo grado.¹⁵

La biopsia cervical es la prueba ideal para el diagnóstico de estas lesiones, sin embargo, esta puede tener una variabilidad inter e intra observador significativa. Esto es favorecido por el tamaño tan pequeño de las biopsias, los cortes tangenciales, los artefactos térmicos y la coexistencia inflamatoria.¹⁶⁻¹⁷

2.- Marco Teórico

La neoplasia intraepitelial escamosa cervical es clasificada en NIC 1, NIC 2 y NIC 3 por el grado de compromiso epitelial. Las tasas de progresión de NIC 1 a NIC 3 y al carcinoma invasivo son 10% y 1% respectivamente. Las tasas de progresión correspondientes de NIC2 son de 20% y 5%, y de NIC3 a cáncer invasivo es del 12%.¹⁸⁻¹⁹

Las lesiones intraepiteliales pueden ser tratadas de manera efectiva para prevenir la progresión al cáncer. En el caso del NIC1 es usualmente recomendado el seguimiento estrecho sin tratamiento escisional. En el caso de las lesiones NIC 2- NIC 3 son tratadas de manera escisional.²⁰

El virus del papiloma humano (VPH) es un virus de Familia de papiloma virus que está bien reconocida como causa del cáncer cervical y de sus lesiones precursoras, especialmente los tipos de alto riesgo. La actividad carcinogénica es mediada a través de dos oncoproteínas virales, E6 y E7. Las proteínas E6 y E7 tienen la capacidad de obligar a las proteínas reguladoras de las células huésped.

La disfunción del gen supresor de tumores p53 causada por la proteína E6 inhibirá la muerte celular del programa mientras que la inactivación de la proteína retinoblastoma (pRb) por la proteína E7 conduce a mutación celular no controlada.²¹⁻²²

Esta desregulación preclínica celular podría ser evidenciada de manera clínica por el estudio de la inmunohistoquímica de algunas proteínas, tales como, p16 y Ki67.

P16 es una proteína reguladora del ciclo celular. Su función es regular la proliferación celular en fase G1-S y negativamente influenciar la proliferación celular a través de una relación recíproca con otra proteína supresora de tumores pRb.

La sobreexpresión de p16 podría encontrarse en células con inactivación pRb que es comúnmente presente en la infección por VPH).²³

Ki67 es una proteína nuclear y nucleolar expresada sólo en fases activas del ciclo celular (fases G1, S, G2 y M), pero no en las fases de reposo (G0 y estadio temprano G1). Sobreexpresión de Ki67 se correlaciona con alta proliferación celular. La infección de VPH incrementa la proliferación del epitelio, por lo que una tinción incrementada del Ki 67 puede ser un indicador de infección por VPH.²³⁻²⁴

En ciertos casos, los cambios reactivos, inmaduros, metaplasia o cambios atróficos del cuello uterino pueden mostrar características morfológicas similares a lesiones

intraepiteliales de bajo y alto grado, lo cual no puede determinarse con el uso de hematoxilina y eosina de rutina, la aplicación de estos dos biomarcadores moleculares.²³

Más recientemente el proyecto Lower Anogenital Squamous Terminology (LAST) de 2012 incorporo cambios en su terminología de clasificación para reflejar las lesiones escamosas del trayecto ano genital asociadas al VPH, en concreto al NIC2 se estratifico basándose en la inmunotinción p 16, de modo que las muestras que son negativas para el p 16 se denominan lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado y las positivas para el p16 se denominan lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado.

En el 2007 Van Nickerk y col reportaron una sensibilidad y especificidad del P16 y Ki 67 para el diagnóstico de lesiones intraepiteliales cervicales de un 85-90% incrementando 5% cuando se usan en combinación.²⁵

La persistencia de la infección por VPH es necesaria para la persistencia o progresión de las lesiones. Por lo que determinar un marcador que nos ayude a predecir la persistencia de la infección tiene un valor clínico considerable.²⁶

3.1 Planteamiento del problema

El incremento en la expresión del p16/ Ki 67 se asocia a un mayor riesgo de recurrencia en las lesiones de alto grado (NIC2/NIC3)

3.2 Formulación del Problema

¿Cuál es la asociación de la expresión del P16/Ki 67 con la recurrencia en pacientes con lesiones de alto grado (NIC2/NIC3)?

3.3 Objetivos

3.3.1 Objetivo General

Nuestro estudio tuvo como objetivo evaluar la expresión de p16 y Ki67 en las lesiones de alto grado NIC2, NIC 3 así como se asociación de estas proteínas con la recurrencia.

3.3.2 Objetivos específicos

1. Describir las pacientes con recurrencias
2. Describir las pacientes sin recurrencia
3. Establecer la expresión de la proteína P16 y del Ki 67 en estas pacientes

3.3.3 Objetivos Secundarios

1. Describir las características clínicas de mi población.
2. Establecer el tiempo de recurrencia posterior al tratamiento
3. Establecer el periodo libre de enfermedad

3.4 Justificación

Un diagnóstico correcto reducirá un Intervención quirúrgica, tratamiento excesivo y la angustia por el seguimiento innecesario.

3.5 Limitaciones

Al tratarse de un estudio retrospectivo se debe considerar sesgo de selección. Se identificó otro sesgo de información como su asociación con infección del VPH y el análisis de otros factores de riesgo como el antecedente de tabaquismo y el tiempo transcurrido entre el último parto y el dx

3.6 Fortalezas:

El seguimiento estrecho y adecuado que llevan las pacientes en el Cancerología de acuerdo a lo estipulado por las normas de salud.

El tiempo de seguimiento por 10 años para poder establecer el periodo libre de enfermedad a 5 años con mayor seguridad.

El tamaño de la población estudiada (107 casos con diagnóstico de LIEAG)

4. Hipótesis

El porcentaje de asociación de la expresión del P16/Ki 67 con la recurrencia en pacientes con lesiones de alto grado (NIC 2/NIC 3)

5. Definición y categorización de variables:

Expediente: (#) Cuantitativa, continua

Edad (#años): Cuantitativa, continua

Fecha de Diagnóstico: Cuantitativa, continua

Gestas: (#) Cuantitativa, continua

Método de planificación familiar: (ninguno/oclusión tubaria bilateral, preservativo, DIU, otros): Cualitativa nominal politómica

Inicio de vida sexual: (#) Cuantitativa, continua

Número de parejas sexuales: (#) Cuantitativa, continua

Antecedentes personales patológicos: (ninguno/ HIV/ DM2/ Otros): Cualitativa nominal politómica

Citología cervical: (positivo/negativo): Cualitativa nominal dicotómica

Citología cervical: (negativo/ ASCUS/ LEIBG/LIEAG): Cualitativa nominal politómica

Colposcopia: (negativo/ Grado 1/ Grado 2): Cualitativa nominal politómica

Histología (NIC 2/NIC 3) Cualitativa nominal dicotómica

Tratamiento (Cono cervical/ Histerectomía total abdominal) Cualitativa nominal dicotómica

Fecha de la recurrencia: Cuantitativa, continua

Recurrencia o progresión: (negativo/ positivo) Cualitativa nominal dicotómica

Tipo de recurrencia o progresión: (negativo/ NIC1/NIC2/NIC3): Cualitativa nominal politómica

Tratamiento de la recurrencia: (Re-Cono cervical/ Histerectomía total abdominal/Laser) Cualitativa nominal politómica

Expresión de P16: (positivo/negativo/se desconoce): Cualitativa nominal politómica

Expresión de Ki 67: (1/3, 2/3, 3/3 del epitelio/se desconoce): Cualitativa nominal politómica

Porcentaje de Expresión de Ki 67: (0-100%): Cuantitativa, continua

Fecha de la última consulta: Cuantitativa, continua

6. Metodología

6.1 Diseño de Investigación

Estudio retrospectivo.

6.2 Población y muestra

Población: Pacientes con tratados con tratamiento escisional en el Instituto Nacional de Cancerología de Enero 2005 a Diciembre 2015

Muestra: Todos los pacientes con diagnóstico de referencia de LIEAG corroboradas en el Instituto Nacional de Cancerología de Enero 2005 a Diciembre 2015

6.2.1 Criterios de Inclusión:

1. Pacientes mayores de 18 años
2. Pacientes femeninas que acudieron al Instituto Nacional de Cancerología, referida por citologías con LIEAG Enero 2005 a Diciembre 2015 que se corroboran por colposcopia y biopsia cervical
3. Pacientes con Lesión intraepitelial de alto grado (NIC 2-NIC 3).

4. Revisión en colposcopia a las 4-6 semanas post tratamiento, con seguimiento semestral por 10 años.
5. Que contara con citología de ingreso, biopsia confirmatoria del diagnóstico y biopsia confirmatoria de la recurrencia o progresión.
6. La recurrencia o progresión se manejaron de manera similar debido a que el diagnóstico de estos estableció posterior a los 6 meses de la primera revisión post tratamiento. Con reporte de patología de cambios citopáticos asociados a infección del VPH, o NIC (1,2,3)
7. Todos los casos incluidos en el estudio fueron revisados por un patólogo experimentado en patología ginecológica.

6.2.2 Criterios de Exclusión:

1. Pacientes con expedientes incompletos.
2. Pacientes con bloques de parafina que no se encontraban disponibles para el procesamiento de la inmunohistoquímica por el servicio de patología.
3. Aquellos que durante el proceso de tinción y de inmunohistoquímica fueron dañados.
4. Pacientes con diagnóstico de CaCU in situ o micro invasor en el cono.
5. Pacientes con márgenes positivos persistentes post cono o post histerectomía.

6.2.3 Metodología en la revisión por patología

El procesamiento de patología

Se recaban los bloques de parafina de las pacientes con diagnóstico de LIEAG confirmado por biopsia (NIC 2/ NIC 3). Se les realiza corte de 3 mm, estos fueron teñidos con hematoxilina y eosina (H&E) para su revisión por el patólogo experto en área ginecología. Figura 1-3

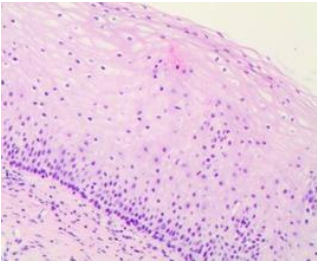


Figura 1 Negativa para displasia

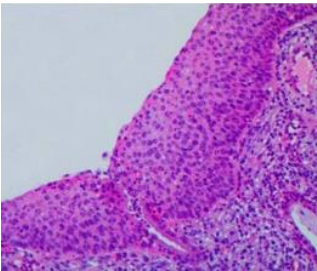


Figura 2. NIC 2

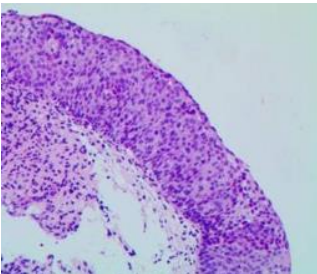


Figura 3 NIC 3

Se realizó tinción inmunohistoquímica en cortes de parafina de 3 mm fijados con parafina, estos cortes fueron montados en portaobjetos, posteriormente fueron secados durante 15 minutos. Los tejidos fueron desparafinados y rehidratados, con xileno y etanol, bloqueados con peroxidasa endógena bloqueada con 3% H₂O₂ por 20 minutos. Las secciones fueron pre tratadas, con buffer de citrato, pH 6,0 en microondas durante 13 minutos. Y se incubaron en solución de proteínas de bloqueo, durante 10 minutos.

Todas las laminillas se incubaron con una dilución 1:10 de disolución primaria del P16 (Ventan, A., Medical Systems, EE.UU.), dilución 1: 200 del Ki67 (Dako, Dinamarca) durante 120 minutos a temperatura ambiente seguida de anticuerpo secundario (kit de Envision, Novocastra, Newcastle, UK) durante 30 minutos y finalmente con diaminobenzidina durante 6 minutos. Todas las muestras fueron teñidas con hematoxilina durante 2 minutos y montadas en vidrio recubierto.

La evaluación de la inmunohistoquímica

La expresión de inmunohistoquímica fue interpretada por el patólogo experto en patología Ginecológica (Dr. José Gregorio Chanona Vilchis).

La expresión positiva del P16 fue interpretada como difusa tanto a nivel nuclear como citoplasmática. (Figura 4-5-6). La tinción focal o solo citoplasmática fue considerada no específica e interpretada como negativa.

La tinción de los epitelios focales y esporádicos fueron considerados como negativos

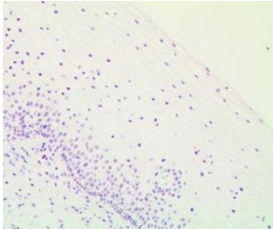


Figura 4. Negativa para P16

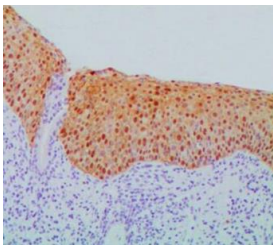


Figura 5. Expresión difusa del P16 en el epitelio displásico NIC2

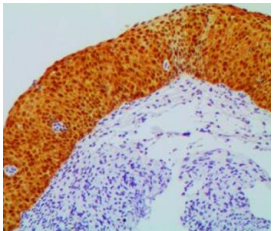


Figura 6. Expresión difusa del P16 en el epitelio displásico NIC3

La expresión positiva del Ki67 fue diagnosticada a nivel nuclear (figura 7-8-9). Se determinó el porcentaje de expresión de esta.

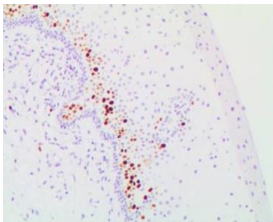


Figura 7. Negativa para Ki 67

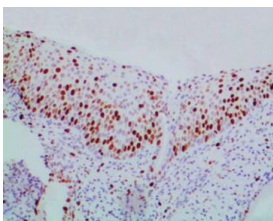


Figura 8. Expresión difusa del Ki 67 en el epitelio displásico NIC2

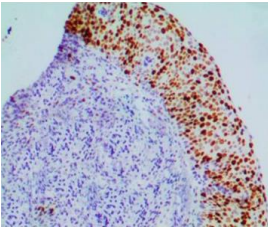


Figura 9. Expresión difusa del Ki 67 en el epitelio displásico NIC3

6.3 Recolección de datos

Las variables fueron registradas en base de datos en software IBM SPSS Statistics V 20, provenientes del expediente electrónico del Instituto Nacional de Cancerología, así como de los expedientes físicos disponibles en el archivo clínico de la institución.

7. Análisis de datos

Los datos fueron analizados por estadísticas descriptivas. Se utilizaron el número y el porcentaje para describir las variables categóricas, y la media y el rango para las variables continuas. La expresión de p16 Y Ki67 y su asociación con el histopatológico fueron analizados mediante la prueba de tinción en asociación con el histopatológico Chi cuadrado. Un valor $P < 0.05$ se consideró significativo.

Se realizó el análisis de correlación de spearman entre las recurrencias de las lesiones de alto grado y la expresión de P16 y Ki 67

Se determinaron los riesgos de recurrencias en lesiones de alto grado asociados a la expresión de P16 y Ki 67 (Odds ratios).

Se determinaron los riesgos de recurrencias en NIC 2 asociados a la expresión de P16 y Ki 67 (Odds ratios).

Se determinaron los riesgos de recurrencias en NIC 3 asociados a la expresión de P16 y Ki 67 (Odds ratios)

Se estableció el periodo libre de enfermedad en general, en las pacientes que expresaban P16 y Ki 67 mediante graficas de Kaplan- Meier

8.-Resultados

Entre los 107 casos incluidos en el estudio, la edad media de las mujeres fue de 31 años (25 -40 años). El promedio de embarazos fue de 2 (1-3). En cuanto al método de planificación familiar el 50.4% no tenían algún método o ya tenían un método

definitivo, el 35.5% utilizaban hormonales, 9.35% utilizaban el preservativo y el 4-67% utilizaban el dispositivo.

En cuanto al inicio de vida sexual el promedio de edad de inicio fue de 16 años (15-18), con un número de parejas promedio de 1 (1-3).

De sus antecedentes crónico degenerativos el 89.72% eran pacientes sanas, 4.67% tenían el DX VIH y el 1.87% Diabetes Mellitus.

Se les tomo citología a todas las pacientes a su ingreso siendo esta positiva para lesión de bajo o alto grado en el 79.25%. Con los siguientes resultados Negativa para lesión intraepitelial o malignidad 20.75%, ASCUS/ AGC en el 7.55%, LIEBG 34.91% y LIEAG el 36.79%

A la revisión con colposcopia, el diagnóstico fue normal en el 6.54%, hallazgos grado 1 en el 29.91% y hallazgos grado 2 en un 63.55%

Se tomó biopsia de las lesiones identificadas y se realizó revisión por patología de las mismas encontrando un diagnóstico histopatológico de NIC 2 fe de 85.05% y NIC 3 14.95%.

Se llevaron a procedimiento escisional 88.97% de las pacientes, a histerectomía el 9.35% y tratamiento con láser el 1.87%

Se muestra la TABLA 1 de las Características Generales de las pacientes.

Tabla 1. Características generales de las pacientes. N=107	
Edad*	31 (25-40)
Gesta*	2 (1-3)
MPF**	
Ninguno/definitivo	54 (50.47)
Hormonal	38 (35.51)
Preservativo	10 (9.35)
DIU	5 (4.67)
IVSA*	16 (15-18)
No. de parejas*	1 (1-3)
Enfermedades crónico degenerativas**	
Ninguna	95 (89.72)
VIH	5 (4.67)
DM	2 (1.87)
Otros	4 (3.74)
Citología positiva**	84 (79.25)
Dx de citología**	
Negativa	22 (20.75)
ASC/AGC	8 (7.55)

LIEBG	37 (34.91)
LIEAG	39 (36.79)
Dx de colposcopia**	
Negativo	7 (6.54)
Grado 1	32 (29.91)
Grado 2	68 (63.55)
Dx de biopsia**	
NIC 2	91 (85.05)
NIC 3	16 (14.95)
Tratamiento**	
Cono	95 (88.79)
Histerectomía	10 (9.35)
Laser	2 (1.87)
* Mediana (rango intercuartilar) ** Valor absoluto (valor relativo) MPF Método de Planificación Familiar, DIU Dispositivo intrauterino, IVSA Inicio de vida sexual activa, DM Diabetes Mellitus , ASC Células Escamosas Atípicas, AGC Células Glandulares Atípicas, LIEBG Lesión Intraepitelial de Bajo Grado, LIEAG Lesión intraepitelial de Alto Grado, NIC 2 neoplasia intraepitelial cervical grado 2 , NIC 3 neoplasia intraepitelial cervical grado 3.	

Se realizó un análisis comparativo entre pacientes que presentaron recurrencia vs controles

Se identificaron 28 pacientes con recurrencia que corresponden al 26.17% de toda la población con LIEAG, la edad media de las mujeres fue de 30 años (24-41 años), comparando estos con el grupo control la edad de las pacientes promedio fue de 31 años (25-40años). Sin diferencia significativa. El promedio de embarazos fue de 2 (1-3.5) en las pacientes con recurrencia y en los controles de 2(1-3). Sin diferencia significativa.

En cuanto al método de planificación familiar el 35.71% no tenía algún método o tenían ya método definitivo las pacientes con recurrencia y en los controle el 55.70% encontrando una diferencia significativa entre ellas, de las pacientes que presentaron recurrencia el 35.71% utilizaban hormonales, comparado con sus controles 35.44%, sin diferencia significativa, de las pacientes con recurrencia el 17.86% utilizaban el preservativo y el grupo control 6.33%, en las pacientes con recurrencia el 10.71% utilizaban el dispositivo a diferencia de los controles 2.53%

En cuanto al inicio de vida sexual el promedio de edad de inicio fue de 16 años (15-17.5) en las pacientes con recurrencia y los controles 17 años (15-18) sin diferencia significativa entre ellas.

Con respecto al número de parejas promedio de 2.5 (1-4) en las pacientes con recurrencia y en los controles de 1 (1-2) encontrando aquí una diferencia significativa

De sus antecedentes crónico degenerativos el 78.57% eran pacientes sanas en el grupo de recurrencia comparado con un 93.67% en el grupo control encontrando una diferencia significativa, 17.86% tenían el DX VIH todas ellas con recurrencia a diferencia de ninguna paciente en el grupo control y el 2.53% Diabetes Mellitus en el grupo control, sin identificar pacientes con diabetes mellitus en el grupo de recurrencia.

Se les tomo citología a todas las pacientes a su ingreso siendo esta positiva para lesión de bajo o alto grado en el 71.43% en el grupo con recurrencia y en el grupo control 82.28%. Con los siguientes resultados Negativa para lesión intraepitelial o malignidad 28.57% en el grupo de recurrencia y en el grupo control de 17.72 % con diferencia significativa, ASCUS/ AGC en el 3.57% en el grupo con recurrencia y en el grupo control de 8.86%, LIEBG 53.57% de las pacientes con recurrencia y en los controles en el 29.11 en cuanto a LIEAG el 14.28% pacientes con recurrencia y en los controles 44.30%.

A la revisión con colposcopia, el diagnóstico fue normal en el 10.71%, en las pacientes con recurrencia y en el grupo control en el 5.06%, con hallazgos grado 1 en el 35.71% en las pacientes con recurrencia y en los controles el 27.85% y hallazgos grado 2 en el grupo de recurrencia en un 53.57% a diferencia del grupo control en un 67%

Se tomó biopsia de las lesiones identificadas y se realizó revisión por patología de las mismas encontrando un diagnóstico histopatológico de NIC 2 fe de 82.14% en las pacientes con recurrencia y en el 86.08% en el grupo control y NIC 3 17.86% en el grupo con recurrencia y en el 13.92% en el grupo control.

Se llevaron a procedimiento escisional 89.29% de las pacientes con recurrencia y en el grupo control en el 88.61, sin diferencia significativa entre ellos en el procedimiento terapéutico, de histerectomía en el 7.14% en el grupo con recurrencia y en el 10.13% en el grupo control y tratamiento con láser en el 3.57% en el grupo con recurrencia vs el grupo control en el 1.27%

Tabla 2 Comparativo entre el grupo de recurrencias y controles

Tabla 2. Comparativo de las recurrencias vs controles			
	Recurrencia 28 (26.17)	Control 79 (73.83)	P
Edad*	30 (24-41)	31 (25-40)	0.934
Gesta*	2 (1-3.5)	2 (1-3)	0.714

MPF**			
Ninguno/definitivo	10 (35.71)	44 (55.70)	0.057
Hormonal	10 (35.71)	28 (35.44)	
Preservativo	5 (17.86)	5 (6.33)	
DIU	3 (10.71)	2 (2.53)	
IVSA*	16 (15-17.5)	17 (15-18)	0.674
No. de parejas*	2.5 (1-4)	1 (1-2)	0.029
Enfermedades crónico degenerativas**			
Ninguna	22 (78.57)	74 (93.67)	0.002
VIH	5 (17.86)	0	
DM	0 (0.0)	2 (2.53)	
Otros	1 (3.57)	3 (3.80)	
Citología positiva*	20 (71.43)	65 (82.28)	0.18
Dx de citología*			
Negativa	8 (28.57)	14 (17.72)	0.014
ASC/AGC	1 (3.57)	7 (8.86)	
LIEBG	15 (53.57)	23 (29.11)	
LIEAG	4 (14.28)	35 (44.30)	
Dx de colposcopia*			
Negativo	3 (10.71)	4 (5.06)	0.362
Grado 1	10 (35.71)	22 (27.85)	
Grado 2	15 (53.57)	53 (67.09)	
Dx de biopsia*			
NIC 2	23 (82.14)	68 (86.08)	0.616
NIC 3	5 (17.86)	11 (13.92)	
Tratamiento*			
Cono	25 (89.29)	70 (88.61)	0.675
Histerectomía	2 (7.14)	8 (10.13)	
Laser	1 (3.57)	1 (1.27)	
* Mediana (rango intercuartilar) ** Valor absoluto (valor relativo) MPF Método de Planificación Familiar, DIU Dispositivo intrauterino, IVSA Inicio de vida sexual activa, DM Diabetes Mellitus , ASC Células Escamosas Atípicas, AGC Células Glandulares Atípicas, LIEBG Lesión Intraepitelial de Bajo Grado, LIEAG Lesión intraepitelial de Alto Grado, NIC 2 neoplasia intraepitelial cervical grado 2 , NIC 3 neoplasia intraepitelial cervical grado 3.			

Se evaluó las características de las recurrencias en las 28 pacientes.

Encontrando que en 25 de ellas la recurrencia fue de NIC I o Cambios citopáticos asociados a infección por VPH corroborado por biopsia y NIC 2 en 3 pacientes

El tratamiento establecido para las recurrencias fue de vigilancia en las 25 pacientes con NIC 1 o Cambio Citopáticos asociados a Infección por VPH. Y Reconización en 3 pacientes con NIC 2

Tabla 3. Características de las recurrencias

Tabla 3. Características de las recurrencias	
Recurrencia**	28 (26.17)
Tipo de recurrencia**	
Ninguna	79 (73.83)
VPH/NIC I	25 (23.36)
NICII	3 (2.80)
Tx recurrencia**	
Vigilancia	25 (89.29)
Reconización	3 (10.71)
** Valor absoluto (valor relativo)	
VPH: Cambios citopáticos asociados a la infección del virus del papiloma humano	
NIC I: Neoplasia intraepitelial cervical grado 1	
NIC II: Neoplasia intraepitelial cervical grado 2	

Se realizó el análisis de la correlación de Spearman entre la expresión de P16 y Ki67 con las recurrencias en las lesiones de alto grado.

Tabla 4: No encontrando una correlación significativa entre ellas.

Tabla 4. Correlación entre recurrencias en lesiones de alto grado y la presencia de P16 y Ki 67.*				
	Recurrencia 28 (26.17)	Controles 79 (73.83)	Coefficiente de correlación	p
P16 positivo	19 (70.00)	59 (79.73)	0.04	0.69
Ki 67				
1/3 +	6 (24.00)	10 (13.70)	0.02	0.88
2/3 +	6 (24.00)	28 (38.36)		
3/3 +	13 (52.00)	35 (47.95)		
* Correlación de Spearman				

Se establecieron los riesgos de recurrencia en lesiones de alto grado asociados a la presencia de P16 y Ki 67

Tabla 5: No se encontró un mayor riesgo de recurrencia con la expresión del P16 y del Ki 67 a diferencia de los controles

Tabla 5. Riesgos de recurrencias en lesiones de alto grado asociados a la presencia de P16 y Ki 67.

	Recurrencia 28 (26.17)	Controles 79 (73.83)	OR (IC 95%)	P
P16 positivo*	19 (70.0)	59 (79.73)	0.81 (0.27-2.37)	0.69
Ki 67**	0.3 (0.2-0.4)	0.3 (0.2-0.4)	1.61 (0.13-20.3)	0.71
1/3 +*	6 (24.0)	10 (13.70)	Referencia	
2/3 +*	6 (24.0)	28 (38.36)	0.36 (0.09-1.37)	0.13
3/3 +*	13 (52.0)	35 (47.95)	0.62 (0.19-2.05)	0.43
* valor absoluto (porcentaje) **mediana (rango intercuarticular) OR: odd ratio				

Se establecieron los riesgos de recurrencia en NIC 2 asociados a la presencia de P16 y Ki 67

Tabla 6: No se encontró un mayor riesgo de recurrencia con la expresión del P16 y del Ki 67 a diferencia de los controles

Tabla 6. Riesgos de recurrencias en NIC 2 asociados a la presencia de P16 y Ki 67.				
	Recurrencia 20 (24)	Controles 64 (76)	OR (IC 95%)	P
P16 positivo*	16 (80.0)	51 (79.69)	1.02 (0.29-3.57)	0.97
Ki 67**	0.3 (0.1-0.4)	0.3 (0.1-0.4)	8.5 (0.45-160.3)	0.15
1/3 +*	4 (20.0)	8 (12.7)	referencia	
2/3 +*	5 (25.0)	27 (42.86)	0.37 (0.79-1.17)	0.20
3/3 +*	11 (55.0)	28 (44.44)	0.78 (0.19-3.15)	0.73
* valor absoluto (porcentaje) **mediana (rango intercuarticular) NIC: neoplasia intracervical, OR: odd ratio				

Se establecieron los riesgos de recurrencia en NIC 3 asociados a la presencia de P16 y Ki 67

Tabla 7: No se encontró un mayor riesgo de recurrencia con la expresión del P16 y del Ki 67 a diferencia de los controles

Tabla 7. Riesgos de recurrencias en NIC 3 asociados a la presencia de P16 y Ki 67.				
	Recurrencia 5 (31.25)	Controles 11 (68.75)	OR (IC 95%)	P
P 16 positivo*	3 (60.0)	8 (72.7)	0.37 (0.04-3.99)	0.41
Ki67**	0.3 (0.2-0.4)	0.3 (0.2-0.4)	0.04 (0.006-3.07)	0.11
1/3 +*	2 (40.0)	2 (20.0)	Referencia	

2/3 +*	1 (20.0)	1 (10.0)	1 (0.03-28.8)	NS
3/3 +*	2 (40.0)	7 (70.0)	0.29 (0.02-3.50)	0.33

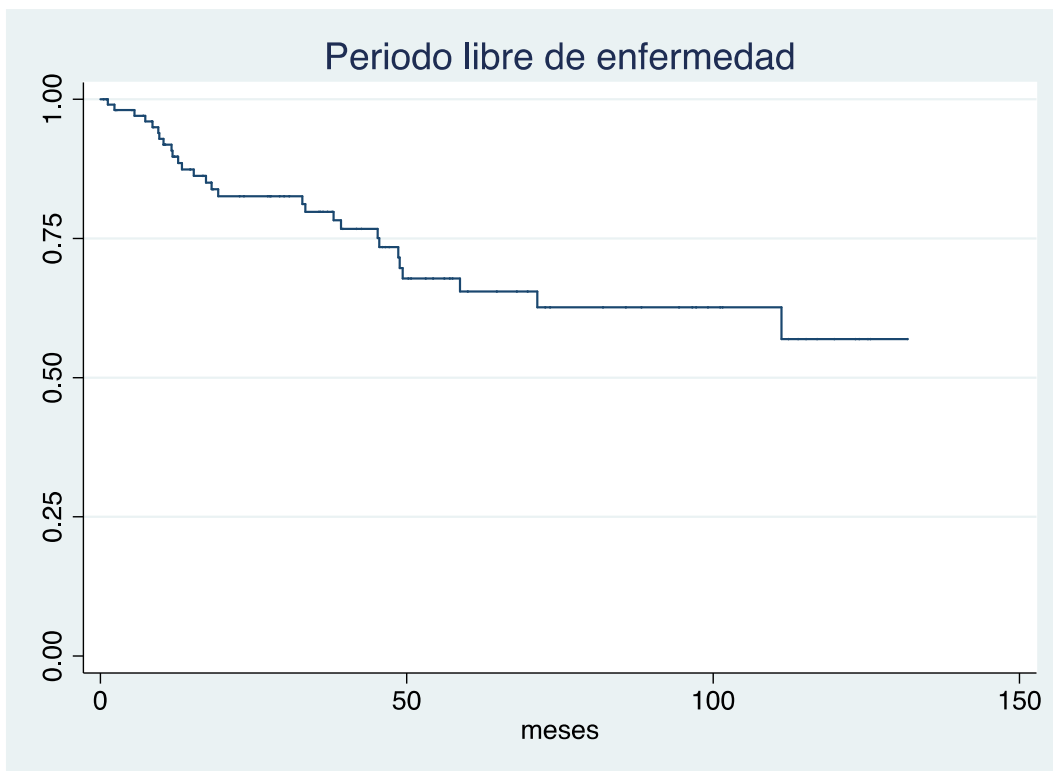
* valor absoluto (porcentaje)

**mediana (rango intercuartilar)

NIC: neoplasia intracervical, OR: odd ratio, NS: no significativo

Se determinó el periodo libre de enfermedad a 5 años en las 107 pacientes

PLE a 5 años 65.45% (IC 95% 52.69-75.58). No se alcanzó la mediana



Se evaluó el Periodo libre de enfermedad según p16

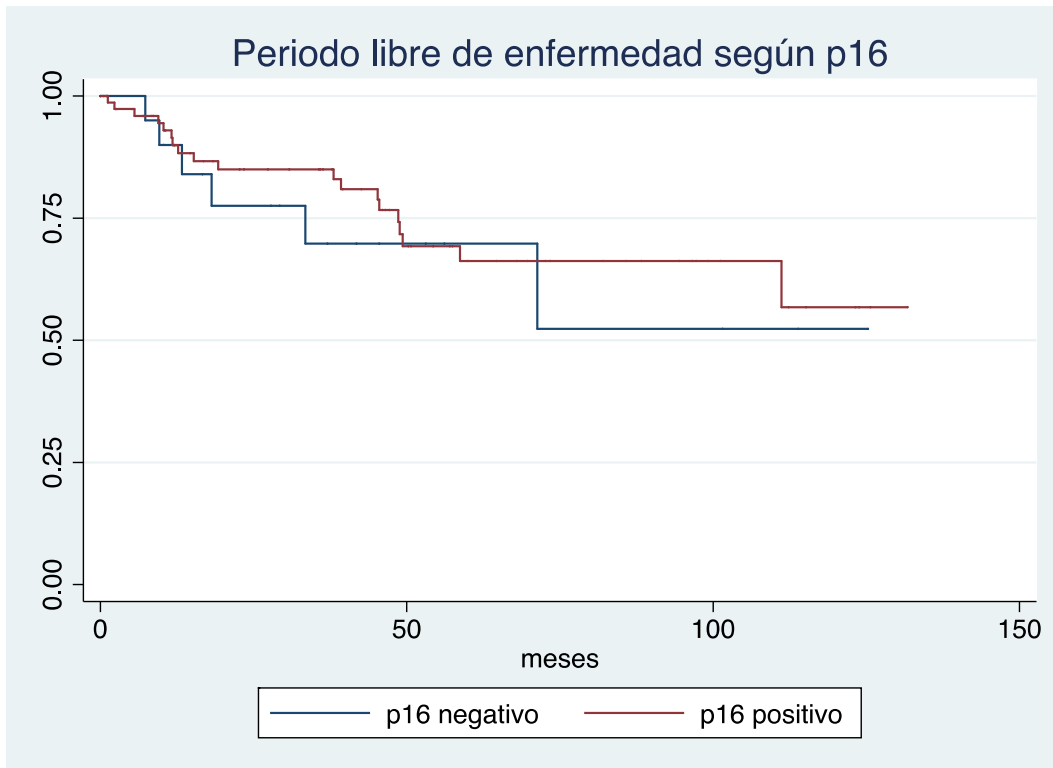
P16 negativo

PLE a 5 años 69.68% (IC 95% 40.95-86.51). Mediana no alcanzada

P16 positivo

PLE a 5 años 66.24% (IC 95% 50.92-77.78). Mediana no alcanzada

P=0.57



Se evaluó el Periodo libre de enfermedad según K67

K67 1/3 positivo

PLE a 5 años 56.57% (IC 95% 26.84-78.14). Mediana no alcanzada

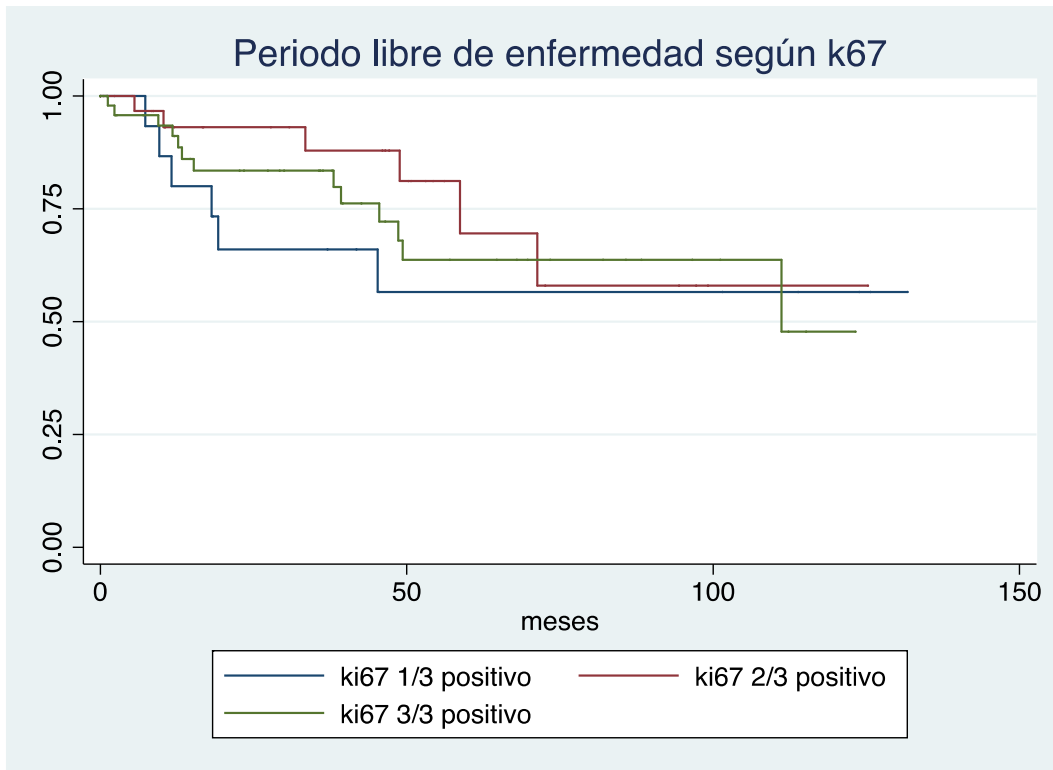
K67 2/3 positivo

PLE a 5 años 69.56% (IC 95% 36.35-87.79). Mediana no alcanzada

K67 3/3 positivo

PLE a 5 años 63.70% (IC 95% 43.63-78.25). Mediana 111 meses

P=0.56



9. Discusión

En nuestra institución las Lesiones intraepiteliales de alto grado representa un número importante de pacientes. Las características generales de nuestra población no difirieron significativamente de las reportadas en otras poblaciones. Se identificaron 28 pacientes con recurrencia que corresponden al 26.17% de toda la población con LIEAG.

Como hemos desarrollado en los resultados expuestos previamente, la población fue femenina con un promedio de edad de 31 años (rango 25-40 años), sin una diferencia significativa entre el grupo de recurrencia y el grupo control.

A diferencia de otros estudios la incidencia de la recurrencia/ progresión se asocia de manera significativa con la edad. Hasta un 56.5% mujeres > 50 años vs 21.4% en mujeres de 30-39 años, Solo el 5.9% en las mujeres de 20 a 29 años ($X^2: 23.123$ p: 0.00005).²⁷

En otro estudio de Radha Malapati y col, establecen que la edad mayor o igual a 46 años es un factor de riesgo significativo en el análisis uni y multivariado. Establecen un riesgo de recurrencia a 2,3 y6 años de 0.64,0.59 y 0.39 p:0.001.²⁸

El promedio de embarazos fue de 2 (1-3.5) en las pacientes con recurrencia y en los controles de 2(1-3). Sin diferencia significativa.

Encontramos lo mismo a lo reportado en la literatura. Yusuke Tanaka y col. No encontraron un incremento de riesgo significativo por el número de gestas par a la recurrencia o persistencia de las lesiones tratadas post cono HR 1.56 (0.66-4.30 p: 0.3268).²⁹

En cuanto al método de planificación familiar el 35.71% no tenía algún método o tenían ya método definitivo las pacientes con recurrencia y en los controle el 55.70% encontrando una diferencia significativa entre ellas, de las pacientes que presentaron recurrencia el 35.71% utilizaban hormonales, comparado con sus controles 35.44%, sin diferencia significativa, de las pacientes con recurrencia el 17.86% utilizaban el preservativo y el grupo control 6.33%, en las pacientes con recurrencia el 10.71% utilizaban el dispositivo a diferencia de los controles 2.53%.

A diferencia de lo reportado en la literatura existe una menor expresión de P16 en las pacientes que usan condón de manera consistente pos tratamiento de conización, tanto en el análisis univariado y multivariado. O.R. 0.18 (0.09-0.38).³⁰

Existen estudio contradictorio en el rol del Preservativo en la prevención de la recurrencia por de las lesiones asociadas a VPH.³¹⁻³³

Entre las mujeres usuarias de anticonceptivos orales, el riesgo de CaCU aumenta con el incremento en la duración del uso (riesgo relativo —RR— para cinco años o más comparado con no usuarias, 1.9, IC 95 % 1.7-2.1). El riesgo disminuye al mismo nivel de las no usuarias después de 10 años de suspender el uso.³⁴

En un estudio se observó que las mujeres usuarias de hormonas sexuales esteroideas tienen un efecto interactivo dependiente de un polimorfismo de la haptoglobinas, una proteína que actúa en la modulación de la respuesta inmune local en epitelios. Se observó que en las portadoras del alelo 1 de la haptoglobina y usuarias de hormonales esteroideos el RR aumentó seis veces en relación con las no portadoras y las no usuarias.³⁵

En cuanto al inicio de vida sexual el promedio de edad de inicio fue de 16 años (15-17.5) en las pacientes con recurrencia y los controles 17 años (15-18) sin diferencia significativa entre ellas. Y con respecto al número de parejas promedio de 2.5 (1-4) en las pacientes con recurrencia y en los controles de 1 (1-2) encontrando aquí una diferencia significativa. Hallazgos similares a lo reportado en la literatura.³³

De sus antecedentes crónico degenerativos el 78.57% eran pacientes sanas en el grupo de recurrencia comparado con un 93.67% en el grupo control encontrando una diferencia significativa, 17.86% tenían el DX VIH todas ellas con recurrencia a diferencia de ninguna paciente en el grupo control y el 2.53% Diabetes Mellitus en

el grupo control, sin identificar pacientes con diabetes mellitus en el grupo de recurrencia.

En mujeres infectadas con HIV la frecuencia de infección por VPH es de alrededor del 50 % y llega hasta el 75 % en edades de 25 a 34 años, casi cuatro veces mayor a la reportada en población sin riesgo. En este grupo de mujeres se observa una mayor frecuencia de infección relacionada con un menor conteo de células CD4 y mayor severidad de lesiones cervicales.³⁶

En el estudio de Menghan Zhu y col un factor pre-conización que se asoció a persistencia de la enfermedad o recurrencia de la lesión es el estado serológico de las pacientes con VIH ($p < 0.0001$).²⁸

Existe poca reproducibilidad inter-intraobservador entre los patólogos. El rol de los biomarcadores para gradificar de manera adecuada las lesiones e identificar las verdaderas lesiones alto grado.

La mayoría de las anormalidades cervicales de bajo grado, se asocian una replicación viral benigna, que tendrá una remisión espontánea 70-80% y en las mujeres jóvenes menos de 25 años hasta el 90%.³⁷⁻³⁹

En contraste el NIC 3 tiene un mayor potencial de progresión a cáncer 0.2-4% en 12 meses. Una proporción alta tendrá persistencia o progresión a pesar del tratamiento.⁴⁰

El NIC 2 es controversial su diagnóstico, su comportamiento biológico no es bien entendido. Este tiene una tasa de remisión e 15-23% hasta 55%. Los NIC 2 que son positivos P16 tiene menos regresiones y mayor probabilidad de recurrencia o progresión que las que son P16 negativos.⁴¹

Es ahí la utilidad de los biomarcadores para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de las lesiones de alto grado (NIC2- NIC 3).

Se ha identificado que una expresión difusa del P16 $> 25\%$ tiene un alto riesgo de progresión una lesión mayor que los P16 negativos. Con una sensibilidad del 86% y especificidad del 60% para predecir progresión.⁴²

Estudios previos han evaluado la expresión de biomarcadores por inmunohistoquímica en lesiones intraepiteliales cervicales. Reportado la expresión del p16 en 45% al 100% en CIN2 / 3. Tabla 8.⁴³⁻⁵⁰

Nuestro estudio Encontró expresión p16 en 71% CIN3 y en el 80 % NIC 2.

Tabla 8. Expresión del P16 en las lesiones intraepiteliales cervicales.		
	NIC 2/3	Criterios de Positividad por inmunohistoquímica
P16 positivo		
Volgareva et al, 2004	42.5%	Núcleo y citoplasma
Wang et al 2004	94.7%	Cualquier reacción
Murphy et al 2005	98.7%	Núcleo y citoplasma
Benevolo et al 2006	95.2%	Núcleo y citoplasma
Ishikawa et al 2006	87.5%	Reacción marcada o intensa en el sitio de lesión
Queiroz et al 2006	93.4%	Núcleo y citoplasma
Hairi & Oster 2007	100%	Núcleo y citoplasma basal y parabasal
Aislani et al 2013	100%	Núcleo y citoplasma basal y parabasal

La variación de las tasas de expresión puede depender de los criterios que definen la expresión positiva.

Tres Estudios utilizaron criterios de tinción nuclear o citoplasmática. Como positivo mientras que nuestro estudio requería tanto Tinción nuclear. Tabla 9 ⁴³⁻⁵⁰

Nuestro estudio Encontró expresión Ki67 en 88% CIN3 y en el 83 % NIC 2.

Tabla 9. Expresión del Ki 67 en las lesiones intraepiteliales cervicales.		
Keating et al 2001	83.3%	Nuclear por arriba de la región parabasal
Agooft et al 2007	88.7%	Tinción nuclear 1/3 por arriba del epitelio
Conesa et al 2009	89%	Nuclear por arriba de la región parabasal
Walts & Bose 2009	98%	Tinción nuclear > 25% del epitelio
Cavalcante et al 2012	74%	Tinción nuclear 1/3 por arriba del epitelio
Jackson et al 2012	83.3%	Nuclear por arriba de la región parabasal

El Ki 67 en los NIC2 es un factor pronóstico predictivo independiente de progresión. ⁵¹⁻⁵³

Kruse y col, presentaron un modelo predictivo de progresión que evaluaba el índice de estratificación (Si90) y el % de Ki 67 para clasificar a las mujeres n alto o bajo riesgo de progresión. Estableciendo como bajo riesgo las pacientes con Si90 < 0.57 y Ki67 <30%. ⁵⁴

Un análisis de subgrupo de pacientes conizadas por NIC 2 con Ki 67 positivo como factor de riesgo predictivo de recurrencia. ⁵⁵

Las tasas de expresión de P16 Y Ki67 se asociaron directamente con el Gravedad de las lesiones cervicales, pero debe interpretarse con precaución porque en nuestro estudio hubo falsos positivos puede ser el resultado de la inflamación o infección de HR-HPV.

La posible razón para Expresión (falso negativo) en casos de \geq CIN 2 puede ser Causado por el VPH de bajo riesgo debido a que la afinidad de la proteína E7 del VPH de bajo riesgo es mucho menor que la de HR-HPV

Se evaluó las características de las recurrencias en las 28 pacientes. Encontramos que en 25 de ellas la recurrencia fue de NIC I o Cambios citopáticos asociados a infección por VPH corroborado por biopsia y NIC 2 en 3 pacientes de ellas la recurrencia fue de NIC I o Cambios citopáticos asociados a infección por VPH corroborado por biopsia.

Se realizó el análisis de la correlación de Spearman entre la expresión de P16 y Ki67 con las recurrencias en las lesiones de alto grado. No encontrando una correlación significativa entre ellas. P 16 (Coeficiente de correlación de 0.04, P: 0.69) y de Ki 67 (Coeficiente de correlación de 0.02, P: 0.88)

Cuando se evaluó la correlación con respecto a los controles no se identificó un mayor riesgo de recurrencia ante la expresión del P16 y del Ki 67 en las lesiones de alto grado. P 16 (OR de 0.81, P: 0.69) y de Ki 67 (OR de 1.61, P: 0.71)

En el análisis específico de riesgo de recurrencia en NIC 2 asociados a la presencia de P16 y Ki 67. No se encontró un mayor riesgo de recurrencia con la expresión del P16 y del Ki 67 a diferencia de los controles. P 16 (OR de 1.02, P: 0.97) y de Ki 67 (OR de 8.5, P: 0.15)

En el análisis específico de riesgo de recurrencia en NIC 3 asociados a la presencia de P16 y Ki 67. No se encontró un mayor riesgo de recurrencia con la expresión del P16 y del Ki 67 a diferencia de los controles. P 16 (OR de 0.37, P: 0.41) y de Ki 67 (OR de 0.04, P: 0.11)

La persistencia o progresión de la lesión depende la historia natural dela patología por sí mismo y de la respuesta del huésped ala infección.

La expresión del P 16 y la sobre expresión del Ki 67 tiene muy poca relación con la persistencia o progresión de las lesiones de alto grado.

El P16 y el Ki67 pueden incrementar la seguridad del diagnóstico de las lesiones cervicales, pero como lo identificamos en nuestro estudio. Pingping Zhong y col establecen que estos marcadores no pueden predecir la persistencia e la lesión o la progresión de esta. ⁵⁶

Solo se identificó un estudio realizado por Daliana Casas y col, que establecen que la expresión del P16 puede ser considerado como un biomarcador en las neoplasias alto grado para alto riesgo de recurrencia OR 16.71 (3.37-82.96). ⁵⁷

En nuestro estudio se determinó como objetivo secundario establecer el periodo libre de enfermedad a 5 años en las 107 pacientes y este fue de 65.45% (IC 95% 52.69-75.58). No se alcanzó la mediana.

Se evaluó el Periodo libre de enfermedad según p16. Si este el P16 fue negativo el PLE a 5 años 69.68% (IC 95% 40.95-86.51). Mediana no alcanzada y si este fue positivo, el PLE a 5 años 66.24% (IC 95% 50.92-77.78). Mediana no alcanzada

No determinando una diferencia significativa entre ellas. P=0.57

Se evaluó el Periodo libre de enfermedad según K67. Si este fue positivo en 1/3 de la lesión el PLE a 5 años 56.57% (IC 95% 26.84-78.14). Mediana no alcanzada. En los que expresaron Ki 67 2/3 del epitelio el PLE a 5 años 69.56% (IC 95% 36.35-87.79). Mediana no alcanzada y en los que lo expresaba en los 3/3 el No determinando una diferencia significativa entre ellas. P=0.56

No se encontraron estudios que establezcan biomarcadores que determinen el Periodo libre de enfermedad en las lesiones de alto grado. La mayoría de los estudios se enfocan en la evaluación del P16 y Ki67 para confirmar el grado histológico de la lesión.

11. Conclusión.

En conclusión, p16 y Ki67 son marcadores diseñados para establecer el grado de las lesiones cervicales. La expresión de estos es mayor en las lesiones intraepiteliales de alto grado.

El P16 parece asociarse a un evento temprano para el desarrollo de la Lesión intrapitelial cervical y el Ki 67 durante la evolución de esta.

EL P16 y el Ki 67 no tienen un valor pronóstico para predecir persistencia o progresión de la lesión en pacientes con lesiones de alto grado.

12. Aspectos administrativos

La información fue recabada de expedientes clínicos en forma física y electrónica de los pacientes que cumplieran los criterios de inclusión y tuvieran criterios de exclusión del archivo clínico del Instituto Nacional de Cancerología.

13.- Cronograma de Actividades

No.	Actividad	Marzo- Abril 2017	Mayo- Junio 2017	Julio 2017
01	Aprobación de protocolo	■		
02	Recopilación de Expedientes		■	
03	Inicio de Base de Datos con las variables a evaluar		■	
04	Término de Base de datos		■	
05	Tabulación de datos		■	
06	Análisis y de datos		■	
07	Redacción de resultados		■	
08	Presentación de datos y gráficas.		■	
09	Elaboración de conclusiones y recomendaciones			■
10	Redacción y revisión del informe final			■
11	Control de calidad del informe de investigación por la universidad.			■
12	Presentación de los resultados a los docentes.			■

14.-Bibliografía

1. International Agency for Research on Cancer. World Health Organization. [Internet]. GLOBOCAN 2008. Estimated cancer incidence, mortality, prevalence and disability-adjusted life years worldwide in 2008. Disponible en: <http://globocan.iarc.fr/>
2. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. GLOBOCAN 2008 v2.0, Cancer incidence and mortality world-wide: IARC Cancer Base No. 10 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010. Disponible en: [http:// globocan.iarc.fr](http://globocan.iarc.fr)
3. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127(12):2893-917.
4. Parkin DM, Ferlay J, Curado MP, Bray F, Edwards B, Shin HR, Forman D. Fifty years of cancer incidence: C15 I-IX. *Int J Cancer* 2010; 127(12):2918-27. doi: 10.1002/ijc.25517.
5. Brookfield KF, Cheng MC, Lucci J, Fleming LE, Koniaris LG. Disparities in survival among women with invasive cervical cancer. A problem of access to care. *Cancer* 2009;115(1):166-78.doi: 10.1002/cncr.24007.
6. Knaul FM, Bhadelia A, Gralow J, Arreola-Ornelas H, Langer A, Frenk J. Meeting the emerging challenge of breast and cervical cancer in low-and middleincome countries. *Int J Gynaecol Obstet* 2012;119 (Suppl 1): S85-8. Epub 2012 Aug 9. PubMed: 2012;11985-8..11985-8.
7. Siegel R, Nishadham D, Jemal A. Cancer statistics for Hispanics/Latinos, 2012. *Ca Cancer J Clin* 2012;62(5):283-298. doi: 10.3322/caac.21153.
8. Bosetti C, Rodríguez T, Chatenoud L, Bertuccio P, Levi G, Negri E, La Vecchia C. Trends in cancer mortality in Mexico, 1981-2007. *Eur J Ca Preven* 2011;20(5):355- 363. doi: 10.1097/CEJ.0b013e32834653c9.
9. An introduction to cervical intraepithelial neoplasia (NIC). IN Cellor JW & Sankaranarayanan R. *Colposcopy and treatment of cervical intraepithelial neoplasia: a beginner manual* 2003, 13-20.

10. Forman D, de Martel C, Lacey CJ, Soerjomataram I, Lortet-Tieulent J, Bruni L, et.al. Global burden of human papillomavirus and related diseases. *Vaccine*. 2012 Nov 20;30 (Suppl 5):F12-23. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.07.055
11. Moscicki AB, Schiffman M, Kjaer S, Villa LL. Chapter 5: Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. *Vaccine* 2006;24 (Suppl 3):S3:42-51.
12. De Martel C, Ferlay J, Franceschi S, Vignat J, Bray F, Forman D, et.al. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *Lancet Oncol*. 2012 Jun;13(6):607-15.
13. Bosch FX, de Sanjosé S. The epidemiology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Dis Markers* 2007; 23(4):213-27. Texto libre: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3850867/>
14. 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(1):12-9.
15. Hernández HDM, Ornelas-Bernal L, Guido-Jiménez MC, Apresa-García T, Alvarado-Cabrero I, SalcedoVargas et.al. Association between High-risk human papillomavirus DNA load and precursor lesions of cervical cancer in Mexican women. *Ginecol Oncol* 2003; 90(2):310-317.
16. Molden T, Nygard JF et al . Predicting CIN2+ when detecting HPV mRNA and DNA by PreTect HPV- proofer and consensus PCR: a 2- year folloew-up of women with ASCUS o LSIL PAP smear. *Int J Cancer* 2005; 114:973-976.
17. Castellsagué x & Muñoz N. Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis – role of parity, oral contraceptives and tobacco smoking. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003; 31:20-28.
18. Ostor AG (1993). Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int Gynecol Pathol*, 12, 186-92.
19. Kim SM, Lee JU, Lee DW, Kim MJ, Lee HN (2011). The prognostic significance of P16, Ki-67, P63, and CK17 expression determined by

- immunohistochemical staining in cervical intraepithelial neoplasia 1. Korean J Obstet Gynecol, 54, 184-91.
20. Cuschieri Ks, Whitley MJ & Cubie HA. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence implications for cervical disease progression and monitoring. J Med Virol 2004; 73:65-70
 21. Srisomboon J (2004). Cervical cancer: Diagnosis and Treatment. Bangkok, P.B. Book center.
 22. Lambert AF, Anshau F, Schmitt (2006). P16 expression in cervical premalignant and malignant lesions. Exp Mol Pathol, 80, 192-6.
 23. Evanthia A, Kostopoulou and George Koukoulis (2012). Immunohistochemistry in the diagnosis of squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix. Human Papillomavirus and Related Diseases. A Clinical Perspective, Dr. Davy Vanden Broeck (Ed.): InTech, 41-64.
 24. Brown CA, Bogers J, Sahebali S, et al (2012). Role of Protein biomarkers in the detection of high-grade disease in cervical cancer screening programs. J Oncol, 1-11.
 25. Tae Hun Kim et al. Clinical Implication of p16, Ki-67, and Proliferating Cell Nuclear Antigen Expression in Cervical Neoplasia: Improvement of Diagnostic Accuracy for High-grade Squamous Intraepithelial Lesion and Prediction of Resection Margin Involvement on Conization Specimen Journal of Cancer Prevention 2015;20:70-7
 26. McCluggage WG, Bharucha H, CAughley LM et al. Interobserver variation in the reporting of cervical colposcopic biopsy specimens: comparison grading systems. J Clin Pathol 1996;49:833-835
 27. Dongmei Wu et al. Prediction of residual/recurrent disease by HPV Genotype after loop excision procedure for high-grade cervical intraepithelial neoplasia with negative margins. Australian and New Zealand journal of Obstetrics and Gynecology 2011;51:114-118
 28. Menghan Zhu, Yuan He, Jan PA Baak, Xianrong Zhou, Yuqing Qu, Long Sui, Weiwei Feng, Qing Wang. Factors that influence persistence or recurrence of high-grade squamous intraepithelial lesion with positive margins after the loop electrosurgical excision procedure: a retrospective study. BMC Cancer. 2015; 15: 744.

29. Yusuke Tanaka, Yutaka Ueda et al. Predictors for recurrent/persistent high-grade intraepithelial lesions and cervical stenosis after therapeutic conization: a retrospective analysis of 522 cases. *Int J Clin Oncol.* 2017;17:1124
30. G. Valasoulis, G. Koliopoulos et al. Alterations in human papilloma virus-related biomarkers after treatment of cervical intraepithelial neoplasia. *Gynecologi Oncology* 2011;121:43-48
31. Manhart Le, Koutsky LA. Do condoms prevent genital HPV infection, external genital wart, or cervical neoplasia. A meta-analysis. *Sex Transm Dis* Nov 2002;29(11):725-35.
32. Winer RL, Hughes JP et al. Condom use and the risk of genital human papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* Jun 22 2006;354:2645-54.
33. Vacarella S, Franceschi S et al. Sexual behavior, condom use, and human papillomavirus : pooled analysis of the IARC human papillomavirus prevalence surveys. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2006;15(2):326-33.
34. International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer. Cervical cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data for 16573 women with cervical cancer and 35 509 women without cervical cancer from 24 epidemiological studies. *Lancet* 2007;370(9509):1609-1621
35. Bicho MC, Pereira da Silva A, Matos A, Medeiros SR, Diamantino BM. Sex steroid hormones influence the risk for cervical cancer: modulation by haptoglobin genetic polymorphism. *Cancer Genet Cytogenet* 2009;191(2):85-89.
36. Singh DK, Anastos K, Hoover DR, Burk RD, Shi Q, Ngendahayo L, Mutimura E, Castle P. Human papillomavirus infection and cervical cytology in HIV-infected and HIV-uninfected Rwandan women. *J Infect Dis* 2009;199(12):1851-1861. Texto libre: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2814215/>

37. Moscicki AB, Ma Y, Wibbelsman C et al. Rate of and risks for regression of cervical intraepithelial neoplasia 2 in adolescents and young women. *Obstet Gynecol* 2010; 116: 1373–1380
38. Moscicki AB, Shiboski S, Hills NK et al. Regression of low-grade squamous intra-epithelial lesions in young women. *Lancet* 2004; 364: 167–883.
39. Cox JT, Schiffman M, Solomon D, & ASCUS-LSIL Triage Study (ALTS) Group. Prospective follow-up suggests similar risk of subsequent cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 among women with cervical intraepithelial neoplasia grade 1 or negative colposcopy and directed biopsy. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188: 1406–1412.
40. Goldie SJ, Kohli M, Grima D et al. Projected clinical benefits and cost-effectiveness of a human papillomavirus 16/18 vaccine. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 604–615.
41. Castle PE, Schiffman M, Wheeler CM & Solomon D. Evidence for frequent regression of cervical intraepithelial neoplasia grade 2. *Obstet Gynecol* 2009; 113: 18–25.
42. Satoru Ozaki, Yoh Zen et al. Biomarker expression in cervical intraepithelial neoplasia: potential progression predictive factors for low-grade lesions. *Human Pathology* 2012;42:1007-1012
43. Volgareva G, Zavalishina L, Andreeva Y, et al (2004). Protein p16 as a marker of dysplastic and neoplastic alterations in cervical epithelial cells. *BMC Cancer*, 4, 58.
44. Wang SS, Trunk M, Schiffman M, et al (2004). Validation of p16INK4a as a marker of oncogenic human papillomavirus infection in cervical biopsies from a population-based cohort in Costa Rica. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 13, 1355-60
45. Murphy N, Ring M, Heffron CC, et al (2005). P16INK4A, CDC6, and MCM5: predictive biomarkers in cervical preinvasive neoplasia and cervical cancer. *J Clin Pathol*, 58, 525-34

46. Benevolo M, Mottolese M, Marandino F, Vorcaturo G (2006). Immunohistochemical expression of p16 is predictive of HR-HPV infection in cervical low-grade lesions. *Mod Pathol*, 19, 384-91
47. Ishikawa M, Fujii T, Saito M, et al (2006). Overexpression of p16INK4a as an indicator for human papillomavirus oncogenic activity in cervical squamous neoplasia. *Int J Gynecol Cancer*, 16, 347-53.
48. Queriroz C, Silva TC, Venancio AF (2006). P16 expression as a potential prognostic marker in cervical pre-neoplastic and neoplastic lesion. *Pathol Res Pract*, 202, 77-83.
49. Hariri J, Oster A (2007). The negative predictive value of p16 to assess the outcome of cervical intraepithelial neoplasia 1 in the uterine cervix. *Int J Gynecol Pathol*, 26, 223-8.
50. Aslani FS, Safaei A, Pourjabali M, Momtahan M (2013). Evaluation of Ki67, P16 and CK17 markers in differentiating cervical intraepithelial neoplasia and benign lesions. *Iran J Med Sci*, 31, 15-21
51. Kruse AJ, Baak JP, Janssen EA et al. Low- and high-risk CIN 1 and 2 lesions: prospective predictive value of grade, HPV, and Ki-67 immunohistochemical variables. *J Pathol* 2003; 199: 462–470.
52. Kruse AJ, Baak JP, de Bruin PC et al. The HS. Ki-67 immunohistochemical quantitation in cervical intraepithelial neoplasia (CIN): a sensitive marker for grading. *J Pathol* 2001; 193: 48–54.
53. Pirog EC, Baergen RN, Soslow RA et al. Diagnostic accuracy of cervical low-grade squamous intraepithelial lesions is improved with MIB-1 immunohistochemical staining. *Am J Surg Pathol* 2002; 26: 70–75.
54. Kruse AJ, Baak JP, Janssen EA et al. Ki67 predicts progression in early CIN: validation of a multivariate progression-risk model. *Cell Oncol* 2004; 26: 13–20
55. Tae Hun Kim, Jee Hye Han, Eun Shin, Jae Hong Noh, Hee Seung Kim, Yong Sang Song. Clinical Implication of p16, Ki-67,

and Proliferating Cell Nuclear Antigen Expression in Cervical Neoplasia: Improvement of Diagnostic Accuracy for High-grade Squamous Intraepithelial Lesion and Prediction of Resection Margin Involvement on Conization Specimen. *J Cancer Prev.* 2015 Mar; 20(1): 70–77

56. Pingping Zhong, et al. P16 and Ki-67 expression improves the diagnostic accuracy of cervical lesions but not predict persistent high risk human papillomavirus infection with CIN1. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015; 8(3): 2979–2986.

57. Daliana Caldas Silva Ana Katherine G. et al. Immunohistochemical expression of P16, ki 67 and P53 cervical lesions- A systematic review. *Pathology- Research and Practice* 201;213:723-729.