

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Medicina



DIVISIÓN DE ESTUDIOS SUPERIORES

HOSPITAL GENERAL DEL ESTADO DE SONORA "DR. ERNESTO RAMOS BOURS"

**“VARIABILIDAD EN LA INTERPRETACIÓN ENTRE DOS OBSERVADORES DE
BIOPSIAS Y CONOS DE CÉRVIX CON DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO
PREVIO DE NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL”**

T E S I S

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA ESPECIALIDAD EN

ANATOMÍA PATOLÓGICA

PRESENTA:

DR. JESÚS ESTEBAN PERAL SÁNCHEZ

RESIDENTE DE TERCER AÑO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA

ASESORES

MÉDICO: DR. MINOR RAÚL CORDERO BAUTISTA

METODOLÓGICO: M.C. NOHELIA G. PACHECO HOYOS

HERMOSILLO, SONORA 2014



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.

FIRMAS DE AUTORIZACIÓN

DR. FRANCISCO RENÉ PESQUEIRA FONTES
DIRECTOR GENERAL
Hospital General del Estado de Sonora
Tel. (662) 259-25-00
rpesqui@gmail.com

DR. JORGE ISAAC CARDOZA AMADOR
DIRECTOR MÉDICO
Hospital General del Estado de Sonora
Tel. (662) 259-25-00
jicardoza@hotmail.com

DRA. CARMEN A. ZAMUDIO REYES
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ENSEÑANZA E
INVESTIGACIÓN
Hospital General del Estado de Sonora
Tel. (662) 259-25-00
ensenanzahge@hotmail.com

DR. ROBERTO DE LEÓN CABALLERO
JEFE DEL SERVICIO DE PATOLOGÍA
Hospital General del Estado de Sonora
Cel. (662) 1240721
deleon.cpa@prodigy.net.mx

DR. MINOR RAÚL CORDERO BAUTISTA
ANATOMOPATÓLOGO
ASESOR MÉDICO DE TESIS
Hospital General del Estado de Sonora
Cel. (662) 2565416
minorcb@gmail.com

M.C. NOHELIA G. PACHECO HOYOS
ASESOR DE TESIS DE LA DIVISIÓN DE
ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN
Hospital General del Estado de Sonora
Tel. (662) 259-25-00, Cel. (662) 113-32-49
noheliapachecoh@gmail.com

DR. JESÚS ESTEBAN PERAL SÁNCHEZ
RESIDENTE DE TERCER AÑO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA
Hospital General del Estado de Sonora
Tel. (662) 2877266
estebanperal@hotmail.com

AGRADECIMIENTOS

Dedico este trabajo a mis padres, Manuela Isabel Sánchez Leyva y José Esteban Peral Cota, gracias a ustedes me aproximo a otro logro más, siempre estarán presentes en mi mente y corazón.

A mis hermanos, Graciela Isabel Peral Sánchez y José Antonio Peral Sánchez, les debo en gran parte la persona que soy hoy en día y sin ellos no estaría donde me encuentro.

Con gratitud, respeto y admiración a mis maestros, Dr. Roberto de León Caballero, Dr. Minor Raúl Cordero Bautista, Dra. Emma Ruíz López y Dra. Irma Leticia León Duarte. Les agradezco la oportunidad de cursar 3 años junto a ustedes llenos de aprendizaje, regaños y por encima de todo, alegría.

A la Dra. Irazú Pérez Moreno, amiga y compañera de trabajo que me demostró su apoyo incondicional a través de los años.

De la misma manera agradezco al Químico, Omar Ríos Méndez, y a las histotecnólogas Cruz, Sary y Maryloly. Todos ellos laboran en nuestro departamento y se convirtieron en una segunda familia durante mi estancia en él.

El siguiente trabajo fue llevado a cabo en el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital General Del Estado de Sonora “Dr. Ernesto Ramos Bours” bajo la supervisión del Dr. Minor Raúl Cordero Bautista durante mi posgrado en la especialidad de Anatomía Patológica en el periodo 2012-2015.

ÍNDICE

Introducción.....	6
1. MARCO TEÓRICO	
Embriología del útero.....	8
Anatomía del cérvix uterino.....	10
Descripción histológica del cérvix uterino.....	11
Lesiones intraepiteliales cervicales.....	14
2. MATERIALES Y MÉTODOS	
Planteamiento del problema.....	22
Justificación.....	22
Objetivos.....	23
Diseño del estudio.....	23
Universo a estudiar.....	24
Criterios de inclusión.....	24
Criterios de exclusión.....	24
Descripción general del estudio.....	25
Análisis estadístico.....	25
Variables del estudio.....	26
Consideraciones éticas y prevención de riesgos.....	26
3. RESULTADOS.....	
4. DISCUSIÓN.....	
5. CONCLUSIONES.....	
6. BIBLIOGRAFÍA.....	

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, el cáncer cérvico uterino es la segunda causa de muerte por neoplasias malignas en la mujer. Sin embargo, gracias a la citología y a la histopatología se le puede detectar tempranamente y tratar oportunamente, reduciendo el impacto de esta enfermedad.

Según la Organización Mundial de la Salud, el cáncer cérvico uterino (CaCu) es la segunda mayor causa de mortalidad femenina por cáncer en todo el mundo, con unas 300.000 muertes al año. El 80% de los casos corresponden a los países en vías de desarrollo y cerca de 500 000 casos nuevos se presentan cada año. En México, en el año 2002, se presentaron 12, 512 nuevos casos de CaCu, de los cuales 5, 777, el 46% de los casos, fueron decesos (López y Lizano, 2006).

La mayoría de las mujeres que desarrollan este cáncer tienen entre 40 y 50 años de edad. Sin embargo, cada vez es más común ver mujeres jóvenes infectadas, que a edades de 20 y 30 años se les diagnostica cáncer cérvico uterino. ¹

Es casi un hecho que todos los tipos histológicos de CaCU están de alguna forma relacionados con los virus del papiloma humano (VPH), existiendo más de 100 tipos de estos últimos y que ocasionan hiperproliferación de células que en cérvix se manifiestan como verrugas, condilomas e incluso carcinoma epidermoide. Casi el 90% del riesgo a desarrollar neoplasias cervicales se atribuye a la infección por VPH, siendo los cambios por estos virus la primera manifestación citológica de la llamada neoplasia intraepitelial cervical, observándose en hasta 5% de todas las pruebas de Papanicolaou realizadas con el fin de prevenir su progresión (Stoler, 2003). En la actualidad existen cerca de 30 subtipos de VPH los que ocasionan lesiones anogenitales y de estos el número 16 es el más prevalente del cérvix uterino. ²

Una vez que se demuestra la infección por VPH, la neoplasia cervical sigue un conjunto de pasos en su progresión a partir de lesiones pre invasoras que pueden ser detectadas en los métodos de tamizaje a base de citología y biopsias cervicales por medio de diferentes sistemas de clasificación, siendo posible su curación con escisión quirúrgica en las fases tempranas de la enfermedad.

Debido a esto, la detección de dichas lesiones es crucial para el tratamiento adecuado de las pacientes. Aun así, los médicos encargados del diagnóstico, los patólogos, se enfrentan a múltiples dificultades al momento de la revisión de tejido cervical, sobre todo al momento de distinguir entre los diferentes tipos de lesión descritos en los sistemas de clasificación. Lo anterior se debe a que el sobrediagnóstico de lesiones malignas tiene importantes implicaciones clínicas que pueden ocasionar estrés físico y psicológico en las pacientes, así como la pérdida de recursos económicos, materiales y humanos.

3

El reconocimiento de esta situación ha llevado a esfuerzos por disminuir la variabilidad por medio de diferentes biomarcadores capaces de otorgar mayor reproductibilidad al diagnóstico histopatológico, incluyendo Ki-67 y p16, con importancia no sólo para las pacientes, también para el desarrollo de nuevos métodos en el diagnóstico certero de carcinoma cérvico uterino. ⁴

Usualmente el diagnóstico se formula aplicando criterios bien establecidos pero también puede ser influenciado por diagnósticos previos, por lo que siempre existe una presión constante sobre el observador debido a los riesgos de su decisión propicie al subtratamiento de una lesión que muy probablemente se convertirá en carcinoma con el paso del tiempo. Además de esto, la revisión de muchos casos en un periodo corto de tiempo es tedioso y cansado. ⁵

Todos estos factores contribuyen a que, incluso entre patólogos experimentados, el acuerdo interobservador sea pobre en la interpretación de

biopsias cervicales. En gran parte se debe a que tanto los citopatólogos como los histopatólogos hacen observaciones subjetivas (y no objetivas) en base a los hallazgos en la laminilla que se les proporcione.

El presente estudio permitirá conocer la variabilidad interobservador de biopsias cervicales con diagnóstico histopatológico previo de malignidad, así como valorar el uso de los marcadores p16 y Ki-67 como auxiliares en el acuerdo diagnóstico de estas.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Embriología del útero

Las células germinales primordiales se originan en la pared del saco vitelino en la cuarta semana de gestación; en la quinta o sexta semana emigran a la cresta urogenital. A continuación se produce una proliferación del epitelio mesodérmico de la cresta urogenital, lo que en último término produce el epitelio y el estroma de la gónada. Las células germinales en división – de origen endodérmico- se incorporan a estas células epiteliales en proliferación para formar el ovario. Si las células germinales no consiguen desarrollarse puede producirse una ausencia de ovarios o una insuficiencia ovárica prematura.

Un segundo componente del desarrollo del tracto genital femenino es el conducto mülleriano. Aproximadamente en la sexta semana, una invaginación y posterior fusión del epitelio de revestimiento celómico forma los conductos müllerianos (o paramesonéfricos) laterales. Los conductos müllerianos crecen progresivamente en dirección caudal para penetrar en la pelvis, donde se deslizan medialmente para fusionarse con el seno urogenital en el trabéculo mülleriano. Un posterior crecimiento en sentido caudal hace que estos conductos fusionados se pongan en contacto con el seno urogenital, formado cuando la cloaca se subdivide por el tabique uorrectal.

En último término el seno urogenital se convierte en el vestíbulo de los genitales externos (Figura 1). Normalmente, las porciones no fusionadas maduran y forman las trompas de Falopio, y la porción caudal fusionada se desarrolla y forma el útero y la parte superior de la vagina, mientras que el seno urogenital forma la porción inferior de la vagina y el vestíbulo. En consecuencia, la totalidad del revestimiento del útero y de las trompas, así como de la superficie ovárica, derivan en último término del epitelio celómico (mesotelio).

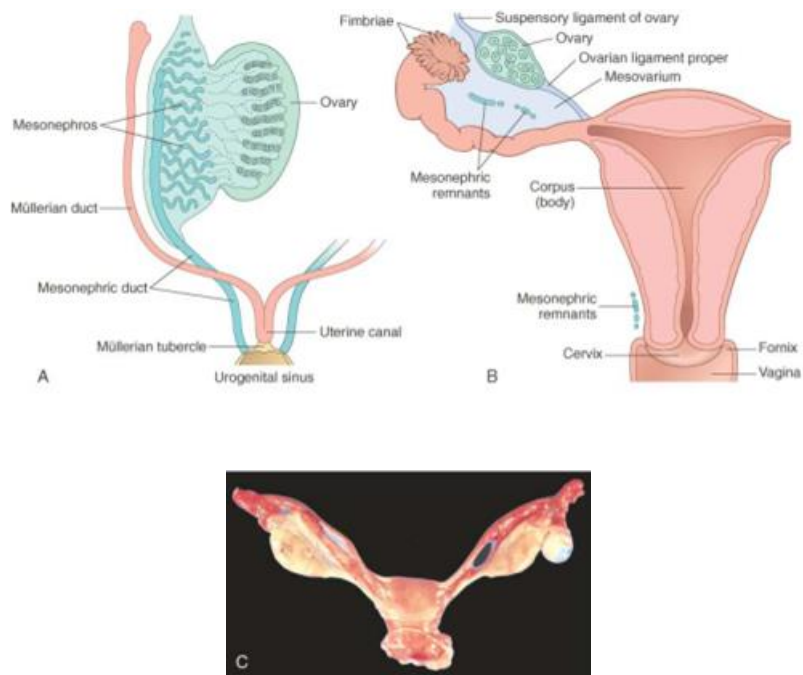


Figura 1. A. Embriología de útero y anexos; B. Útero y anexos completamente formados. C. Fotografía de útero y anexos.

El epitelio de la vagina, cuello uterino y tracto urinario se forma por inducción de las células basales a partir del estroma subyacente, que sufre una diferenciación escamosa y urotelial. Una porción de estas células permanece sin cometido, formando las células de reserva del cuello uterino. Estas son capaces de diferenciación en células escamosas y cilíndricas. ⁶

1.2 Anatomía del cérvix uterino.

El útero tiene tres regiones anatómica y funcionalmente distintas: el cuello uterino, el segmento uterino inferior y el cuerpo. El cuello uterino se subdivide a su vez en porción vaginal (exocérvix) y endocérvix. Esta porción es visible a simple vista en la exploración vaginal y se halla cubierta por epitelio escamoso estratificado no queratinizado continuo con la cúpula vaginal. El epitelio escamoso converge centralmente en un pequeño orificio denominado *orificio externo* (Coltran, Kumar y Robbins, 2004).

En la mujer nulípara este orificio se halla virtualmente cerrado. Inmediatamente por encima de este orificio se encuentra el endocérvix, que se halla revestido por un epitelio cilíndrico mucosecretor que se invagina en el estroma subyacente para producir criptas (Coltran, Kumar y Robbins, 2004).

El punto en el que se unen el epitelio escamoso y el mülleriano cilíndrico es la unión escamocilíndrica (Figura 2). La posición de la unión es variable debido tanto a la anatomía cervical como a la distribución de las células basales y de reserva subcilíndricas que existen inmediatamente por encima de esta unión (Figura 3). La microanatomía de esta región está gobernada por la progresiva diferenciación de células basales (de reserva), lo que da lugar en último término a la migración en sentido craneal de la unión escamocilíndrica. La porción del epitelio cilíndrico que se ve reemplazada finalmente por epitelio escamoso se denomina “zona de transformación” en donde se desarrollan las lesiones precancerosas y los carcinomas escamosos. ⁶

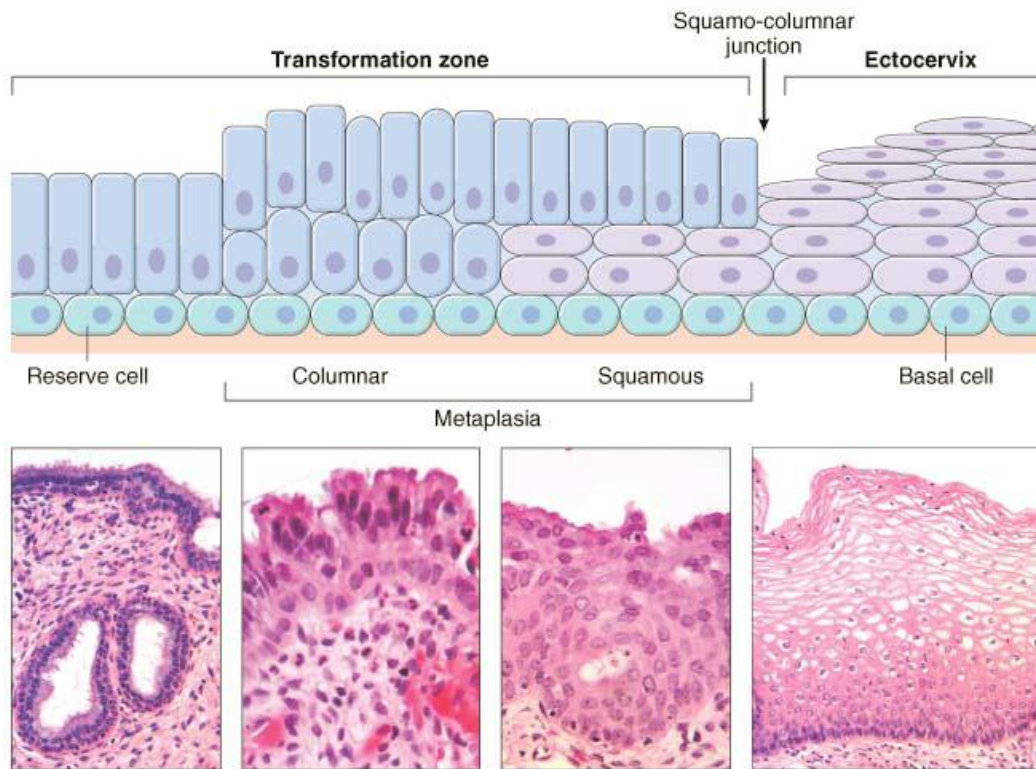


Figura 2. Zona de transformación de epitelio columnar a escamoso en la unión exoendocervical.

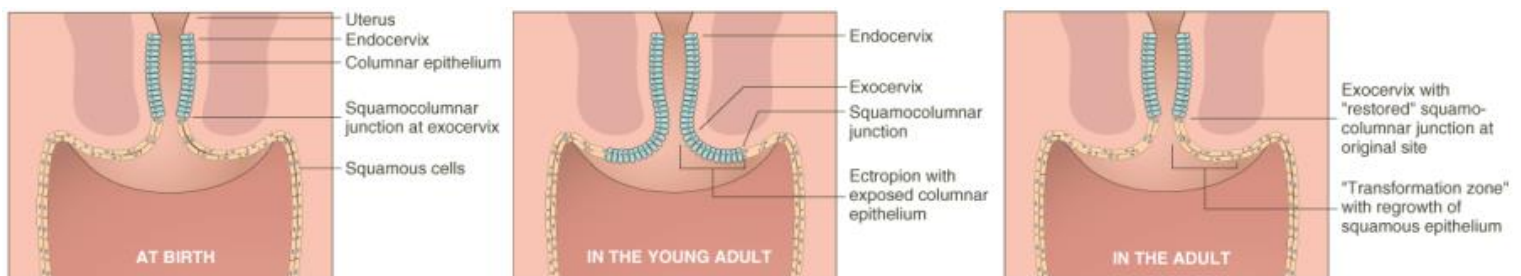


Figura 3. Zona de transición del epitelio exocervical a epitelio endocervical y su localización conforme a edad.

1.3 Descripción histológica del cérvix uterino

1.3.1 Epitelio exocervical

El epitelio escamoso que reviste al exocérvix es no queratinizado en condiciones normales, crece, madura y acumula glucógeno en sus capas superiores en respuesta a estrógenos circulantes, principalmente el estradiol.

El epitelio escamoso cervical con estímulo estrogénico en mujeres sexualmente maduras se divide en tres capas: la capa basal/parabasal, la zona media (o estrato esponjoso) y la capa superficial.

La capa basal se compone de células con citoplasma escaso y núcleos ovales o cuboidales con cromatina densa. Estas células usualmente no presentan actividad mitótica y no se tiñen con marcadores inmunohistoquímicos de proliferación celular como el Ki-67.

Las células inmediatamente superiores a la capa basal componen a la porción inferior de la zona media y se conocen como células parabasales, las cuales son de mayor tamaño que las células basales y la cromatina es menos densa; en contraste con las células de la capa basal, usualmente se observan mitosis normales y en cantidad moderada.

La zona media está compuesta por células de citoplasma más abundante y de núcleos pequeños y vesiculares, éstas son conocidas como células intermedias. El glucógeno se acumula en el citoplasma de la mayoría de estas células lo que le da una apariencia finamente granular o clara.

Las células superficiales son de núcleos pequeños, redondos, regulares y picnóticos y el citoplasma es abundante y claro como resultado de la acumulación de glucógeno (Figura 4).

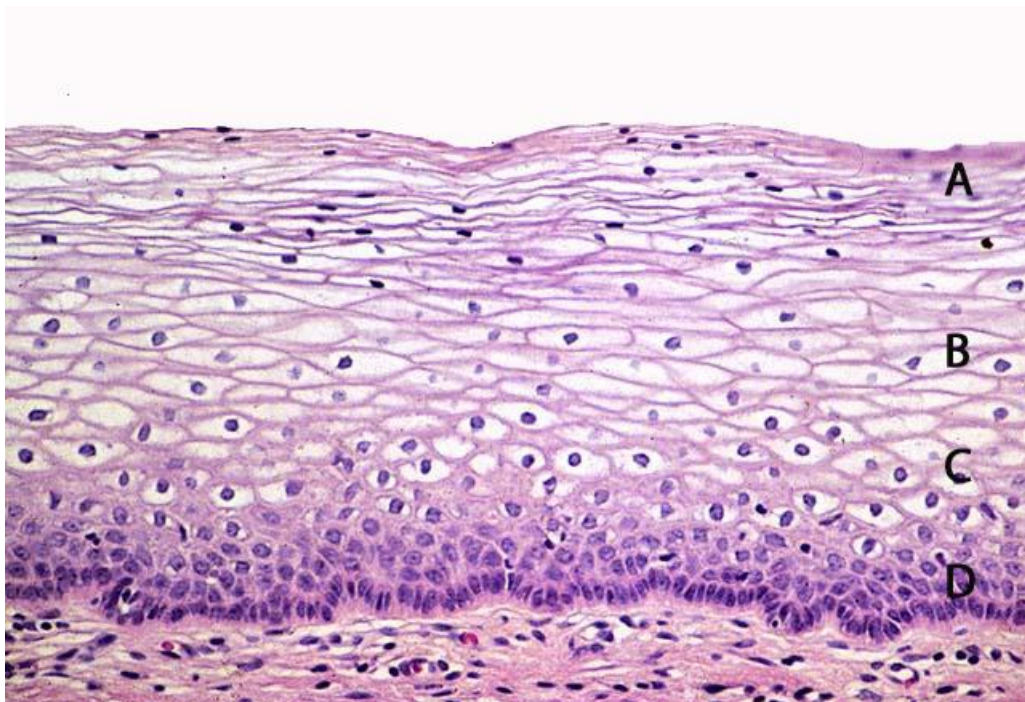


Figura 4. Capas del exocérnix. A. Superficial; B. Media; C. Parabasal; D. Basal.

Tanto como en las células superficiales como en las intermedias, ocurre queratinización, lo que le da la apariencia plana cuando se realizan frotis (Figura 5).

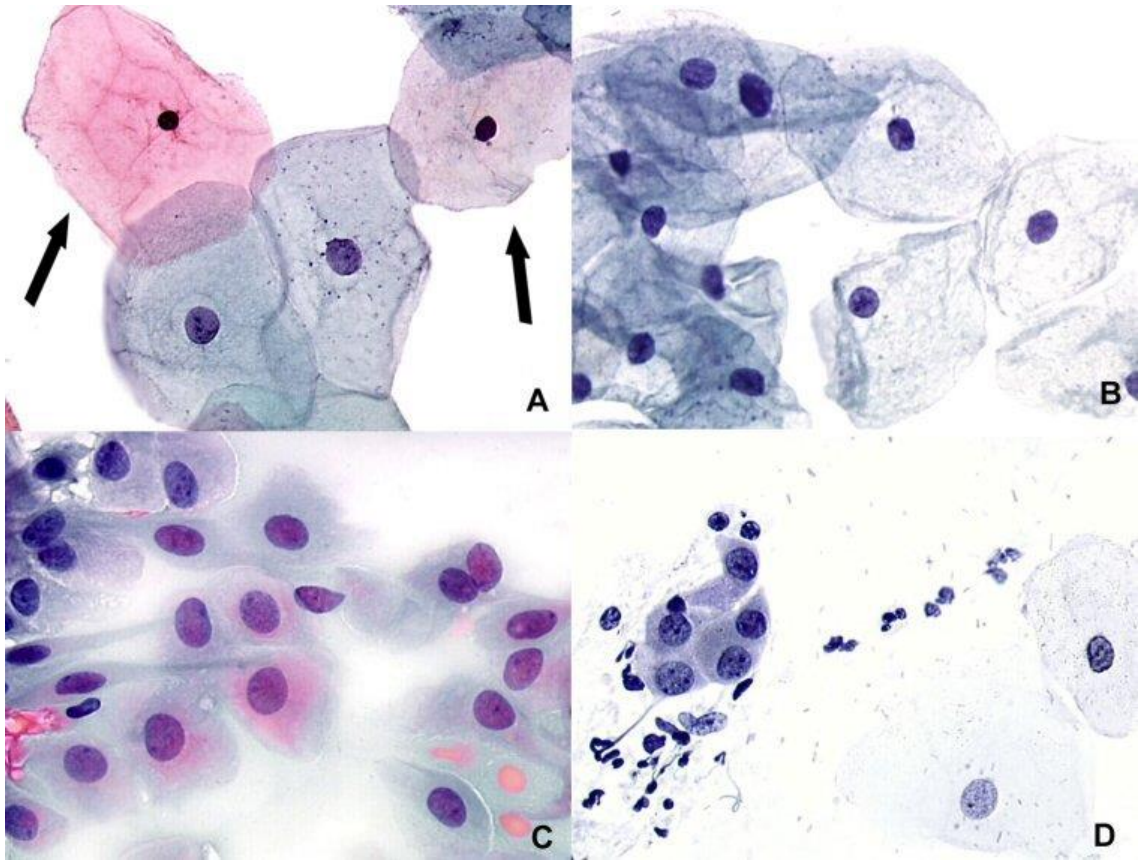


Figura 5. Diferentes tipos de células exocervicales en frotis citológico teñido con técnica de Papanicolau. A. Células superficiales; B. Células intermedias; C. Células parabasales; D. Células metaplásicas.⁸

Debido a que la acumulación de glucógeno es perinuclear en células superficiales e intermedias es frecuente la confusión con células coilocíticas cuya característica es la presencia de una zona clara alrededor del núcleo, pero además, los núcleos son de mayor tamaño y de membrana nuclear irregular (Figura 6).

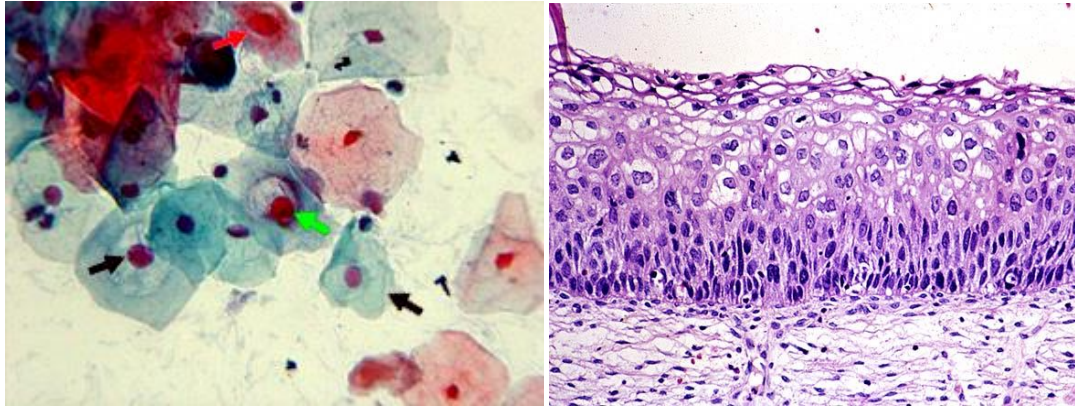


Figura 6. Células coilocíticas en frotis citológico (izquierda) y en sección histológica (derecha).

1.3.2 Epitelio endocervical

El endocérnix se encuentra revestido por una sola capa de epitelio columnar secretor de moco, con núcleos basales y pequeños, generalmente alargados y de cromatina densa, en ocasiones con apariencia de pseudoestratificación. Cuando el epitelio endocervical ha sido dañado y se encuentra el proceso de regeneración, los núcleos pueden aparecer de mayor tamaño pero las mitosis son raras. El epitelio endocervical no sólo reviste la superficie del canal endocervical, sino que se invagina y repliega en el estroma subyacente formando glándulas.⁷

1.4 Lesiones intraepiteliales cervicales

La terminología de las lesiones intraepiteliales cervicales ha ido cambiando con el tiempo, pero las bases son las siguientes: 1. La mayor parte de los carcinomas cervicales son precedidos por un estadio en que las células anormales se encuentran confinadas al epitelio; 2. Estas lesiones intraepiteliales comparten muchas de las características citológicas de la etapa invasora, manifestada principalmente por agrandamiento, irregularidad e hiperchromasia nuclear, actividad mitótica elevada y alteración en el patrón de maduración, también se observa disminución en la cantidad de glucógeno citoplasmático, siendo esta la causa de la ausencia de reacción en la prueba de Schiller; 3. Entre estas lesiones existe un rango continuo de anomalías

morfológicas, las cuales pueden indicar la posibilidad o no de progresión a carcinoma si se dejan sin tratar; ⁴. En la gran mayoría de los casos, el proceso no afecta al epitelio escamoso nativo del exocérvix, sino a áreas de metaplasia escamosa en la unión exoendocervical, prácticamente siempre involucra al epitelio de superficie, así como a los elementos glandulares, pero por definición no muestra invasión estromal. Por lo general, los límites son definidos y la extensión puede ser variable; puede extenderse hacia el canal cervical y/o hacia las paredes vaginales; ⁵. Los criterios microscópicos para el diagnóstico de estas lesiones son los mismos independientemente de las circunstancias de la paciente.

Las lesiones precancerosas cervicales se han clasificado de muchas maneras. El sistema más antiguo es el de displasia/carcinoma in situ, con la displasia leve en un extremo y la displasia severa/carcinoma en el otro. Otra clasificación es la de *neoplasia intraepitelial cervical* (NIC), en las que las displasias leves se denominan NIC de grado I, y las lesiones de displasia severa NIC de grado III. Aún otro sistema de clasificación reduce las entidades a dos, denominándolas como lesiones intraepiteliales de bajo y de alto grado.

En el extremo más bajo del espectro, se hallan las lesiones que con frecuencia son indistinguibles histológicamente de los condilomas acuminados y pueden tener un aspecto elevado o macular (condiloma plano). Estas lesiones exhiben típicamente un aumento del tamaño nuclear e hiper cromasia en las células epiteliales superficiales, lo que significa los efectos de la replicación vírica activa en las células en maduración (efecto citopático vírico). Los cambios nucleares pueden acompañarse de halos citoplasmáticos (atipia coilocítica), con hiperplasia de las células basales hasta el primer tercio y leve dispolaridad celular del mismo. Tales cambios se sitúan en la gama de NIC I. Con frecuencia, NIC I contiene abundantes ácidos nucleicos de VPH. Las lesiones elevadas (acuminadas) contienen con frecuencia tipos de VPH de bajo riesgo.

Los NIC planos suelen contener tipos de VPH de alto riesgo; sin embargo, la tasa de progresión a cáncer es baja, lo que indica que la secuencia de acontecimientos moleculares requeridos para la progresión de la lesión con frecuencia no sucede o es interrumpida por el sistema inmunitario del huésped.

El siguiente cambio en el espectro, denominado NIC II, consta de la aparición de células atípicas en las capas bajas del epitelio escamoso pero, no obstante, con diferenciación persistente hacia capas de células espinosas y queratinizantes. Las células atípicas muestran cambios en relación núcleo-citoplasma, variación en tamaño nuclear, pérdida de polaridad, aumento de número mitótico e hiperchromasia. Estas características se han asociado con poblaciones de células aneuploides y se correlacionan firmemente con tipos de VPH de alto riesgo. Presumiblemente reflejan cambios tempranos en la población celular en replicación (basal/parabasal) asociados con efectos de los oncogenes E6/E7 sobre el ciclo celular y la estabilidad genómica. Estos comprenden disregulación del ciclo celular y aumento de p16.

A medida que la lesión evoluciona, se denomina NIC III, hay una pérdida progresiva de la diferenciación acompañada de una mayor atipia en más capas del epitelio, hasta quedar totalmente reemplazada por células atípicas inmaduras y sin diferenciación en la superficie (Figuras 7 y 8).

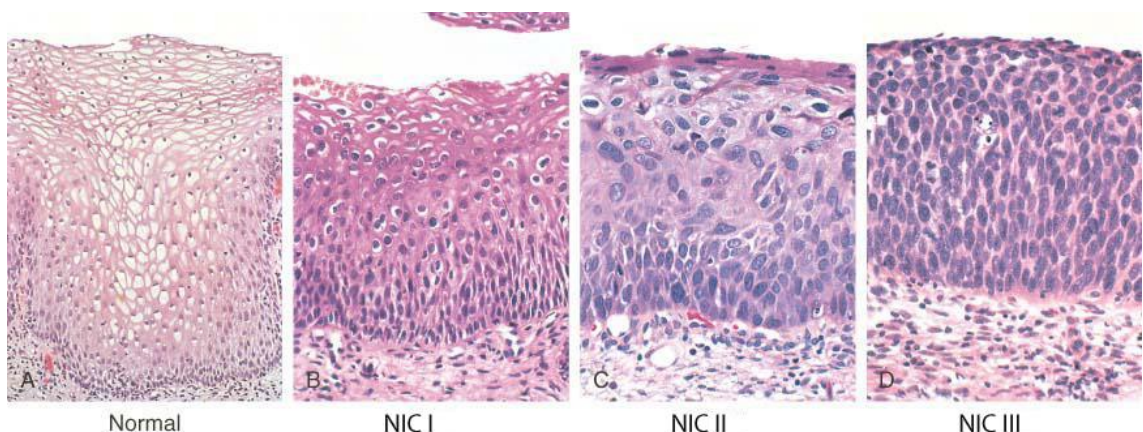


Figura 7. Comparación entre epitelio exocervical normal y con los diferentes grados de NIC.

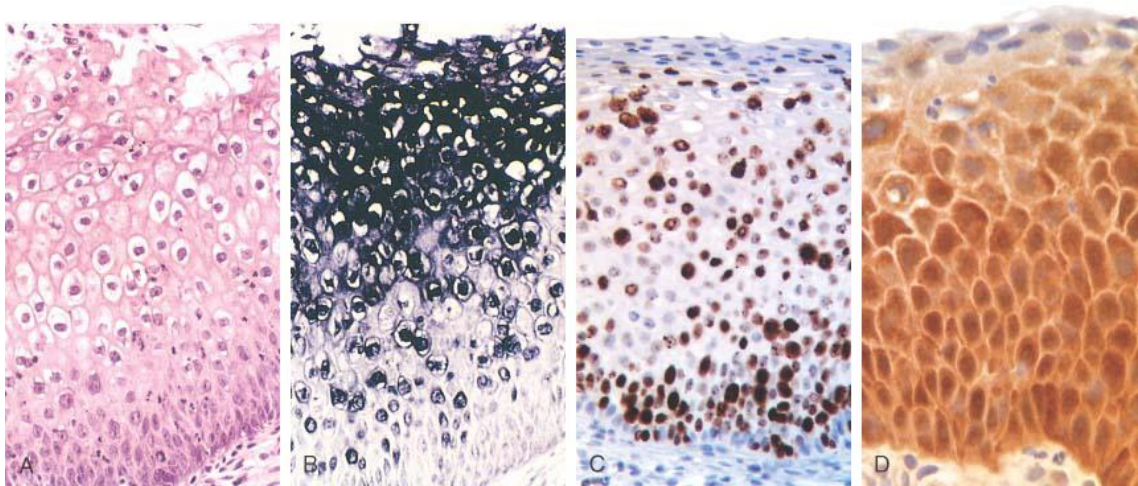


Figura 8. Histología del NIC I con atipia coilocítica demostrable en diferentes tinciones; A. Células coilocíticas en capas superiores del epitelio en tinción con hematoxilina y eosina con halos perinucleares claros y membranas nucleares irregulares; B. Hibridación de ácido nucleico de VPH in situ que demuestra la infección viral en capas superiores del epitelio; C. Inmunotinción difusa para Ki-67, demostrando la disregulación de la proliferación celular; D. Inmunorreacción intensa nuclear con p16 que caracteriza a las infecciones por VPH de alto riesgo.

Cabe mencionar que no todas las lesiones comienzan como condilomas o NIC I, y pueden entrar en cualquier punto de la secuencia dependiendo del tipo de VPH asociado y de otros factores del huésped. Así mismo, las velocidades de progresión no son uniformes. Las lesiones con NIC II y NIC III, constituyen el mayor riesgo de cáncer.⁶

1.4.1 Sistemas de clasificación para lesiones intraepiteliales cervicales

Las clasificaciones para este tipo de lesiones han evolucionado desde que George Papanicolaou en 1954 diseñó el primer sistema de notificación, que incluso en la fecha tiene algunos seguidores, hasta la clasificación más reciente, denominada Sistema Bethesda 2001.

En 1968 la Organización Mundial de la Salud adoptó el denominado sistema “descriptivo” creado por Reagan en 1953, para la clasificación histológica en donde retoma el concepto de “displasia”, que fue adoptado también por la comunidad científica en el Primer Congreso Internacional de

Citología en Viena, Austria (1961), donde se estableció el espectro de anomalías del epitelio cervical con los conceptos de carcinoma invasor, CIS y displasia.

Las lesiones displásicas se subdividieron en leve, moderada y severa o grave, fueron utilizadas en informes de citología e histología, resultando dos problemas fundamentales. Por un lado, el desacuerdo con respecto a cuándo una lesión debía llamarse displasia grave o CIS y por otro lado, el que muchos clínicos asumían que el CIS y la displasia eran dos lesiones biológicamente distintas y su potencial maligno era independiente, quedando en duda el tratamiento en la displasia, además de que la definición de displasia (significa anomalía en el desarrollo de un órgano según el diccionario de la Real Academia Española) a decir de otros era incorrecta para su empleo en los informes diagnósticos.

Para resolver estos problemas Richard en 1967 propuso el término neoplasia intraepitelial cervical (NIC) con tres grados progresivos (I, II y III), incluyendo en el III al CIS, con la ventaja de que se reconocía el espectro de lesiones precursoras de neoplasia, y se relacionaba con el tratamiento. Sin embargo, a pesar de que esta clasificación fue popular durante más de 20 años e incluso en la actualidad sigue siendo usada por muchos clínicos,¹¹ fue criticada por la baja seguridad diagnóstica en la parte menos severa del espectro originada por gran variabilidad “inter-observador e intraobservador”, por lo que se sugirió que se estableciera un sistema binario constituido por un grupo con cambios morfológicos de atipia discretos, y otro con cambios acentuados.

Lo anterior, aunado a los avances en el conocimiento del papel que juega el virus del papiloma humano (VPH) en la carcinogénesis cervical, motivó la reunión de representantes de organismos internacionales, científicos y profesionales en el Instituto Nacional de Cáncer de Estados Unidos en Bethesda Maryland, en 1988,12-15 coordinados por Robert Kurman y Diane Salomón, resultando la clasificación binaria compuesta por Lesiones

intraepiteliales escamosas de bajo y alto grado (LIEBG y LIEAG respectivamente), concepto que no se limita al cérvix sino que puede aplicarse a cualquier anomalía de los genitales inferiores y que se justifica por el alto índice de regresión espontánea en las LIEBG y la posibilidad de progresión a cáncer invasor en las LIEAG, fue revisada en 1991 con modificaciones mínimas y actualizada el año 2001. La LIEBG incluye NIC-I y la infección por VPH y la LIEAG incluye NIC II y III y CIS, utilizando el concepto de “lesión” en lugar de neoplasia, que aunque significa “cualquier daño” (de manera poco específica), es usado para resaltar el potencial biológico incierto de las alteraciones morfológicas que describe.

Cuadro 1. Comparación de las distintas clasificación de lesiones precursoras de la neoplasia del cérvix
Tomado de López, Hernández, Gutiérrez y Platón, 2006

Papanicolaou (1954)	OMS (1968)	Richard (1978)	Bethesda (1988)	Bethesda (2001)
Clase 1 (Benigno)	Negativo a células malignas	Negativo	Dentro de límites normales	Negativo para lesión intraepitelial
Clase 2 (metaplasia/displasia)	Atipia inflamatoria Atipia escamosa Atipia coilocítica		Cambios reactivos ASCUS LIEBG	Cambios reactivos ASC-US/H LIEBG
Clase 3 (sospechoso)	Displasia leve	NIC I	LIEBG	LIEBG
	Displasia moderada	NIC II	LIEAG	LIEAG
	Displasia severa	NIC III	LIEAG	LIEAG
Clase 4 (positivo a malignidad)	Carcinoma in-situ	NIC III	LIEAG	LIEAG
Clase 5 (positivo a invasor)	Carcinoma invasor	Carcinoma invasor	Carcinoma invasor	Carcinoma invasor

Las clasificaciones antes descritas están basadas en la histología, excepto la de Papanicolaou que se creó con base a morfología citológica, por lo que no son equivalentes. Sin embargo, es conveniente hacer el ejercicio de comparación (Cuadro 1) de todas ellas, para confirmar que todas intentan establecer los límites entre cada una de las lesiones precursoras de neoplasia, de acuerdo con la información disponible sobre su etiopatogenia y morfología en el momento de su implementación.⁹

1.4.2 Variabilidad interobservador en las lesiones intraepiteliales cervicales

La interpretación histopatológica de las neoplasias intraepiteliales cervicales es subjetiva y propensa a variaciones considerables. Esto está documentado en numerosos estudios encargados de investigar variabilidad intra e interobservador dentro de un grupo de patólogos encargados de valorar biopsias cervicales. En general, el acuerdo entre patólogos es excelente para las lesiones invasoras, moderadamente bueno para NIC 3 y pobre para NIC1/2. El reconocimiento de esta variabilidad ha llevado a esfuerzos para identificar biomarcadores capaces de brindar mayor reproductibilidad al momento de distinguir entre epitelio normal y lesiones intraepiteliales cervicales, así como reducir la variabilidad en la gradificación de las mismas.

Un número de marcadores biológicos potencialmente útiles para el diagnóstico ha sido identificado usando métodos convencionales de inmunohistoquímica, incluyendo la expresión aumentada de Ki-67. Uno de los biomarcadores más prometedores es p16, un inhibidor de quinasa dependiente de ciclinas que está en relación directa con el control del ciclo celular. La expresión intracelular de p16 se incrementa después de la unión con el VPH de alto riesgo; como prácticamente todos los carcinomas cérvico uterinos están relacionados con VPH de alto riesgo, no es de sorprender que exista un aumento en la expresión de éste en la neoplasia inducida por VPH.

Diversos estudios han demostrado también que la expresión de p16 en el epitelio normal es muy infrecuente, que una proporción de lesiones NIC 1 son positivas y una mayor lo son en NIC2; por otro lado la gran mayoría de lesiones NIC 3 serán positivas a p16. Incrementar la certeza del diagnóstico histopatológico de neoplasias intraepiteliales cervicales es importante no sólo para el cuidado de los pacientes, también para desarrollar nuevos métodos de tamizaje de CaCu. Desafortunadamente, los estándares de oro que se utilizan para evaluar ésta entidad (estudio histopatológico y citopatológico) son imperfectos y tienden a clasificar erróneamente a algunos pacientes. ⁴

Ki-67 es una proteína de proliferación celular que se expresa en todas las fases del ciclo celular, excepto en G0. Esta proteína tiene la función de crecimiento en los tumores humanos y su expresión puede sugerir el grado de malignidad de una lesión. Algunos estudios han demostrado que la positividad por inmunohistoquímica de Ki-67 demuestra el incremento de proliferación celular en las lesiones intraepiteliales de bajo y alto grado, permitiendo diferenciarlas.¹⁰

En 2009, Paolo Dalla Palma y colaboradores evaluaron la reproductibilidad del diagnóstico de neoplasia intraepitelial cervical en un grupo de observadores bien entrenados. Se analizaron 1,496 casos donde se tendió a disminuir el grado de la neoplasia con desacuerdo diagnóstico entre NIC 1 y normalidad. El acuerdo fue mayor conforme aumentaba el grado tumoral.⁵

En 2014, Charanjeet Singh y colaboradores estudiaron la variabilidad diagnóstica de biopsias cervicales entre diferentes patólogos que utilizaban p16 y Ki-67, encontrando menor variabilidad en los casos diagnosticados como NIC2 en comparación con aquellos que no utilizaban los anticuerpos, atribuyéndose a esto factores como: tamaño pequeño de la biopsia, problemas en su proceso, tinción, corte, orientación, denudación epitelial y otros artefactos.¹¹

En México, los estudios sobre este tema son escasos, el Instituto Nacional de Cancerología realizó en 2012 una evaluación de la concordancia interobservador en la interpretación citológica de estas lesiones, encontrando 4% de casos discordantes de un total de 1,707 casos, por lo que asumieron la uniformidad de los criterios diagnósticos y de la capacitación del personal con que cuentan.¹²

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Planteamiento del problema

¿Cuál es la reproductibilidad del diagnóstico de neoplasias intraepiteliales cervicales entre observadores bien entrenados en base a las clasificaciones de Richard y Bethesda con la técnica de tención habitual de hematoxilina-eosina?

¿La interpretación de neoplasias intraepiteliales cervicales asociadas a Virus del Papiloma Humano de alto riesgo con tinción de inmunohistoquímica aunada a la tinción con hematoxilina-eosina disminuye la variabilidad interobservador en el diagnóstico de éste tipo de lesiones?

2.2 Justificación

El diagnóstico de la neoplasia intraepitelial cervical está sujeto a variaciones interobservador en cortes de hematoxilina-eosina debido al uso de diferentes sistemas de clasificación, así como por el tipo de tejido estudiado y factores relacionados al proceso de este.

Dichas variaciones podrían disminuir con la aplicación de marcadores de inmunohistoquímica tales como p16 y Ki-67, aumentando así la reproductibilidad diagnóstica, aún entre diferentes observadores, disminuyendo los costos secundarios al tratamiento de pacientes sobre diagnosticadas así como la progresión a carcinoma invasor de lesiones en un inicio diagnosticadas como benignas.

2.3 Objetivos

2.3.1 Generales

- Determinar la reproductibilidad en la interpretación de neoplasias intraepiteliales cervicales por dos observadores previamente entrenados.
- Comparar los resultados según las clasificaciones de Ricahrt y Bethesda para lesiones intraepiteliales cervicales.
- Valorar el uso de los marcadores p16 y Ki-67 como auxiliares en el acuerdo diagnóstico interobservador de estas neoplasias
- Demostrar que la combinación hematoxilina-eosina, p16 y Ki-67 es superior que sólo la primera de ellas en cuanto a en sensibilidad y especificidad.

2.3.2 Secundario

En caso de probar las hipótesis de investigación, se recomendará al servicio de patología del Hospital General del Estado de Sonora la implementación rutinaria de Ki-67 y p16 para detección de lesiones intraepiteliales de difícil diagnóstico en biopsias y conos de cérvix uterino.

2.4 Diseño del estudio

- Retrospectivo
- Transversal
- Descriptivo
- Experimental
- Ciego

2.5 Universo a estudiar

Se estudiarán todas las biopsias y conos de cérvix recibidos en el Servicio de Patología del Hospital General del Estado de Sonora durante el periodo de enero de 2013 a diciembre de 2013 con diagnóstico histopatológico de neoplasia intraepitelial cervical, de los cuales se seleccionarán aquellos con variabilidad en interpretación por dos observadores respecto al diagnóstico original para realizar tinciones de inmunohistoquímica con p16 y Ki-67.

2.6 Criterios de inclusión

- Biopsias y conos de cérvix recibidos en el Servicio de Patología del Hospital General del Estado de Sonora durante el periodo de enero de 2013 a diciembre de 2013.
- Biopsias y conos de cérvix que cuenten con laminillas teñidas en hematoxilina-eosina y bloques de parafina, así como diagnóstico histopatológico previo

2.7 Criterios de exclusión

- Biopsias y conos de cérvix que no cuenten con diagnóstico.
- Biopsias y conos de cérvix cuyos bloques de parafina contengan tejido insuficiente para estudio de inmunohistoquímica.
- Biopsias y conos de cérvix que no tengan laminillas teñidas en hematoxilina-eosina.

2.8 Descripción general del estudio

- Revisión de los registros de estudios quirúrgicos en el departamento de patología del Hospital General del Estado de Sonora para la selección de casos.
- Obtención de laminillas teñidas con técnica de hematoxilina-eosina así como bloques de parafina
- Investigador A y B no contarán con la información del diagnóstico previo de cada biopsia.
- Se interpretarán bajo microscopio de luz las laminillas teñidas con hematoxilina-eosina, emitiendo diagnóstico individualizado según las clasificaciones de Richard y Bethesda (2001).
- Proceso de información en tablas y gráficas
- Inmunorreacción con p16 y Ki-67 en aquellos casos en los que exista desacuerdo diagnóstico con el resultado histopatológico final.
- Interpretación bajo microscopio de luz las laminillas sometidas a inmunorreacción con los dos anticuerpos antes mencionados, emitiendo diagnóstico individualizado.
- Proceso de información en tablas y gráficas.

2.9 Análisis estadístico

- a) Se clasificaron las neoplasias intraepiteliales cervicales según las clasificaciones de Richard y Bethesda (2001) considerando el criterio del observador como:
 - NIC1, NIC2 y NIC3
 - Lesión intraepitelial de bajo y alto grado
- b) Se realizó la medición de la concordancia interobservador mediante la aplicación del coeficiente Kappa de Cohen:

Coefficiente kappa	Fuerza de la concordancia
0,00	Pobre (<i>Poor</i>)
0,01 - 0,20	Leve (<i>Slight</i>)
0,21 - 0,40	Aceptable (<i>Fair</i>)
0,41 - 0,60	Moderada (<i>Moderate</i>)
0,61 - 0,80	Considerable (<i>Substantial</i>)
0,81 - 1,00	Casi perfecta (<i>Almost perfect</i>)

Tabla 1. Valoración del coeficiente kappa (Landis y Koch, 1977)

- c) Se reclasificaron aquellos casos en los que existió discordancia interobservador posterior a la inmunorreacción con p16 y Ki-67 en base a los criterios descritos para su valoración, como los mencionados por Mee-Lee Looi y colaboradores en 2010.¹³

2.10 Variables de estudio

- Edad
- Tipo de biopsia
- Diagnóstico inicial
- Diagnóstico por observador
- Diagnóstico tras inmunorreacción

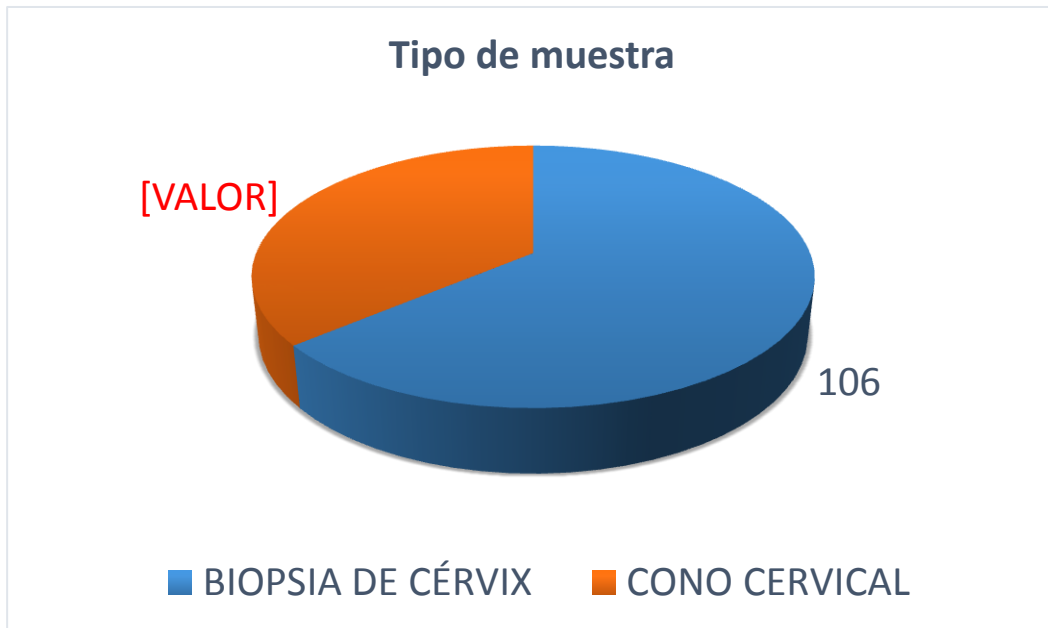
2.11 Consideraciones éticas y prevención de riesgos

Se buscó conservar los principios éticos establecidos en la 18va. Asamblea Médica Mundial (Helsinki, 1964. Actualizada en el año 2000). Se conservará el anonimato de las personas cuyas muestras sean estudiadas, de igual manera, los resultados que se obtengan se contemplarán como información confidencial a la cual accederán únicamente los médicos patólogos del HGE de Sonora.

3. Resultados

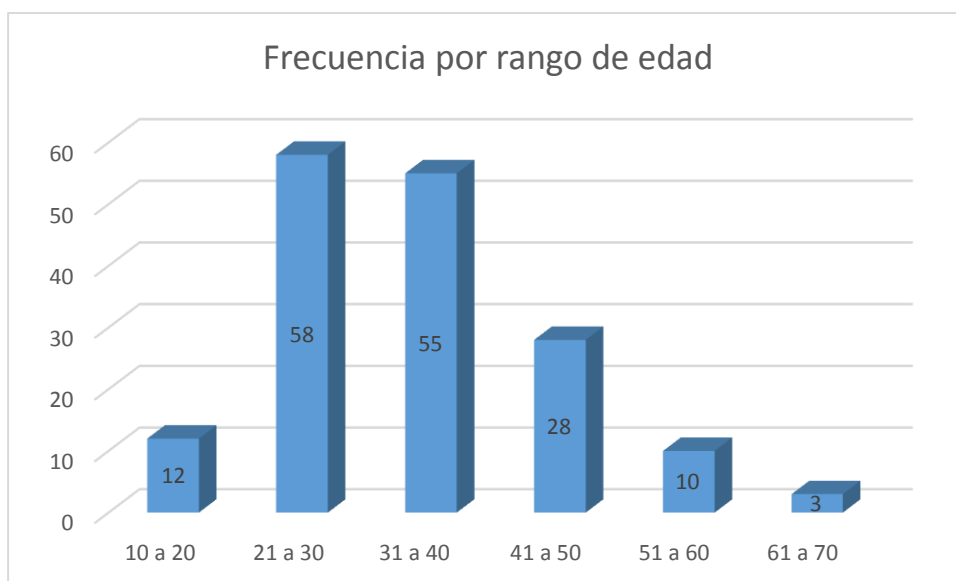
Se revisaron 106 biopsias incisionales de cérvix (63.8%) y 60 conos de cervicales (36.2%) estudiados en el Hospital General del Estado de Sonora las cuales fueron estudiadas en el período de enero 2013 a diciembre 2013 y

contaban con diagnóstico histopatológico final de neoplasia intraepitelial cervical. Ver gráfica 1.



Gráfica 1. Total de casos estudiados según tipo de muestra

Las edades variaron entre la mínima de 16 años y la máxima de 69 años, con edad media de 34.14 años. Ver gráfica 2.



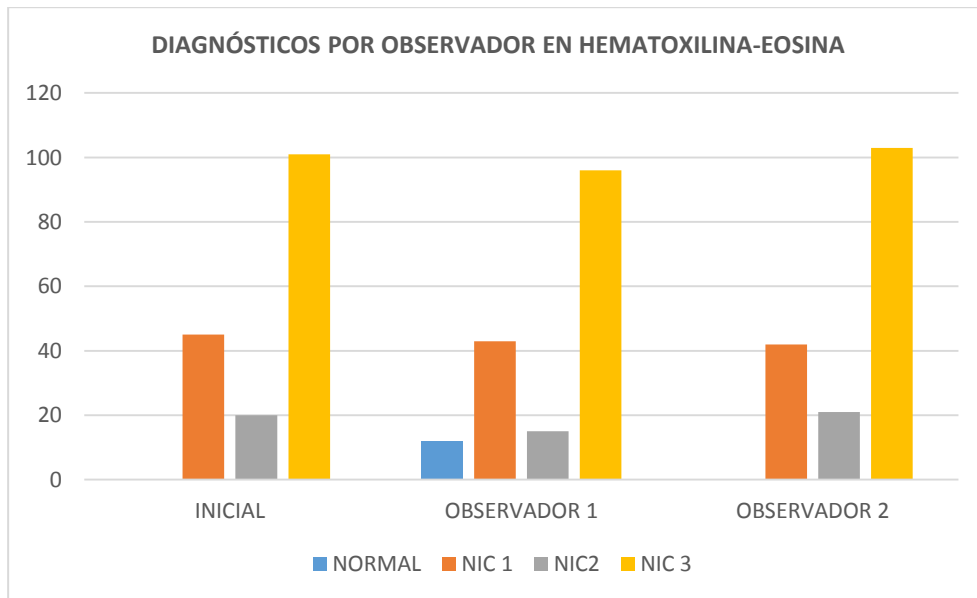
Gráfica 2. Distribución de pacientes por rango de edad

Todos los casos contaban con diagnóstico previo en Hematoxilina-Eosina (HE). Ambos observadores establecieron su diagnóstico en base a las clasificaciones de Richard (Neoplasia Intraepitelial Cervical/NIC) y Bethesda (Lesión Intraepitelial de Bajo y Alto Grado/LIEBG y LIEAG). (tabla 2 y 3; gráfica 3 y 4).

DIAGNÓSTICOS POR OBSERVADOR EN HEMATOXILINA-EOSINA (RICHARD)

	INICIAL	OBSERVADOR 1	OBSERVADOR 2
<i>NORMAL</i>	0	12	0
<i>NIC 1</i>	45	43	42
<i>NIC 2</i>	20	15	21
<i>NIC 3</i>	101	96	103
<i>TOTAL</i>	166	166	166

Tabla 2. Diagnósticos por observador con tinción base de HE (Richard)

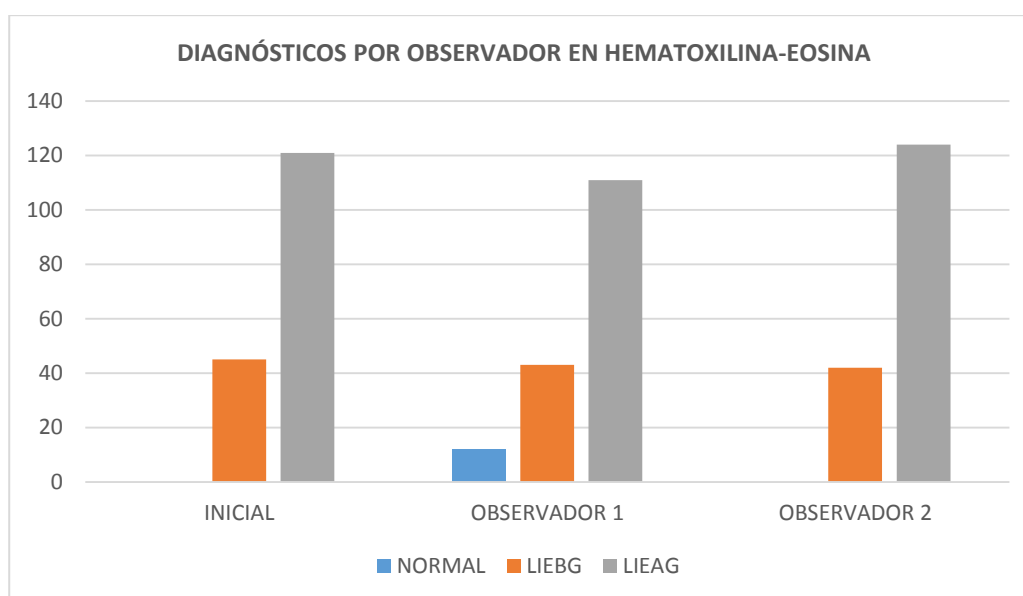


Gráfica 3. Diagnósticos por observador en HE con clasificación de Richard

DIAGNÓSTICOS POR OBSERVADOR EN HEMATOXILINA-EOSINA (BETHESDA)

	INICIAL	OBSERVADOR 1	OBSERVADOR 2
<i>NORMAL</i>	0	12	0
<i>LIEBG</i>	45	43	42
<i>LIEAG</i>	121	111	124
<i>TOTAL</i>	166	166	166

Tabla 3. Diagnósticos por observador con tinción base de HE (Bethesda)



Gráfica 4. Diagnósticos por observador en HE con clasificación de Bethesda

Se valoró además la discordancia intraobservador con el diagnóstico histopatológico final de cada paciente según los dos sistemas de clasificación antes mencionados en base a la misma tinción aplicada en primer tiempo, HE. Ver tabla 4 y 5.

DISCORDANCIAS CON EL DIAGNÓSTICO FINAL (RICHARD)

	OBSERVADOR 1	OBSERVADOR 2
<i>NORMAL</i>	12	0
<i>NIC 1</i>	11	8
<i>NIC 2</i>	12	15
<i>NIC 3</i>	7	11
<i>TOTAL</i>	42	34

Tabla 4. Discordancia con el diagnóstico final con tinción de HE (Richard)

DISCORDANCIAS CON EL DIAGNÓSTICO FINAL (BETHESDA)

	OBSERVADOR 1	OBSERVADOR 2
<i>NORMAL</i>	12	0
<i>LIEBG</i>	11	8
<i>LIEAG</i>	7	13
<i>TOTAL</i>	30	21

Tabla 5. Discordancia con el diagnóstico final con tinción de HE (Bethesda)

Según los diagnósticos reportados por cada uno de los observadores y el reporte histopatológico previo, se calculó el promedio de acuerdo entre observadores así como la capacidad de concordancia interobservador de Cohen, de nueva cuenta en base a los sistemas de clasificación de Richard y Bethesda y con tinción de HE. Ver tabla 6 y 7.

ACUERDO INTEROBSERVADOR PROMEDIO EN HE (RICHARD)

	PROMEDIO	KAPPA DE COHEN
<i>NIC 1</i>	78.916%	0.609
<i>NIC 2</i>	74.096%	0.543
<i>NIC 3</i>	68.675%	0.445
<i>GENERAL</i>	73.896%	0.532

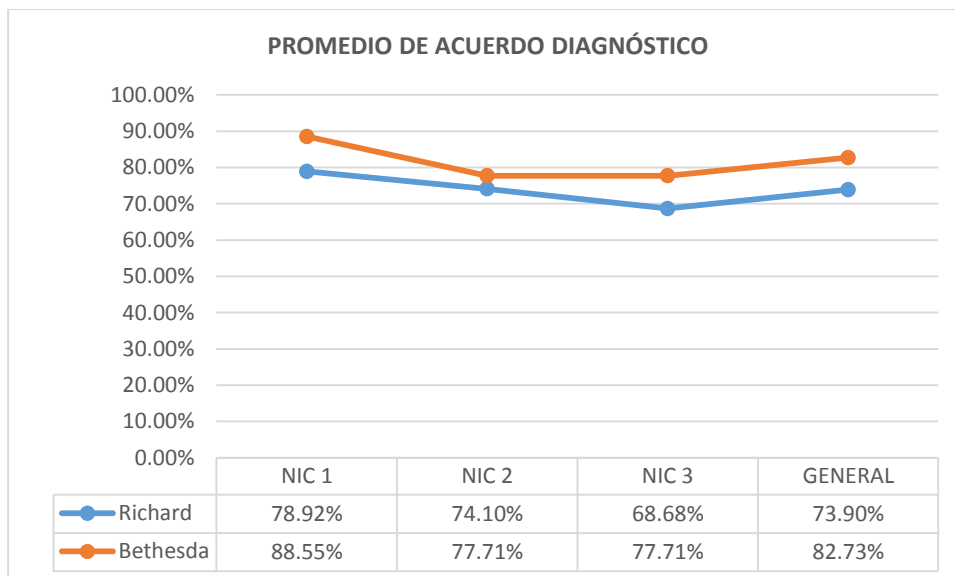
Tabla 6. Acuerdo interobservador con tinción de HE (Richard)

ACUERDO INTEROBSERVADOR PROMEDIO EN HE (BETHESDA)

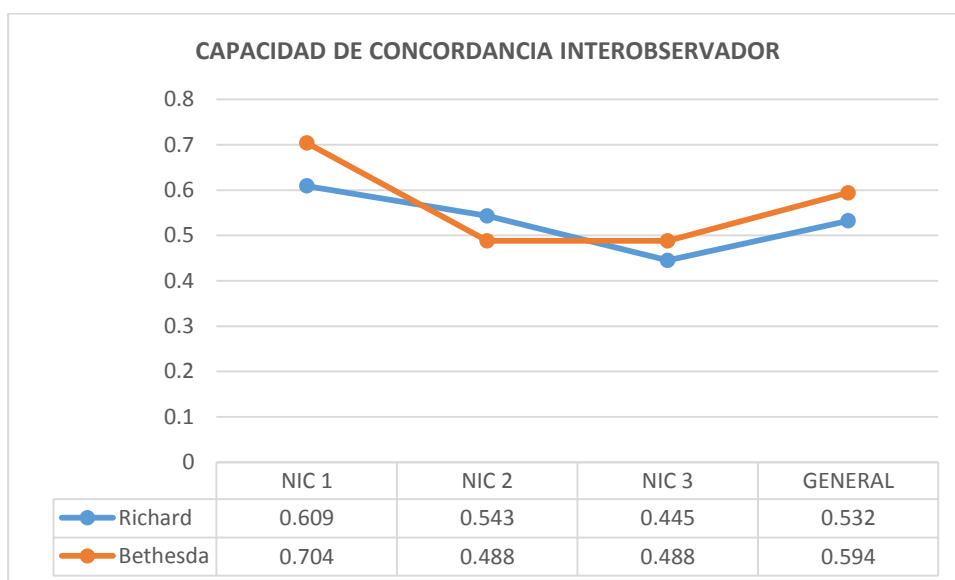
	PROMEDIO	KAPPA DE COHEN
<i>LIEBG</i>	88.554%	0.704
<i>LIEAG</i>	77.711%	0.488
<i>GENERAL</i>	82.731%	0.594

Tabla 7. Acuerdo interobservador con tinción de HE (Bethesda)

Se realizó también la comparación del promedio de acuerdo diagnóstico entre los tres observadores así como de la capacidad de concordancia interobservador de Cohen, las cuales se reportan en las gráficas 5 y 6.



Gráfica 5. Promedio de acuerdo interobservador según clasificación



Gráfica 6. Capacidad de concordancia interobservador de Cohen según clasificación

Una vez obtenido la capacidad de concordancia interobservador, se procedió a realizar inmunorreacción con p16 y Ki-67 sobre aquellos casos en donde se reportó discordancia con el diagnóstico final, observando la siguiente

modificación de resultados tanto por el observador 1 como 2 en comparación con la tinción de HE (Tabla 8 y 9).

DIAGNÓSTICOS POR OBSERVADOR CON P16 Y KI-67 (RICHARD)

	OBSERVADOR 1	OBSERVADOR 2
<i>NORMAL</i>	22	12
<i>NIC 1</i>	36	45
<i>NIC 2</i>	8	7
<i>NIC 3</i>	100	102
<i>TOTAL</i>	166	166

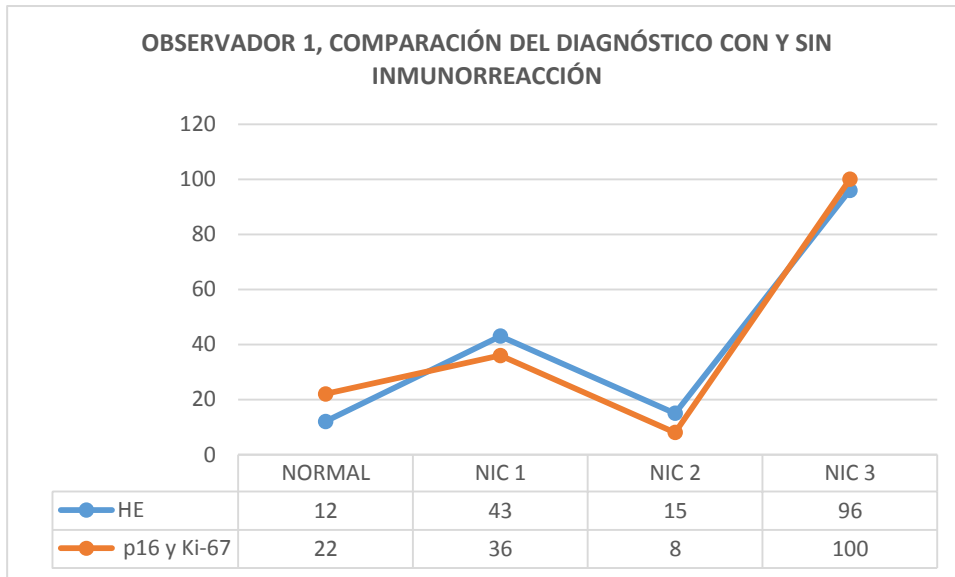
Tabla 8. Diagnósticos por observador con inmunorreacción (Richard)

DIAGNÓSTICOS POR OBSERVADOR CON P16 Y KI-67 (BETHESDA)

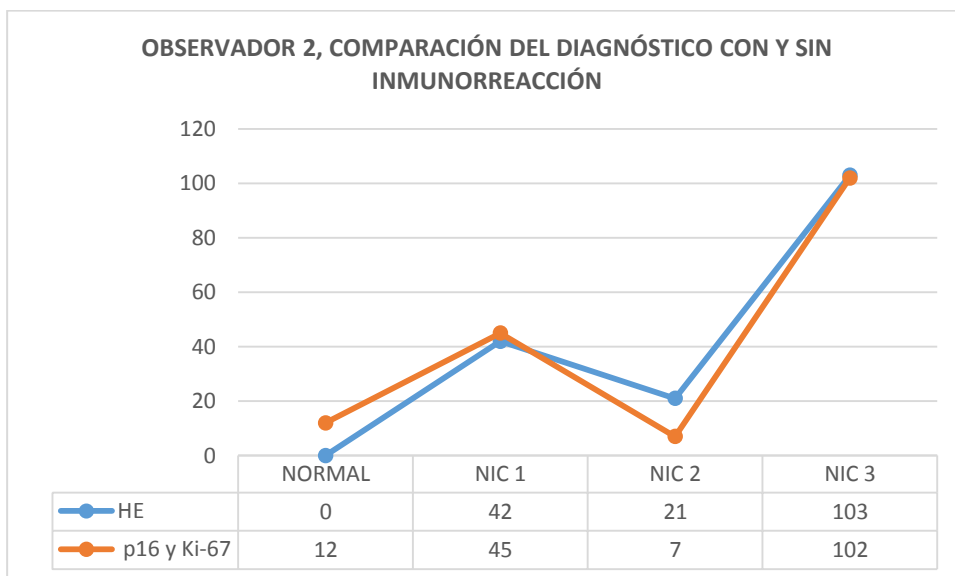
	OBSERVADOR 1	OBSERVADOR 2
<i>NORMAL</i>	22	12
<i>LIEBG</i>	36	45
<i>LIEAG</i>	108	109
<i>TOTAL</i>	166	166

Tabla 9. Diagnósticos por observador con inmunorreacción (Bethesda)

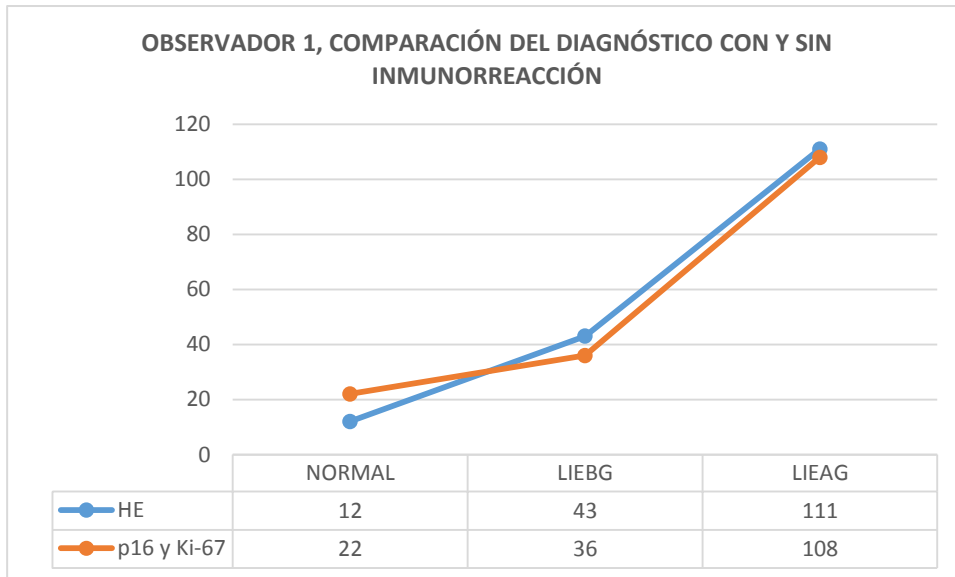
Después de los resultados gracias a la inmunorreacción, se procede a comparar los resultados de la tinción convencional de HE a los de la combinación p16 y Ki-67 (gráfica 7, 8, 9 y 10).



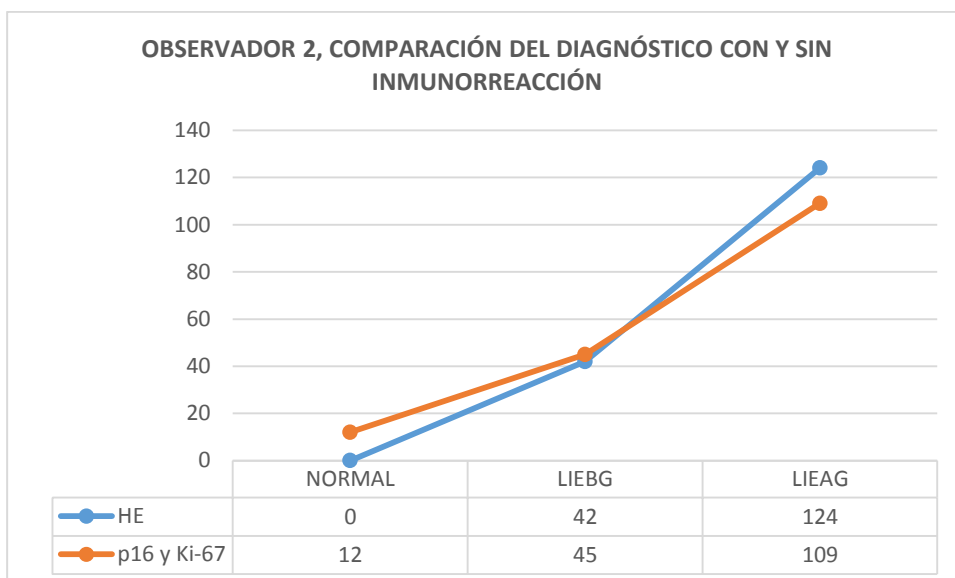
Gráfica 7. Comparación del diagnóstico con y sin p16/Ki-67 por el observador 1 (Richard)



Gráfica 8. Comparación del diagnóstico con y sin p16/Ki-67 por el observador 2 (Richard)



Gráfica 9. Comparación del diagnóstico con y sin p16/Ki-67 por el observador 1 (Bethesda)



Gráfica 10. Comparación del diagnóstico con y sin p16/Ki-67 por el observador 2 (Bethesda)

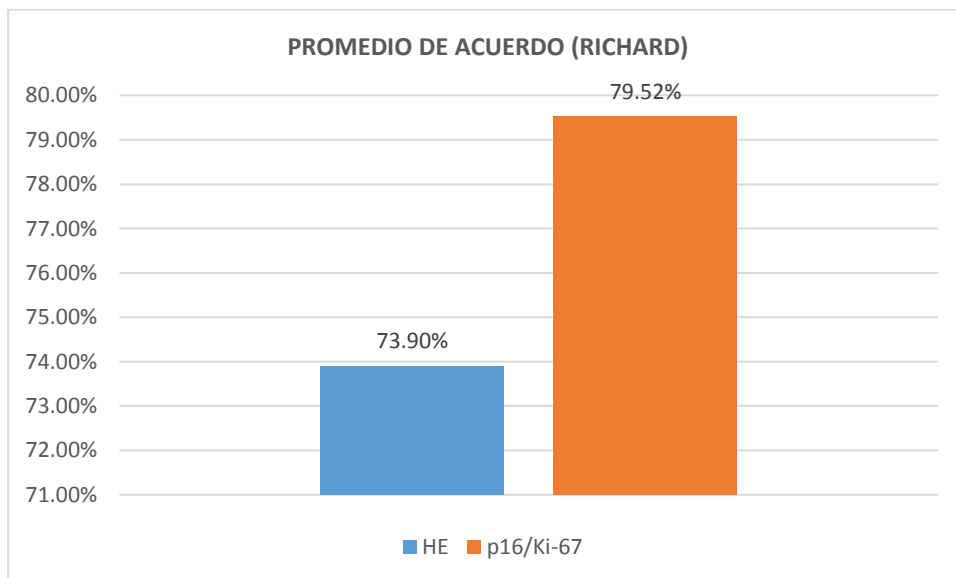
Posterior a las modificaciones diagnósticas tras la inmunorreacción con p16 y Ki-67, se calcula nuevamente el promedio de acuerdo entre observadores y la capacidad de concordancia interobservador de Cohen (Tabla 10).

ACUERDO INTEROBSERVADOR PROMEDIO CON P16 Y KI-67

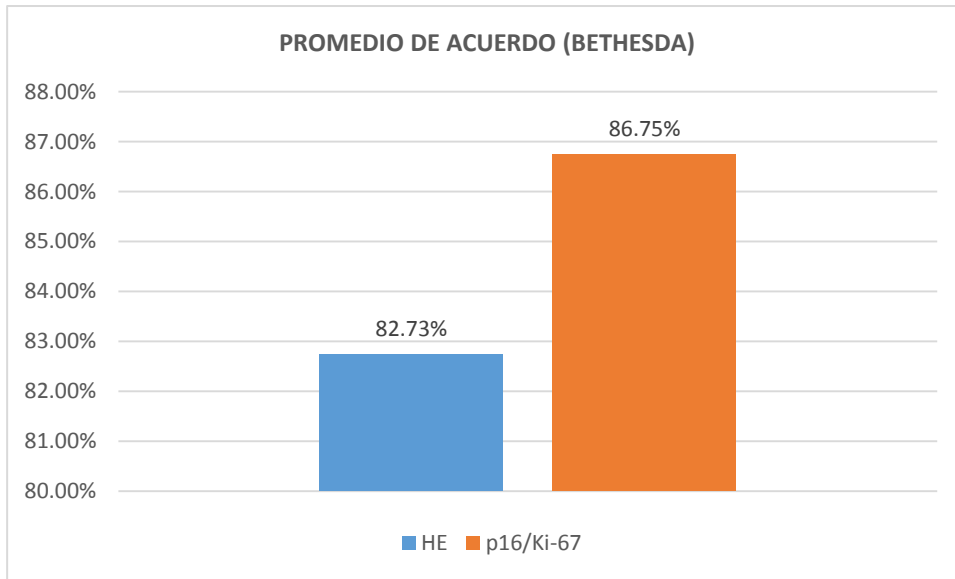
	PROMEDIO	KAPPA DE COHEN
<i>RICHARD</i>	79.518%	0.634
<i>BETHESDA</i>	86.747%	0.722

Tabla 10. Acuerdo interobservador con p16 y Ki-67 (Richard y Bethesda)

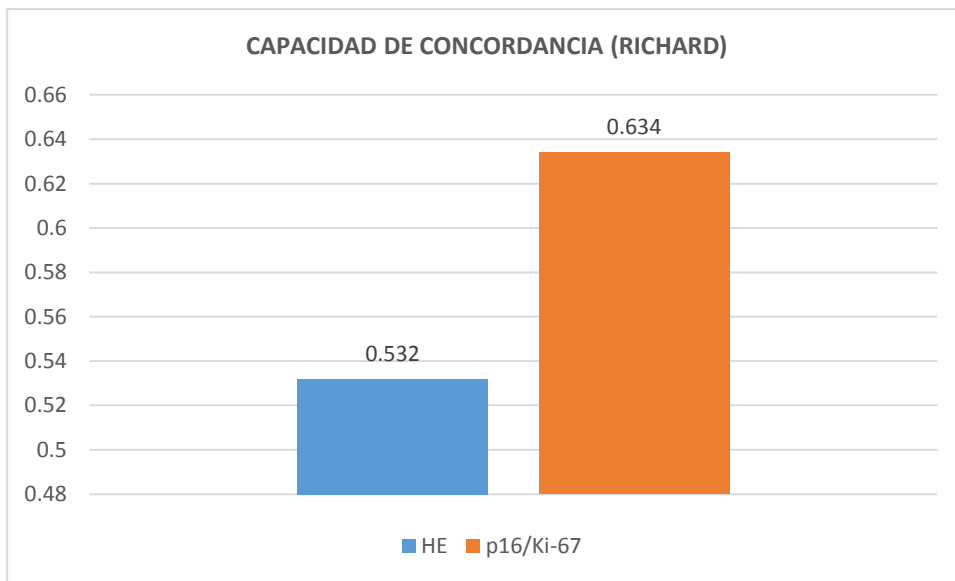
Se realiza también la comparación directa del promedio de acuerdo entre observadores y de la capacidad de concordancia interobservador con y sin p16/Ki-67, esto de acuerdo a las clasificaciones de Richard y Bethesda. (Gráfica 11, 12, 13 y 14).



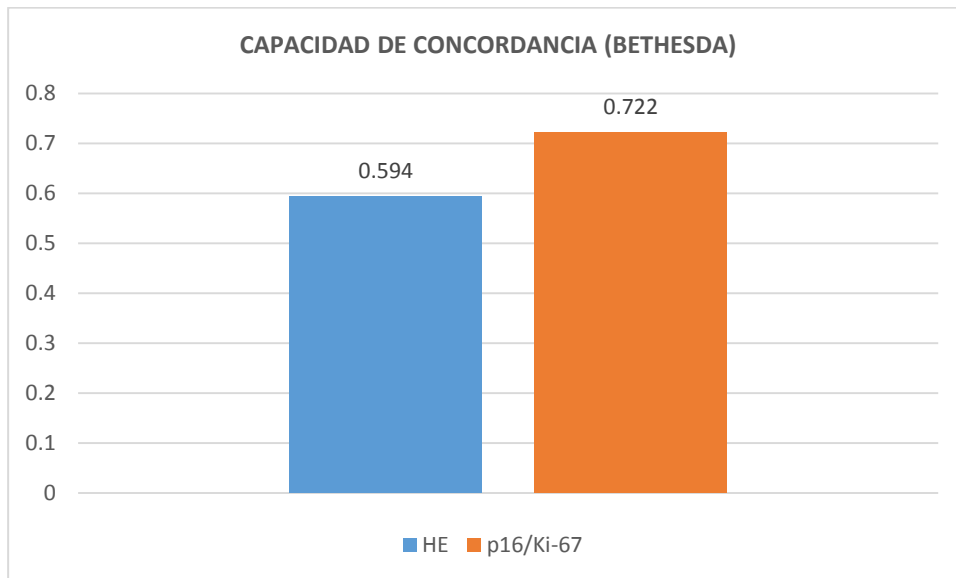
Gráfica 11. Promedio de acuerdo diagnóstico con y sin p16/Ki-67 (Richard)



Gráfica 12. Promedio de acuerdo diagnóstico con y sin p16/Ki-67 (Bethesda)



Gráfica 13. Capacidad de concordancia de Cohen con y sin p16/Ki-67 (Richard)



Gráfica 14. Capacidad de concordancia de Cohen con y sin p16/Ki-67 (Bethesda)

4. Discusión

El cáncer cérvico uterino ocupa los primeros lugares como causa de muerte por cáncer en mujeres mexicanas. Una infección persistente de virus del papiloma humano de tipos virales de alto riesgo oncogénico, es el factor etiológico principal en el desarrollo de esta neoplasia.

La infección por VPH esencialmente es una enfermedad de transmisión sexual. De esta manera, tanto hombres como mujeres están involucrados en la cadena epidemiológica de la infección, pudiendo ser acarreadores asintomáticos, transmisores y también víctimas de la infección por VPH. ¹⁴

Por estas y otras razones se han tratado de identificar biomarcadores que ayuden a su diagnóstico temprano y que puedan ser reproducibles, como sucede en el estudio de S. Nicholas Agoff y colaboradores, donde se demostró que la combinación de Ki-67 y p16 tienen un valor de kappa de Cohen alto (mencionándose incluso que puede llegar a ser excelente dentro de esta escala) incluso en la valoración de tejidos entre histopatólogos y técnicos especializados. ¹⁶

En nuestro estudio se pudieron comprobar resultados similares, con valores de kappa moderados como 0.532 cuando sólo se utiliza la tinción con Hematoxilina-Eosina y que pueden llegar hasta 0.722 (es decir, considerable) cuando se realizan inmunorreacciones con los dos anticuerpos antes descritos.

La nomenclatura, por grados, se ha simplificado desde que se establecieron las propuestas del grupo del Sistema Bethesda en lesiones intraepiteliales de alto y bajo grado, disminuyendo (como se pudo demostrar al momento de definir la capacidad de concordancia y promedio de acuerdo diagnóstico de este trabajo) la discordancia entre diferentes patólogos al definir únicamente dos variables, así como permitir una mejor comprensión tanto para los médicos clínicos como para los pacientes.

Esta división tiene mayor utilidad clínica que otros sistemas de clasificación para lesiones cervicales, ya que los médicos deben enfrentarse casi siempre a dos opciones de tratamiento (seguimiento o extirpación conservadora) según la decisión diagnóstica del histopatólogo.

La clasificación en sólo dos grados es más cercana a la posibilidad real del diagnóstico morfológico y de la terapéutica actual, además de la biología de las lesiones premalignas. La clasificación de Richard está firmemente arraigada en la histopatología, pero el uso de dos clasificaciones distintas para la misma enfermedad parece insensato, sugiriendo la elaboración de diagnósticos con sólo una de ellas.¹⁷

Justo como mencionan las guías de la Sociedad Americana de Cáncer, la meta fundamental del tamizaje para carcinoma cérvico uterino es finalmente prevenir la morbilidad y mortalidad del mismo. En condiciones ideales, estas estrategias deberían permitir identificar a aquellas lesiones precursoras que muy probablemente progresen a carcinoma invasor, evitando la detección/tratamiento innecesario de alteraciones secundarias a la infección por VPH que no están destinadas a progresar hacia la malignidad.

Debido a ello se recomienda iniciar con las pruebas de tamizaje a partir de los 21 años de edad, aunque como nuestro estudio demostró, se pueden encontrar casos de neoplasias precursoras en rangos tan amplios de edad como lo es desde 16 hasta los 69 años.¹⁸

El trabajo de Rachel Redman y colaboradores continúa brindando evidencia de que la evaluación de lesiones de bajo y alto grado con p16 y otros marcadores resulta una herramienta extremadamente útil e importante para los patólogos en aquellas situaciones en que se deba discriminar entre displasia, metaplasia o cambios histológicos reactivos.

Esta capacidad para discriminar entre diferentes entidades reducirá falsos negativos, mejorará el diagnóstico de lesiones premalignas y disminuirá aquellos falsos positivos que conducen a procedimientos quirúrgicos completamente innecesarios.¹⁹

El patólogo quirúrgico siempre tratará de que su diagnóstico sea lo más certero posible, por lo mismo los estudios encargados de estudiar la variabilidad interobservador se vuelven cada vez más populares. Como sucede con tumores de otros aparatos y sistemas, mientras mayor sea el grado histológico, mayor será el acuerdo diagnóstico entre diferentes observadores²⁰; son las lesiones premalignas las que ocasionan el desacuerdo entre patólogos bien entrenados, ya que son fáciles de confundir con procesos reactivos como lo visto en este escrito, donde existió un número elevado de sobrediagnóstico en lesiones que en teoría deberían tener comportamiento completamente benigno.

En nuestra institución y laboratorio, resulta imposible de momento contar con los métodos auxiliares antes mencionados, necesitando recurrir a externos para poder llegar a la resolución de casos difíciles con diagnósticos que, de contar con el medio, podrían ser obtenidos dentro de nuestro mismo departamento.

5. Conclusiones

1. En esta revisión que incluye casos diagnosticados de biopsias incisionales y conos cervicales durante el año 2013, se encontraron un total de 166 lesiones premalignas que cumplían con los criterios de inclusión del estudio.
2. El grupo de edad que con mayor frecuencia se observó afectado fue el de 21 a 30 años, con una media de 34.14 años.
3. El tipo de neoplasia intraepitelial encontrada con mayor frecuencia fue el NIC 3, acorde a lo reportado en la literatura.
4. El marcador p16 (con el que no se cuenta en la institución) demostró su utilidad en la identificación de falsos positivos y negativos cuando se utiliza en combinación con Ki-67.
5. Se demostró que la capacidad de concordancia diagnóstica en lesiones intraepiteliales cervicales puede ser baja incluso entre sólo dos observadores ampliamente entrenados.
6. Se confirmaron las ventajas de utilizar un sistema de clasificación menos complejo (como el Sistema Bethesda), que de igual forma cumple con el objetivo de informar de forma adecuada a médicos y pacientes por igual.
7. Reafirmamos la relación estrecha existente entre la infección por el virus del papiloma humano y la neoplasia del cérvix uterino.
8. En el laboratorio de patología, se adquirieron nuevos conceptos que ayudarán a disminuir la variabilidad interobservador.
9. Las lesiones de bajo grado continúan siendo aquellas que con mayor frecuencia ocasionan errores diagnósticos.
10. Recalamos la importancia de contar con métodos auxiliares de trabajo que permitan el mejor diagnóstico y estadificación de pacientes como es el anticuerpo p16, el cual por sí sólo ahorra recursos humanos y económicos que podrían ser invertidos en otras estrategias de salud.

6. Bibliografía

1. Alejandro López Saavedra y Marcela Lizano Soberón. **Cáncer cérvicouterino y el virus del papiloma humano: La historia que no termina.** López -Saavedra y Lizano-Soberón, *Cancerología* 1 (2006) : 31-55
2. Mark H. Stoler, MD. **Human Papillomavirus Biology and Cervical Neoplasia, Implications for Diagnostic Criteria and Testing.** *Arch Pathol Lab Med.* 2003;127:935–939.
3. Kay J. Park, MD; Robert A. Soslow, MD. **Current Concepts in Cervical Pathology.** *Arch Pathol Lab Med.* 2009;133:729–738
4. Qi Zhang, Louise Kuhn, Lynette A. Denny, Michelle De Souza, Sylvia Taylor and Thomas C. Wright, Jr. **Impact of utilizing p16INK4A immunohistochemistry on estimated performance of three cervical cancer screening tests.** *Int. J. Cancer:* 120, 351–356 (2006)
5. Paolo Dalla Palma, MD, Paolo Giorgi Rossi, PhD, Guido Collina, MD, Anna Maria Buccoliero, MD, Bruno Ghiringhello, MD, Eliana Gilioli, MD, Gian Libero Onnis, MD, Daniela Aldovini, MD, Giuseppe Galanti, MD, GianPiero Casadei, MD, Mirella Aldi, MD, Vito V. Gomes, MD, Pamela Giubilato, MSc, Guglielmo Ronco, MD, and the NTCC Pathology Group. **The Reproducibility of CIN Diagnoses Among Different Pathologists Data From Histology Reviews From a Multicenter Randomized Study.** *Am J Clin Pathol* 2009;132:1
6. Coltran, Kumar y Robbins, ***Patología funcional y estructural, 7ª edición.*** Elsevier, 2004.
7. Mills, SE. ***Histology for pathologists. 3a edición.*** Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

8. Frappart L., Fontanière B., Lucas E., Sankaranarayanan R. **Cytopathology of the uterine cervix. Digital atlas.** <http://screening.iarc.fr/atlascyto.php>
9. Mayor M.C. Jaime López-Cruz, Tte. Cor.M.C. Azucena del Carmen Hernández-Martínez, Tte. Cor. M.C. Pablo Alberto Gutiérrez-Vega, Subtte. Asist. Histopat. Juvenal Platón-Flores. **Nomenclatura de las lesiones precursoras del cáncer cérvico uterino.** Rev Sanid Milit Mex 2006; 60(6) Nov.-Dic: 406-410
10. Natália Gaspar Munhoz, Damaris Aparecida Rodrigues, Juliana Figueiredo Pedregosa, Juliana Olsen Rodrigues, Melissa Silva Garcia Junqueira, Patrícia Tiemi Kamiya Yonamine, Sabrina Fontanele Pereira, Simone Uezato, Thiago Pandossio, Elaine Keid Leso Martins, Flavia Borges de Oliveira, Jose Antonio Cordeiro, Jane Lopes Bonilha and Patrícia Maluf Cury. **The Use of Molecular Markers (p16, Ki-67 and E-Cadherin) in Uterine Cervical Biopsies.** The Open Pathology Journal, 2009, 3, 10-17
11. Charanjeet Singh, MD; J. Carlos Manivel, MD; Alexander M. Truskinovsky, MD; Kay Savik, MS; Samy Amirouche, CT(ASCP); Jana Holler, CT(ASCP); Bharat Thyagarajan, MD; H. Evin Gulbahce, MD; Stefan E. Pambuccian, MD. **Variability of Pathologists' Utilization of p16 and Ki-67 Immunostaining in the Diagnosis of Cervical Biopsies in Routine Pathology Practice and Its Impact on the Frequencies of Cervical Intraepithelial Neoplasia Diagnoses and Cytohistologic Correlations.** Arch Pathol Lab Med—Vol 138, January 2014
12. Jesús Baruch Ortíz, Rita Sotelo Regil-Hallmann, Lorena Flores Hernández, Margarita Ibarra del Río, Braulio Martínez Benítez. **Concordancia interobservador, en citología cervical, en el Instituto Nacional de Cancerología.** Patología 2012; 50(4):253-256.
13. Mee-Lee Looi, Ahmad Zailani Hatta Mohd Dali, Siti Aishah Md. Ali y Yasmin Anum Mohd Yusof. **Expression of p16 and pKi-67 in**

- Cervical Preneoplasia and Neoplasia.** Asia-Pacific Journal of Molecular Medicine 2011, 1:6
14. Marcela Lizano-Soberón, Adela Carrillo-García y Adriana Contreras-Paredes. **Infección por virus del Papiloma Humano: Epidemiología, Historia Natural y Carcinogénesis.** Cancerología 4 (2009): 205-216.
 15. Ronald T. Grenko, MD, Catherine S. Abendroth, MD, Elizabeth E. Fraunhoffer, MD, Francesca M. Ruggiero, MD, y Richard J. Zaino, MD. **Variance in the Interpretation of Cervical Biopsy Specimens Obtained for Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance.** Am J Clin Pathol 2000;114:735-740.
 16. S. Nicholas Agoff, M.D., Patricia Lin, M.P.H., Janice Morihara, B.S., Constance Mao, M.D., Nancy B. Kiviat, M.D. y Laura A. Koutsky, Ph.D. **p16INK4a Expression Correlates with Degree of Cervical Neoplasia: A Comparison with Ki-67 Expression and Detection of High-Risk HPV Types.** Mod Pathol 2003;16(7):665–673
 17. Fernando E. de la Torre Rendón. **Lesión premaligna escamosa del cuello uterino, un enfoque actualizado.** Patología 2008;46(4):332-42.
 18. Debbie Saslow, PhD, Diane Solomon, MD, Herschel W. Lawson, MD, Maureen Killackey, MD, Shalini L. Kulasingam, PhD, Joanna Cain, MD, Francisco A. R. Garcia, MD, MPH, Ann T. Moriarty, MD, Alan G. Waxman, MD, MPH, David C. Wilbur, MD, Nicolas Wentzensen, MD, PhD, MS, Levi S. Downs, Jr, MD, Mark Spitzer, MD, Anna-Barbara Moscicki, MD, Eduardo L. Franco, DrPH, Mark H. Stoler, MD, Mark Schiffman, MD, Philip E. Castle, PhD, MPH, y Evan R. Myers, MD, MPH. **American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology Screening Guidelines for the Prevention and Early Detection of Cervical Cancer.** Am J Clin Pathol 2012;137:516-542.

19. Rachel Redman, MD; Irina Rufforny, MD; Chen Liu, MD, PhD; Edward J. Wilkinson, MD; Nicole A. Massoll, MD. **The Utility of p16Ink4a in Discriminating Between Cervical Intraepithelial Neoplasia 1 and Nonneoplastic Equivocal Lesions of the Cervix.** Arch Pathol Lab Med—Vol 132, May 2008
20. Huw Llewellyn, MB, BS, BSc(Hons), FRCPA, FRCS. **Observer Variation, Dysplasia Grading, and HPV Typing: A Review.** Am J Clin Pathol 2000;114(Suppl 1):S21-S35.
21. Sonya J. Hwang y Kenneth R. Shroyer. **Biomarkers of Cervical Dysplasia and Carcinoma.** Journal of Oncology Volume 2012, Article ID 507286.
22. Chisa Aoyama, MD, Paul Liu, PhD, MD, Nora Ostrzega, MD y Christine H. Holschneider, MD. **Histologic and Immunohistochemical Characteristics of Neoplastic and Nonneoplastic Subgroups of Atypical Squamous Lesions of the Uterine Cervix.** Am J Clin Pathol 2005;123:699-706.
23. Pablo Conesa-Zamora, PhD, Asunción Doménech-Peris, MSc, Francisco J. Orantes-Casado, MSc, Sebastián Ortiz-Reina, MSc, Laura Sahuquillo-Frías, MSc, Jesús Acosta-Ortega, MD, José García-Solano, MSc, y Miguel Pérez-Guillermo, MD, FIAC. **Effect of Human Papillomavirus on Cell Cycle–Related Proteins p16, Ki-67, Cyclin D1, p53, and ProEx C in Precursor Lesions of Cervical Carcinoma: A Tissue Microarray Study.** Am J Clin Pathol 2009;132:378-390.
24. Ming Guo, MD, Amy C. Baruch, MD, Elvio G. Silva, MD, Yee Jee Jan, MD, E. Lin, MD, Nour Sneige, MD, y Michael T. Deavers, MD. **Efficacy of p16 and ProExC Immunostaining in the Detection of High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia and Cervical Carcinoma.** Am J Clin Pathol 2011;135:212-220.
25. Christine Bergeron, MD, PhD Jaume Ordi, MD, Dietmar Schmidt, MD, Marcus J. Trunk, MD, Thomas Keller, PhD, y Ruediger Ridder, PhD. **Conjunctive p16INK4a Testing Significantly Increases**

- Accuracy in Diagnosing High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia.** Am J Clin Pathol 2010;133:395-406.
26. L. Stewart Massad, MD, Mark H. Einstein, MD, Warner K. Huh, MD, Hormuzd A. Katki, PhD, Walter K. Kinney, MD, Mark Schiffman, MD, Diane Solomon, MD, Nicolas Wentzensen, MD, y Herschel W. Lawson, MD. 2012 **Updated Consensus Guidelines for the Management of Abnormal Cervical Cancer Screening Tests and Cancer Precursors.** Journal of Lower Genital Tract Disease, Volume 17, Number 5, 2013, S1YS27.
27. Maria Benevolo, Marcella Mottolese, Ferdinando Marandino, Giuseppe Vocaturo, Roberto Sindico, Giulia Piperno, Luciano Mariani, Isabella Sperduti, Paola Canalini, Raffaele P Donnorso y Amina Vocaturo. **Immunohistochemical expression of p16INK4a is predictive of HR-HPV infection in cervical low-grade lesions.** Modern Pathology (2006) 19, 384–391.
28. Demaretta Rush, MD; Elizabeth Hyjek, MD; Rebecca N. Baergen, MD; Lora H. Ellenson, MD; Edyta C. Pirog, MD. **Detection of Microinvasion in Vulvar and Cervical Intraepithelial Neoplasia Using Double Immunostaining for Cytokeratin and Basement Membrane Components.** Arch Pathol Lab Med—Vol 129, June 2005.
29. Jaume Ordi, M.D., Sonia Garcia, M.D., Marta del Pino, M.D., Stefania Landolfi, M.D., Immaculada Alonso, M.D., Llorenç Quinto, M.D., y Aureli Torne, M.D. **p16INK4a Immunostaining Identifies Occult CIN Lesions in HPV-positive Women.** Int J Gynecol Pathol, Vol. 28, No. 1, January 2009.
30. Jaume Ordi. **P16 y cérvix uterino. Valor en la detección de lesiones ocultas y en la mejora de la concordancia inter-observador.** XVIII Congreso de la AEPCC - GRANADA, 22-24 de noviembre 2006
31. Lori Iaconis, MD; Elizabeth Hyjek, MD; Lora H. Ellenson, MD; Edyta C. Pirog, MD. **p16 and Ki-67 Immunostaining in Atypical Immature Squamous Metaplasia of the Uterine Cervix:**

Correlation With Human Papillomavirus Detection. Arch Pathol
Lab Med—Vol 131, September 2007.

32. Eileen M. Burd. **Human Papillomavirus and Cervical Cancer.**
Clin. Microbiol. Rev. 2003, 16(1):1.