



Facultad de Medicina  
**Universidad** Zaragoza

# TRABAJO FIN DE MÁSTER

**Análisis de la tendencia de lesiones intraepiteliales de cuello de útero y su tratamiento escisional mediante conización cervical en el Hospital San Jorge de Huesca, durante el periodo de 2010-2021.**

---

Analysis of cervical intraepithelial lesions trend and its treatment with cervical conization at the San Jorge Hospital in Huesca from 2010 to 2021.

**Autora:** Noelia Lázaro Fracassa

**Directora:** Jara Carrera Banzo

**Codirector:** José Manuel Ramón y Cajal



Departamento de  
Medicina, Psiquiatría  
y Dermatología  
**Universidad** Zaragoza

Curso 2021-2022

## **INDICE**

<b>1</b>	<b>RESUMEN</b> .....	<b>1</b>
	ABSTRACT .....	2
<b>2</b>	<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>5</b>
3.1	EPIDEMIOLOGÍA DEL CANCER DE CUELLO DE ÚTERO .....	5
3.2	EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO .....	6
3.2.1	Reseña histórica. ....	6
3.2.2	Genotipos virales.....	6
3.2.3	Mecanismo de carcinogénesis. ....	8
3.2.4	Epidemiología de la infección por el virus del papiloma humano. ....	9
3.2.5	Transmisión de la infección por VPH.....	11
3.3	LESIONES PRECURSORAS E HISTORIA NATURAL DEL CÁNCER DE CUELLO DE ÚTERO .....	12
3.3.1	Definición y clasificación de las lesiones escamosas intraepiteliales.....	12
3.3.2	Riesgo de progresión a cáncer de cuello de útero. ....	14
3.4	EL sanas DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO Y SUS LESIONES PRECURSORAS .....	14
3.4.1	Población diana del cribado .....	14
3.4.2	Pruebas utilizadas en el cribado.....	15
3.4.3	Citología cervical: .....	15
3.4.4	Métodos de detección del virus del papiloma humano.....	16
3.4.5	La colposcopia: .....	18
3.4.6	El estudio histológico.....	19
3.5	TRATAMIENTO FRENTE A LESIONES PRECURSORAS DE CANCER DE CUELLO DE UTERO .	20
3.5.1	Manejo de las lesiones de alto grado (HSIL/CIN II-III). ....	20
3.5.2	Tipos de tratamiento.....	21
3.5.3	Persistencia de enfermedad residual tras tratamiento escisional.....	23
3.6	VACUNAS FRETE A VPH .....	24
3.6.1	Partículas similares al virus: VLP (virus like particles) .....	24
3.6.2	Vacunas VHP-VLP L1.....	24
3.6.3	Indicaciones de la vacunación frente a VPH.....	26
<b>4</b>	<b>HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS</b> .....	<b>28</b>
<b>5</b>	<b>METODOLOGÍA Y PLAN DE TRABAJO</b> .....	<b>29</b>
5.1	DISEÑO Y SUJETOS DEL ESTUDIO .....	29
5.2	CRITERIOS DE SELECCIÓN DE PACIENTES .....	29

5.2.1	Criterios de inclusión:.....	29
5.2.2	Criterios de exclusión: .....	29
5.3	VARIABLES DEL ESTUDIO Y SU DEFINICION.....	29
5.4	ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	31
5.5	ASPECTOS ÉTICOS.....	31
<b>6</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>32</b>
6.1	ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA MUESTRA:.....	32
6.1.1	Características basales de las pacientes:.....	32
6.1.2	Infección por VPH:.....	36
6.1.3	Características anatomopatológicas: .....	37
6.1.4	Tratamiento escisional mediante conización cervical:.....	39
6.1.5	Estado de vacunación frente a VPH: .....	41
6.1.6	Revisión tras 6 meses de la conización cervical: .....	42
6.1.7	Revisión tras 24 meses de la conización cervical: .....	43
6.1.8	Necesidad de reconización o histerectomía durante el seguimiento:.....	44
6.2	ANÁLISIS COMPARATIVO: .....	46
6.2.1	Comparación de los resultados anatomopatológicos de la biopsia tomada bajo visión colposcópica y la pieza de conización cervical:.....	46
6.2.2	Comparación del grado histológico de lesión cervical y variables basales y anatomopatológicas del estudio. ....	47
6.2.3	Comparación entre el desarrollo de persistencia/recidiva lesional y diferentes variables basales y anatomopatológicas del estudio. ....	49
6.2.4	Relación entre el estado de vacunación y el desarrollo de persistencia/recidiva de lesión cervical de alto grado:.....	50
6.3	ANÁLISIS DE SEGUIMIENTO Y SUPERVIVENCIA LIBRE DE RECIDIVA/PERSISTENCIA DE LESIÓN INTRAEPITELIAL: .....	51
6.3.1	Análisis de factores predictivos:.....	51
<b>7</b>	<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>52</b>
7.1	CONSIDERACIONES SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS BASALES DE LAS PACIENTES.....	52
7.2	CONSIDERACIONES SOBRE LA INFECCIÓN POR VPH. ....	55
7.3	CONSIDERACIONES SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS ANATOMOPATOLÓGICAS.....	56
7.4	CONSIDERACIONES SOBRE EL ESTADO DE VACUNACIÓN FRENTE A VPH.....	60
7.5	FORTALEZAS Y LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	60
<b>8</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>62</b>
<b>9</b>	<b>ANEXOS</b> .....	<b>63</b>
<b>10</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b> .....	<b>65</b>

# **1 RESUMEN**

La técnica escisional más ampliamente utilizada para el tratamiento de la neoplasia intraepitelial cervical de alto grado es la conización cervical con asa diatérmica, logrando tasas de curación de aproximadamente el 90%. El objetivo de este estudio es estudiar la incidencia y posibles factores que puedan influir en el grado de lesión cervical, así como en el desarrollo de persistencia/recidiva de esta tras la cirugía. Se trata de un estudio analítico observacional retrospectivo, que incluye pacientes sometidas a conización cervical en nuestra institución desde enero de 2010 hasta diciembre de 2021. 459 pacientes fueron sometidas a conización cervical durante el periodo de estudio. De ellas, el 96,7% tuvo un resultado positivo en la prueba de VPH y el diagnóstico citológico más frecuente fue la atipia de células escamosas de significado incierto (ASC-US) en el 26,8% de los casos. La tasa de coincidencia entre el resultado histológico de la biopsia guiada por colposcopia y la pieza quirúrgica fue del 53,37%, con una infraestimación del grado lesional del 18,74% y sobreestimación del 25,70%. Se observó un incremento significativo de incidencia del genotipo 16 ( $p=0,031$ ) y de afectación de los márgenes de la pieza de conización ( $p=0,027$ ) conforme aumentaba el grado de la lesión cervical. La tasa de negativización de la infección por VPH tras la conización fue del 76,3% a los 6 meses y del 83,3% a los 2 años. Se observó persistencia/recidiva lesión en el 6,5% de las pacientes, con un riesgo incrementado de forma significativa en casos de persistencia de infección a los 6 meses del tratamiento ( $p>0,0001$ ) y conforme la profundidad de la pieza de conización era menor ( $p=0,04$ ). No se demostró una disminución del riesgo persistencia/recidiva en mujeres vacunadas frente al VPH. A pesar de la alta efectividad de la conización cervical, dado el riesgo incrementado de cáncer de cuello de útero entre las mujeres tratadas de una lesión intraepitelial con respecto a la población general, se recomienda un seguimiento adecuado con prueba de VPH y/o citología cervical a los 6 y 24 meses después de la cirugía, lo que permite diagnosticar precozmente la persistencia o recidiva lesional y evitar su progresión a cáncer.

**PALABRAS CLAVE:** virus del papiloma humano, lesión intraepitelial, conización cervical, persistencia, recidiva.

## **ABSTRACT**

The most widely used excisional technique for the treatment of high-grade cervical dysplasia is cervical loop electrosurgical excision procedure (LEEP), achieving cure rates of approximately 90%. The objective of this study is to describe the incidence and possible factors that may influence the degree of cervical lesion, as well as the development of persistence/recurrence of the same after surgery. This is a retrospective observational analytical study, which includes patients undergoing cervical conization at our institution from January 2010 to December 2021. 459 patients underwent cervical conization during the study period. Of these, 96.7% had a positive HPV test result and the most frequent cytological diagnosis was squamous cell atypia of uncertain significance (ASC-US) in 26.8% of cases. The coincidence rate between the histological result of the cervical biopsy under colposcopy and subsequent LEEP treatment was 53.37%, and postoperative pathological findings showed that there were 18,74% cases with the pathological upgrade and 25,70% with pathological decrease. A significant increase in the incidence of genotype 16 ( $p=0.031$ ) and involvement of the margins of the conization specimen ( $p=0.027$ ) was observed as the degree of cervical lesion increased. The rate of negative HPV infection after conization was 76.3% at 6 months and 83.3% at 2 years. Persistence/recurrence of the lesion was observed in 6.5% of the patients, with a higher risk in cases of persistence of HPV infection 6 months after treatment ( $p>0.0001$ ) and as the depth of the conization specimen was less ( $p=0.04$ ). No decreased risk of persistence/recurrence was demonstrated in women vaccinated against HPV. Despite the high effectiveness of cervical conization, given the increased risk of cervical cancer among women treated for an intraepithelial lesion compared to the general population, adequate follow-up with HPV testing and/or cervical cytology at 6 and 24 months after surgery is recommended, which allows early diagnosis of lesion persistence or recurrence and prevention of its progression to cancer.

**KEY WORDS:** human papilloma virus, intraepithelial lesion, cervical conization, persistence, recurrence.

## **2 LISTA DE ABREVIATURAS**

**ACHO:** anticonceptivos hormonales orales.

**ADN:** ácido desoxirribonucleico.

**AEPC:** Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia.

**ARNm:** ARN mensajero.

**ASCUS:** del inglés, *Atypical Squamous Cell of Undetermined Significance*.

**CAP:** Colegio Americano de Patología.

**CCU:** cáncer de cuello de útero.

**CIN:** neoplasia cervical intraepitelial (CIN, del inglés *cervical intraepithelial neoplasia*).

**FDA:** *Food and Drug Administration*.

**HC2:** del inglés, *Hybrid Capture 2*.

**HSIL:** SIL de alto grado (HSIL del inglés *high grade-SIL*).

**ITS:** infección de transmisión sexual.

**IFCPC:** del inglés, *International Federation of Cervical Pathology and Colposcopy*.

**LAST:** del inglés *Lower Anogenital Squamous Terminology*.

**LCR:** del inglés, *Long Control Region*.

**LEC:** legrado endocervical.

**LEEP:** del inglés, *loop electro-excision procedure*.

**LLETZ:** del inglés, *large loop excision of transformation zone*.

**LSIL:** SIL de bajo grado (LSIL del inglés *low-grade-SIL*).

**OMS:** Organización Mundial de la Salud.

**ORF:** regiones de lectura abierta (ORF del inglés *Open Reading Frames*).

**PCR:** reacción en cadena de polimerasa.

**pRb:** proteína del retinoblastoma.

**SIL:** lesión escamosa intraepitelial (SIL del inglés *Squamous Intraepithelial Lesion*).

**SAPCC:** Sociedad Americana de Colposcopia y Patología Cervical.

**TNF $\alpha$**  factor de necrosis tumoral  $\alpha$ .

**VLPs:** del inglés, *virus like particles*.

**VPH:** virus del papiloma humano.

**VPH-AR:** virus del papiloma humano de alto riesgo.

**VPH-BR:** virus del papiloma humano de bajo riesgo.

**VPN:** valor predictivo negativo.

**ZT:** zona de transformación.

### 3 INTRODUCCIÓN

#### 3.1 EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER DE CUELLO DE ÚTERO

El cáncer de cuello de útero (CCU) es la cuarta causa de muerte por cáncer en mujeres a nivel mundial, por detrás del de mama, pulmón y colorrectal (Figura 1). Supone alrededor de 342.000 muertes anuales, representando un 7,7% de la mortalidad por cáncer en mujeres. Su incidencia estimada es de 604.000 nuevos casos al año en todo el mundo, con claras diferencias entre regiones, ya que aproximadamente el 85% de los casos se dan en países menos desarrollados que no disponen de programas de cribado ni infraestructuras adecuados para el diagnóstico y tratamiento de lesiones premalignas y cáncer cervical, donde este se convierte en el segundo cáncer más frecuente y la segunda causa de muerte por cáncer en mujeres (Figura 2)(1). En España, el CCU es el decimoquinto cáncer más frecuente entre las mujeres y el cuarto más frecuente entre las mujeres de 15 a 44 años, con una supervivencia relativa a los 5 años del 63.4 %(2)(3).

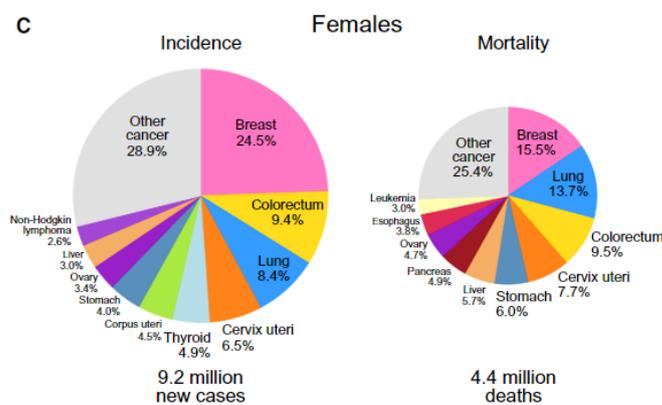


Figura 1. Incidencia y mortalidad de los 10 cánceres más comunes en mujeres a nivel mundial en el año 2020. (GLOBOCAN 2020)

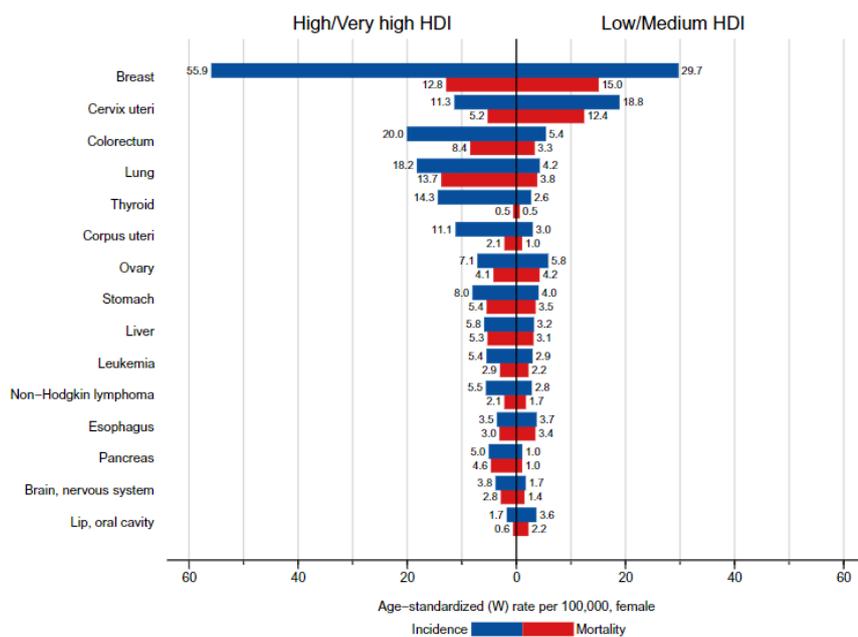


Figura 2. Incidencia y mortalidad de cánceres en mujeres a nivel mundial en el año 2020. (Sung et al. 2021)

En países desarrollados, las tasas de incidencia y mortalidad han disminuido en los últimos años gracias al desarrollo de efectivos programas de cribado que han permitido identificar a mujeres asintomáticas con lesiones cervicales precursoras y alto riesgo de transformación a CCU, cuyo tratamiento evite su progresión; así como aquellas mujeres con estadios iniciales de CCU que puedan tratarse con mayor efectividad y menor radicalidad (4).

## **3.2 EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO**

### **3.2.1 Reseña histórica.**

El virus del papiloma humano (VPH) es el factor etiopatogénico necesario para el desarrollo de cáncer de cuello de útero y sus lesiones precursoras. Las primeras relaciones causales entre el virus y algunas neoplasias datan de mitad del siglo pasado, pero no fue hasta 1965, cuando se caracterizó su genoma y hasta la década de los 70, gracias a los trabajos de Zur Hausen, cuando se sugirió su relación con el desarrollo de neoplasias cervicales (5). A principios de los años 90 se concluyó que el VPH era el principal factor etiológico, no solo del cáncer de cuello de útero, sino también de otras neoplasias de orofaringe y tracto anogenital femenino y masculino, como ano, vulva, vagina y pene (6). En 2003, Muñoz y colaboradores, identificaron diferentes genotipos de VPH, a los que se les llamó de alto riesgo oncogénico, y 2009 se concedió el Premio Nobel de Medicina a Harald Zur Hausen, por haber establecido la relación causal entre la infección por el VPH y el CCU (7,8).

### **3.2.2 Genotipos virales.**

El VPH pertenece a la familia Papillomaviridae. Es un virus de pequeño tamaño (45-55nm), con una estructura simple formada por una cápside icosaédrica de 72 capsómeros, en torno a una única molécula circular de ADN bicatenario de aproximadamente 8000 pares de bases.

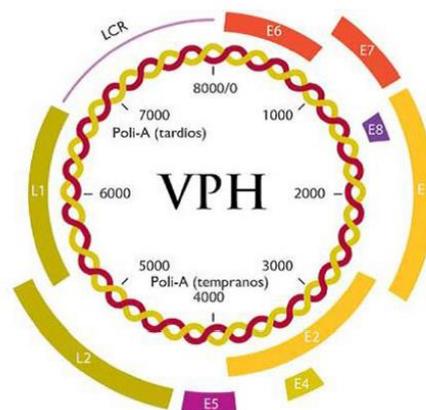
Su clasificación se realiza de acuerdo con la estructura del genoma viral y el tropismo de especie y organoespecificidad, causando lesiones anatómicas e histológicas diferentes (9):

- VPH **cutaneotrópicos**: detectados en verrugas cutáneas, lesiones de pacientes con epidermodisplasia verruciforme, lesiones cutáneas de pacientes inmunodeprimidos y en algunos tumores epiteliales. Pertenecen a este grupo los tipos 1, 4, 5, 8, 41, 48, 60, 63 y 65.
- VPH **mucosotrópicos**: detectados en lesiones del tracto anogenital. Ocasionalmente, pueden aislarse en lesiones de cavidad oral, orofaringe, laringe y en menor medida esófago, conjuntiva y lecho ungueal. Son virus de transmisión sexual con tropismo por las mucosas que pueden clasificarse en virus de bajo riesgo (VPH-BR) y alto riesgo (VPH-AR). En el grupo de bajo riesgo destacan el genotipo 6 y 11, detectados en condilomas del tracto anogenital, y también se encuentran los tipos 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 y CP6108. Entre los de alto riesgo, destacan los genotipos 16 y 18, y también se encuentran los tipos 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82. Todos ellos se consideran los principales factores etiológicos de las neoplasias epiteliales del tracto genital inferior. Además, los tipos 26, 53 y 66 han sido clasificados también como genotipos de “probablemente alto riesgo o riesgo intermedio” (Figura 3)(10,11).

Riesgo	Tipos de VPH	Manifestaciones clínicas
Alto	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82	Lesiones genitales de bajo riesgo Lesiones genitales de alto riesgo Cáncer cervical Cáncer de vagina, vulva, ano y pene Cáncer de orofaringe Cáncer de cavidad oral y laringe
Bajo	6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81, CP6108	Lesiones genitales de bajo riesgo Lesiones genitales de alto grado Condilomas acuminados (verrugas genitales) Papilomatosis respiratoria recurrente
Intermedio	26, 53, 66	Cáncer cervical

**Figura 3.** Clasificación epidemiológica de los genotipos de VPH asociados a enfermedad clínica (Reina et al., 2008)

Su genoma es complejo y se distinguen **tres regiones de lectura abierta u ORF (Open Reading Frames)**: siete genes de expresión temprana, (E1, E2, E4, E5, E6, E7 y E8; E de su sigla en inglés *Early*) que codifican proteínas no estructurales implicadas en la regulación génica y la replicación viral; dos genes de expresión tardía (L1 y L2; L de su sigla en inglés *Late*) que codifican proteínas estructurales que forman la cápside (12) y una región denominada LCR (*Long Control Region*) no codificante, donde se localizan las secuencia de ADN que contienen los promotores y los sitios de iniciación de replicación del genoma viral (Figura 4)(13).



**Figura 4.** Genoma del virus del papiloma humano. (Beltrán-Lissabet, 2014)

La región L1 es de gran importancia ya codifica proteínas comunes entre los genotipos de VPH de la misma especie, que codifican anticuerpos que pueden detectarse en las mujeres infectadas. En la región L2 se codifican proteínas variables entre los genotipos virales interespecie. En función de la homología de la secuencia de bases de ADN del gen L1, los VPH se clasifican en tipos, subtipos y variantes. Se define un nuevo genotipo cuando las secuencias del gen L1 difieren en más de un 10% de las de cualquier tipo conocido, y se denomina subtipo cuando esta diferencia es del 2 al 10% (14).

Entre las regiones de expresión temprana, las más importantes son las secuencias que codifican las proteínas E6 y E7, ya que son proteínas oncogénicas que controlan la replicación, transcripción y transformación celular, por lo que influyen en el potencial de transformación de las células y se expresan en la mayoría de los procesos malignos asociados al VPH (15).

El bajo nivel de presentación de antígenos virales y las estrategias de evasión del sistema inmunitario mencionadas, favorecen la tolerancia inmunitaria en contra de una respuesta de células T efectoras capaces de aclarar la enfermedad. Esto justifica el nivel disminuido o inexistente de respuesta de células T en mujeres con CCU (16).

La importancia de conocer el genotipo viral radica principalmente en sus implicaciones pronósticas. Además, el genotipado permite el análisis epidemiológico de la infección por VPH teniendo en cuenta factores como la gravedad de la infección, el perfil de las mujeres afectas y el área de distribución geográfica.

### **3.2.3 Mecanismo de carcinogénesis.**

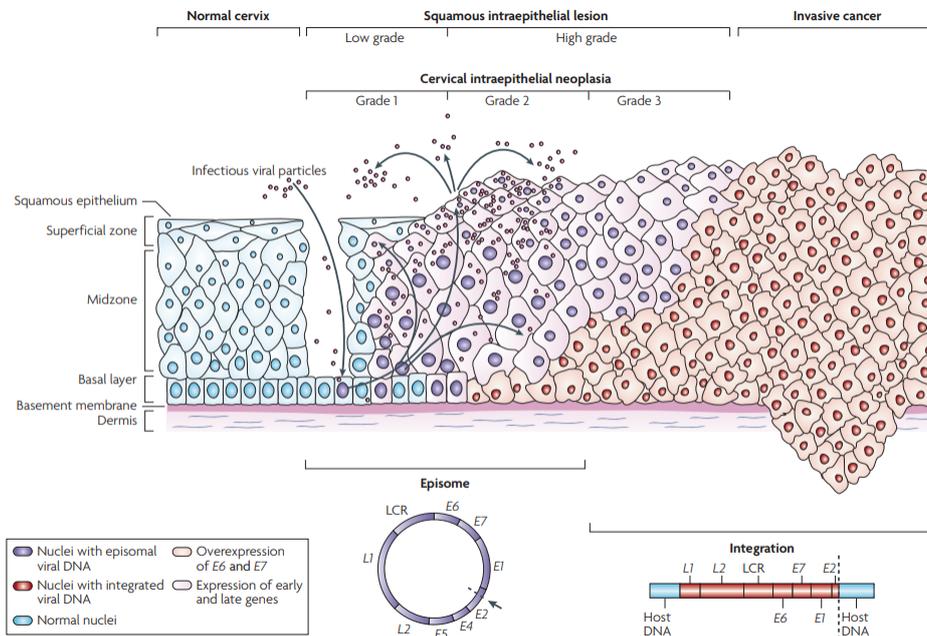
El VPH no codifica proteínas que realicen la transcripción de su genoma, por lo que utiliza el proceso de diferenciación de su célula objetivo, el queratinocito, para activar la maquinaria de replicación celular en su beneficio (17).

Para producir la infección, el virus tiene que alcanzar el estrato basal del epitelio, y que de este modo las proteínas de la cápside (L1) entren en contacto con receptores de superficie celular (18). Por ello, el ciclo comienza a partir de pequeñas soluciones de continuidad de la superficie cutánea o mucosa, que permiten a las partículas infecciosas llegar a la capa basal del epitelio, uniéndose y penetrando en el interior de las células (19).

Una vez el virus entra en contacto con la célula objetivo, el ADN viral llega hasta el núcleo, donde puede mantenerse en estado de reposo o **episomal**, o entrar en estado de transcripción activa. Durante la persistencia viral, el genoma del VPH se mantiene en un número bajo de copias en las células basales infectadas, pero que todavía son competentes y pueden replicarse. Más tarde, la célula basal comienza a diferenciarse y asciende a estratos superiores de la epidermis o mucosa, perdiendo su capacidad de dividirse. Es entonces en el estrato suprabasal, donde el VPH comienza a replicarse a un alto número de copias y expresa los genes tardíos de la cápside L1 y L2, dando lugar a la producción de nuevos viriones que, tras la desintegración natural del queratinocito de las capas superficiales, quedarán liberados al entorno (20). Las células superficiales con numerosos viriones acumulados en su interior poseen unas características morfológicas específicas y se denominan coilocitos. Las **lesiones intraepiteliales de bajo grado** (condilomas acuminados o LSIL/CIN I) son el ejemplo de esta forma de infección denominada **productiva**, dando lugar a numerosos viriones completos (21).

Por otro lado, el ADN viral puede integrarse en el cromosoma celular, fenómeno que ocurre en los carcinomas y en un porcentaje importante de lesiones intraepiteliales de alto grado. La integración del ADN viral en el ADN de la célula huésped y la sobreexpresión de los genes tempranos E6 y E7 son elementos esenciales del proceso oncogénico (Figura 4) (22,23). Se conoce que el mecanismo responsable de la transformación maligna la llevan a cabo las oncoproteínas E6 y E7, ya que sus principales dianas son la proteína p53 y la proteína del retinoblastoma (pRb)

respectivamente, bloqueando la actividad de ambos supresores de tumores, y dando lugar a la replicación viral (24).



**Figura 5.** Mecanismo de carcinogénesis del virus del papiloma humano. (Ciaran BJ et al. 2007)

Los monocitos, macrófagos y células dendríticas localizadas en el epitelio cervical inducen una respuesta inmune liberando citoquinas inflamatorias, como IL-1, IL-6 e IL-12 y factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ). La respuesta inmune innata del huésped es crucial para el aclaramiento precoz de la infección, mientras que la respuesta inmune adaptativa es necesaria para la regresión de lesión ya producidas. El VPH ha desarrollado múltiples mecanismos que le facilitan evadirse de ser reconocido por las células inmunitarias del huésped, mediante la expresión de niveles bajos de antígenos virales o modificando la expresión génica de las células huésped mediante alteraciones de la metilación del ADN o la disregulación de quimiocinas. Todo ello facilita la persistencia de la infección viral (25,26).

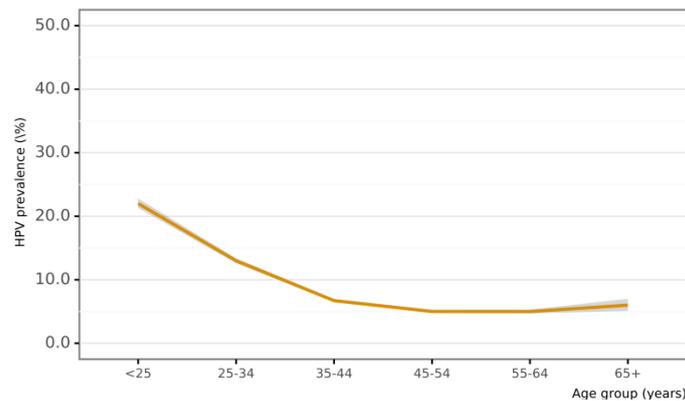
Por tanto, se estima que pueden transcurrir entre 20 y 30 años para que se desarrolle el cáncer de cérvix, ya se requiere una serie de pasos que son: la infección por VPH-AR, la persistencia de dicha infección, la transformación de las células epiteliales cervicales dando lugar a neoplasias intraepiteliales cervicales (CIN) de grado I a grado III y finalmente la progresión a carcinoma invasor (27).

### 3.2.4 Epidemiología de la infección por el virus del papiloma humano.

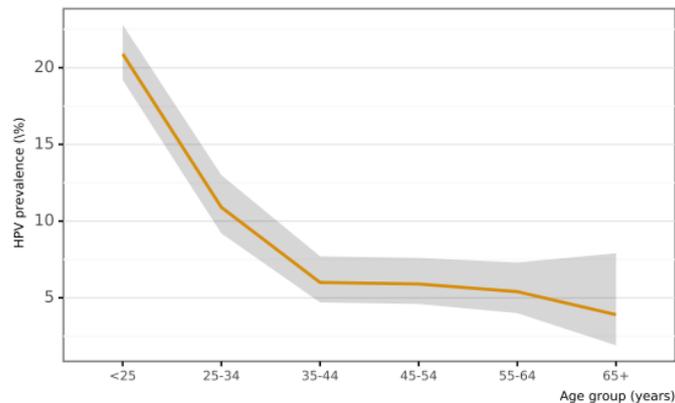
La infección por VPH se considera la infección de transmisión sexual (ITS) más común y se estima que el 80% de las mujeres sexualmente activas tendrán una infección por VPH a lo largo de su vida (28).

Su prevalencia es más alta entre las mujeres sexualmente activas, por lo que su máxima incidencia se da en la segunda década de vida, coincidiendo con las primeras relaciones sexuales.

Conforme incrementa la edad, se tiende a tener menor número de nuevas parejas sexuales y la prevalencia de infección disminuye (Figura 6). En España se estima una prevalencia de VPH en mujeres de la población general del 9% en el conjunto de todas las edades, siendo superior en mujeres jóvenes, y se observa un descenso gradual con la edad con tendencia a estabilizarse tras los 45 años hasta llegar a valores de prevalencia en torno al 5% en edades perimenopaúsicas (Figura 7) (29).



**Figura 6.** Prevalencia de VPH en Europa según grupos de edad (HPV Information Center)



**Figura 7.** Prevalencia de VPH (%) en España según grupos de edad en mujeres con un resultado normal de citología cervical (HPV Information Center)

En España, según el estudio epidemiológico CLEOPATRE, liderado por el Dr. Castellsagué y realizado en 17 Comunidades Autónomas de junio de 2007 a mayo de 2008, se estimó que la prevalencia global de infección por VPH en mujeres de entre 18 y 65 años en el momento de realizarse una citología es del 14.3%, y asciende a 28.8% en el subgrupo de entre 18 y 25 años. También se observó que el VHP-AR más común es el genotipo 16, presente en el 16,9% de las muestras VPH positivas (30). Otro estudio multicéntrico realizado sobre población española evidenció que los genotipos oncogénicos 16 y 18 están presentes en el 72,4% de los casos positivos, sin encontrarse cambios estadísticamente significativos en las últimas décadas (31). En 2015 se publicó el estudio más amplio realizado en España, liderado por Sanjosé y colaboradores, en el que se analizaron 758.690 citologías de 598.868 mujeres entre los años 2008 y 2011. En él se observó que la prevalencia de infección por VPH era del 6,7%(32).

Gracias a los datos recogido por el servicio de Anatomía Patológica y la sección de Patología del Tracto Genital Inferior del servicio de Ginecología del Hospital Universitario San Jorge entre los años 2012 y 2021, se conoce que la prevalencia de infección por VPH en nuestro centro es del 14,49% y asciende a un 23,62% en pacientes menores de 30 años. De ese 14,39%, el genotipo viral más común es el grupo de VPH de alto riesgo oncogénico distintos del 16 y 18, positivo en un 9,65%, seguido del genotipo 16 en un 2,54%, un 1,73% de coinfecciones por más de un genotipo viral de alto riesgo, y por último el VPH 18 en un 0,57%.

El 90% de las infecciones por VPH son transitorias y se consigue el aclaramiento espontáneo en un periodo de tiempo de 12 a 36 meses, siendo una minoría las mujeres con infecciones persistentes, las que progresan a lesiones precursoras de alto grado y cáncer de cérvix (33).

El 70% de las infecciones desaparecen en 24 meses y el 90% en 48 meses (28). Cabe destacar que la mediana de tiempo de aclaramiento es mayor en los VPH-AR, siendo de 14,8 meses para los de alto riesgo y de 11,1 meses en los de bajo riesgo, teniendo en cuenta además que la probabilidad de aclaramiento disminuye conforme aumenta la gravedad de la lesión intraepitelial (34).

De entre las mujeres infectadas por VPH, unas se convierten en VPH-negativas y realmente tienen un aclaramiento viral completo, pero otro porcentaje continúa teniendo genoma viral en las células basales del epitelio escamoso, siendo este bajo número de copias indetectable por las pruebas de detección molecular estándar (35). Las infecciones secundarias a la senescencia o en pacientes inmunosuprimidas con historias de cribado previamente negativas sin nuevas parejas sexuales, corroboran la reactivación de una infección latente por VPH (36).

### **3.2.5 Transmisión de la infección por VPH.**

La infección por VPH se transmite principalmente mediante relaciones sexuales debido al contacto con las superficies mucosas o cutáneas de sujetos infectados, siendo posible el contagio genital-genital, genital-manual, genital-oral y genital-anal. Otra vía de transmisión menos común es la perinatal (37).

Las zonas más susceptibles de infección y alta probabilidad de transformación neoplásica son la línea pectínea del canal anal y el cuello de útero, en concreto las células basales del epitelio metaplásico de la unión escamo-columnar (38).

El riesgo de infección por VPH está determinado por el comportamiento sexual de la paciente principalmente, siendo la edad de la primera relación sexual, el número de parejas sexuales o relaciones con hombres que han tenido múltiples parejas sexuales, los factores que más influyen para la adquisición de la infección. Dado que el VPH puede encontrarse en otras áreas de mucosa y piel del área genital que no quedan protegidas, el uso del preservativo no evita por completo el contagio, pero su correcto uso sí disminuye el riesgo de infección (39).

Existen determinados factores sociodemográficos como el área geográfica o el nivel socioeconómico que pueden influir en el riesgo de infección por VPH, tanto por el comportamiento sexual como por la dificultad de acceder a programas de cribado.

Como ya se ha mencionado previamente, únicamente un pequeño porcentaje de mujeres infectadas por VPH-AR desarrollará una neoplasia intraepitelial cervical de alto grado o carcinoma invasor.

Los cofactores que modifican este riesgo de progresión se clasifican en (28,40):

- **Virales:**
  - Genotipo viral: los genotipos 16 y 18 tienen mayor riesgo de progresión. Además, el genotipo 16 presenta mayor tasa de evasión al reconocimiento inmunológico y presenta un menor aclaramiento con respecto a otros genotipos virales.
  - Carga viral: una alta carga viral supone mayor riesgo de progresión a CCU, mientras que una carga viral baja no excluye la presencia de una lesión de alto grado o cáncer de cérvix.
  - Integración: la integración del ADN viral en el ADN del huésped es crucial para la transformación maligna.
- **Medioambientales:**
  - Multiparidad: a mayor número de embarazos, mayor riesgo de progresión a CCU. Puede relacionarse con factores hormonales, traumáticos durante el parto o un mayor tiempo de persistencia de la zona de transformación (ZT).
  - Anticoncepción hormonal (ACHO): existen discrepancias en los estudios publicados, pues el uso de ACHO está íntimamente relacionado con la actividad sexual.
  - Hábito tabáquico: es el cofactor que se ha relacionado de forma más fuerte con la progresión de la infección.
  - Estado de inmunosupresión.
  - Confecciones con otras enfermedades de transmisión sexual.
  - Algunas carencias nutricionales (vitamina C y E, antioxidantes).

### **3.3 LESIONES PRECURSORAS E HISTORIA NATURAL DEL CÁNCER DE CUELLO DE ÚTERO**

#### **3.3.1 Definición y clasificación de las lesiones escamosas intraepiteliales.**

La gran mayoría de los CCU se originan a partir de lesiones precursoras. La terminología usada para hacer referencia a las mismas se ha modificado a lo largo del tiempo, en relación con un mayor conocimiento de su agente causal y su evolución natural.

En 1941, Papanicolau publicó la primera clasificación nombrada numéricamente y que describía los siguientes cambios celulares (41):

- I. Hallazgos celulares esencialmente normales.
- II. Cambios celulares diversos, compatibles con alteraciones de tipo inflamatorio.
- III. Cambios celulares inciertos, algunos correspondientes a alteraciones inflamatorias y cambios regenerativos, sin incluir células con cáncer que se describen en la siguiente clase.
- IV. Células con cambios iniciales de cáncer, como el carcinoma in situ.
- V. Células con cambios indudables de cáncer.

En 1953, Raegan et al. utilizaron el término “**displasia**” para hacer referencia a las lesiones entre el carcinoma in situ y el epitelio normal. Lo dividieron en tres grupos: displasia leve, moderada y severa, en función de su menor o mayor potencial de progresión a carcinoma in situ e invasor.

En 1969, Richart introdujo el término **Neoplasia Cervical Intraepitelial** (CIN, del inglés *cervical intraepithelial neoplasia*) que se clasificó en lesiones de grado 1 (CIN I), 2 (CIN II) y 3 (CIN III) según su riesgo de progresión a cáncer (42).

En 1989, el National Cancer Institute Workshop, propuso una nueva clasificación para lesiones citológicas conocida como “sistema de clasificación de Bethesda”, utilizando el término de **Lesión Escamosa Intraepitelial** (SIL del inglés *Squamous Intraepithelial Lesion*). Las lesiones se clasificaban en dos categorías: SIL de bajo grado (LSIL del inglés *low-grade-SIL*) y SIL de alto grado (HSIL del inglés *high grade-SIL*). Una de las aportaciones en 2001 a esta clasificación fue la inclusión del término ASCUS (del inglés *Atypical Squamous Cell of Undetermined Significance*) definido en su última actualización como “alteraciones citológicas sugestivas de lesión intraepitelial, pero insuficientes cuantitativa o cualitativamente para un diagnóstico definitivo”. Durante años, se han designado las alteraciones citológicas mediante la terminología LSIL y HSIL, y las alteraciones histológicas siguieron usando los términos CIN I, II o III en función del grado de alteración tisular (43).

En el 2012, el Colegio Americano de Patología (CAP) y la Sociedad Americana de Colposcopia y Patología Cervical (SDCCP), con el fin de facilitar la comunicación entre los especialistas, consensuaron el sistema de **nomenclatura LAST** (del inglés *Lower Anogenital Squamous Terminology*). De este modo, se propuso utilizar los términos LSIL y HSIL para todas las lesiones escamosas intraepiteliales asociadas al VPH independientemente de haber sido identificadas en muestras citológicas o histológicas, así como de su localización en cuello de útero, vulva, vagina, ano, región perianal o pene. A su vez, esta información se completa con la terminología Neoplasia Intraepitelial (IN, del inglés *intraepithelial neoplasia*) y la sigla correspondiente a su localización (cuello de útero CIN, vagina VaIN, vulva VIN, ano AIN, área perianal PaIN y pene PeIN), acompañada del grado (-IN I, II o III) en caso de que sea un diagnóstico histológico. En 2014, esta clasificación fue aceptada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como terminología oficial. Actualmente, las lesiones CIN I se clasifican como LSIL y las lesiones CIN II o CIN III como HSIL (42).

**Tabla1.** Clasificación de las lesiones premalignas de cuello de útero.

Años 1950-1969 (Reagan)	Años 1970-1989 (Richart)	Años 1990-Actualidad (Bethesda)
Displasia leve	CIN I	L-SIL
Displasia moderada	CIN II	H-SIL
Displasia grave	CIN III	
Carcinoma in situ		

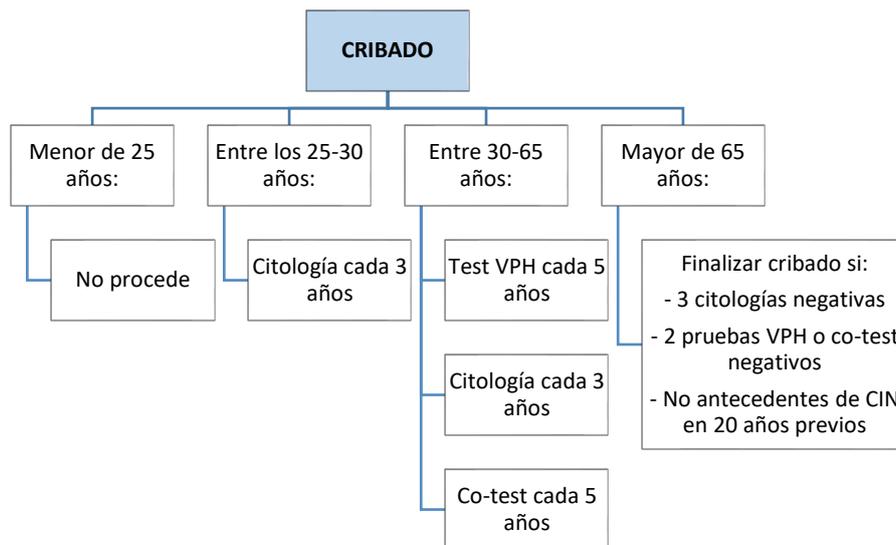
### 3.3.2 Riesgo de progresión a cáncer de cuello de útero.

Independientemente del genotipo de VPH causal, alrededor de un 60-80% de las lesiones LSIL/CIN I se resuelven espontáneamente sin tratamiento, y solo un pequeño porcentaje de entre el 5-10% progresan a HSIL/CIN II-III (44). Por el contrario, las lesiones HSIL/CIN II-III tienen un mayor riesgo de persistencia y por tanto de progresión a carcinoma invasor. En mujeres con HSIL/CIN II-III no tratadas el riesgo de transformación a carcinoma es del 30% en un plazo de 30 años, mientras que este riesgo en el grupo de mujeres correctamente tratadas es del 0,7% (45,46).

## 3.4 EL sanas DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO Y SUS LESIONES PRECURSORAS

### 3.4.1 Población diana del cribado

La mayoría de los programas de cribado del CCU se inician a los 25 años, con independencia de la edad de inicio de las relaciones sexuales, del estado vacunal u otros factores de riesgo.



**Figura 8.** Protocolo de prevención secundaria de cáncer de cuello de útero implantado en España. (Guía cribado cáncer cuello de útero, AEPCC 2022).

Dada la baja incidencia de CCU y la alta prevalencia de infecciones por VPH transitorias en mujeres menores de 25 años, no se recomienda el cribado en este grupo de edad ya que se traduce en un elevado coste económico, y sobrediagnóstico y tratamiento de lesiones con escaso potencial maligno. Por ello, antes de los 25 años se recomienda la prevención primaria mediante vacunación y programas de planificación familiar y prevención de ETS (Figura 8).

El cribado de CCU finaliza en torno a los 65-70 años, siempre que este haya sido negativo durante los últimos 10 años, ya sea con dos pruebas de VPH o con tres citologías negativas; y que no existan antecedentes de patología cervical (CIN) en los últimos 20 años. En pacientes con

antecedentes de patología cervical, se puede finalizar el cribado tras un periodo mínimo de 20 años desde la resolución de la patología con pruebas de cribado negativas, ya que este grupo tiene mayor riesgo de CCU comparado con la población general si no se lleva a cabo un adecuado seguimiento tras la conización cervical (47).

### 3.4.2 Pruebas utilizadas en el cribado.

Durante más de 50 años la prevención secundaria de CCU ha utilizado como método de detección inicial la citología cervical, y posteriormente como método de confirmación diagnóstica la colposcopia y biopsia para evaluar dichos resultados anormales citológicos. Desde su introducción a mediados del siglo XX, la citología de Papanicolau ha sido por tanto la principal herramienta en la prevención del CCU, demostrando su capacidad de reducción de la tasa de mortalidad cuando se realiza de forma sistemática dentro de los protocolos de cribado (48).

En cambio, en los últimos años, la evidencia científica ha demostrado que la prueba de detección de VPH tiene una mayor sensibilidad que la citología para la detección de lesiones precursoras de CCU, así como un mejor rendimiento en los programas de cribado (4).

### 3.4.3 Citología cervical:

- **Citología convencional:** consiste en la toma, observación e interpretación morfológica de las células obtenidas por cepillado de la superficie de exocérvix y endocérvix. Detecta cambios inflamatorios, infecciosos o la presencia de células atípicas y neoplásicas, pero dado que las células cervicales no solo presentan cambios morfológicos cuando son infectadas por el VPH, si no también cuando lo son por otros organismos o ante cambios en la flora vaginal normal, es de gran importancia que los citopatólogos distingan aquellos cambios específicos de infección por VPH de los inespecíficos. De este modo, se debe proporcionar un resultado que permita decidir a los especialistas si se trata de un caso con potencial riesgo de desarrollar CCU en los próximos años o no, y por tanto el manejo de la paciente. Esta es la razón por la que la experiencia de los profesionales, el establecimiento de criterios de calidad en los laboratorios y la monitorización de los resultados son las bases para que el diagnóstico citológico sea adecuado (49).

Uno de los inconvenientes de la citología convencional es la dificultad para una correcta visualización de todas las células tras la extensión manual de la muestra cervical sobre el soporte de cristal, siendo aproximadamente un recuento de 300.000 células por extensión. Por ello, se han desarrollado técnicas que permiten realizar una extensión celular en una sola capa, conocida como citología en monocapa o en medio líquido.

- **Citología en medio líquido:** esta alternativa permite suspender las células exfoliadas y fijarlas de forma inmediata tras su toma en un medio líquido de base alcohólica, que permite su almacenamiento y transporte, realizándose posteriormente la

extensión en monocapa el laboratorio. Con este tipo de citología se consigue disminuir el porcentaje de casos “no valorables” y no se utiliza todo el material recogido para el estudio citológico, por lo que el remanente conservado en el líquido de conservación a temperatura ambiente durante meses permite realizar distintas pruebas como la determinación molecular de VPH o técnicas de inmunohistoquímica, evitando la realización de una nueva toma a la paciente que implicaría nuevas consultas y aumento del gasto sanitario (50).

Según los últimos estudios europeos y norteamericanos, las tasas de sensibilidad de la citología para la detección de una lesión de alto grado (HSIL/CIN II-III) son muy variables debido a la baja reproducibilidad de la citología, con una media del 53% (51), no superando el 80% en las mejores condiciones de calidad y una especificidad en torno al 90% (52). Las principales fortalezas de los métodos de detección basados en la citología son la simplicidad inherente de la prueba, el coste relativamente bajo y el amplio conocimiento a cerca de los patrones citológicos de lesiones precancerosas.

#### **3.4.4 Métodos de detección del virus del papiloma humano.**

##### **3.4.4.1 Métodos de biología molecular:**

La base de la detección del VPH es la identificación de los ácidos nucleicos de su genoma en los tejidos infectados, ya que no puede ser cultivado. Las pruebas moleculares tienen una mayor sensibilidad que la citología, aumentando la tasa de detección de lesiones de alto grado (HSIL/CIN II-III) o CCU. En mujeres por encima de los 30 años, esta alta sensibilidad se traduce en un valor predictivo negativo (VPN) próximo al 100%, por lo que un resultado negativo implica una muy baja probabilidad de tener una lesión de alto grado en los próximos 5-7 años.

Además, con esta prueba aumenta el diagnóstico de adenocarcinomas cervicales y sus lesiones precursoras, un dato de gran importancia ya que su incidencia permanece estable o incluso en aumento en países cuyo cribado se basa en la citología cervical exclusivamente, siendo esta un método muy poco sensible para su detección.

A continuación, se describen las técnicas de análisis del VPH aprobadas por la FDA (Food and Drugs Administration) para su uso en el cribado de CCU:

##### ➤ **Análisis del ADN de VPH-AR:**

- **Captura de híbridos:** es el método más contrastado y experimentado. Esta técnica utiliza una secuencia de ARN en lugar de ADN. Requiere células en suspensión, sin poder aplicarse sobre tejidos. Dado que es un método ampliamente usado, se utiliza como modelo para realizar estudios comparativos con otras pruebas de cribado. El más comercializado es el kit Hybrid Capture 2® (HC2) que permite la identificación grupal de 5 tipos virales de bajo riesgo (VPH-BR) (6,11,42,43,44) y 13 de alto e intermedio riesgo oncogénico (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68), si bien en el cribado de CCU y por tanto en la práctica clínica sólo se usa la sonda de alto riesgo. Su inconveniente es que no discrimina el genotipo viral específico. (53,54).

- **Hibridación in situ (Cervista):** esta técnica se basa en la utilización de sondas marcadas que hibridan específicamente con el ADN del VPH-AR situado intracelularmente. Tampoco puede realizarse sobre tejidos, únicamente sobre citología.

Hay comercializados distintos kits que permiten detectar un amplio grupo de genotipos de VPH, pero sin identificarlos de forma individual. Sus principales ventajas son la visualización morfológica de las células infectadas, así como su gran especificidad, es decir, la detección de VPH-AR mediante hibridación in situ se asocia casi siempre a la presencia de lesiones cervicales (55). Cabe mencionar que las infecciones latentes en un epitelio cervical normal suelen ser negativas y que el gran inconveniente es su baja sensibilidad, que varía entre un 40-70%, ya que es necesario un número elevado de copias para que se puedan detectar, lo que la convierte en una técnica no recomendada para el cribado de CCU(56).

- **Reacción en cadena de la polimerasa (PCR):** estos métodos se basan en la amplificación de ADN viral mediante primers o cebadores. Gracias a la acción de la polimerasa de ADN se consigue la amplificación de un fragmento del ADN del VPH de interés, obteniéndose millones de copias a partir del mismo. Puede utilizarse sobre cualquier tipo de muestra, como células sobre portaobjetos, en suspensión o muestras histológicas (57,58).

Actualmente existe un alto número de test basados en PCR como GP5+/GP6+, PGMY09/11, SPF, Amplicor MXP, Linear Array, Inno-Lipa, PapilloCheck y Cobas 4800. Este último se trata de un sistema automatizado de PCR en tiempo real que indica si la muestra es positiva o negativa para VPH-AR y cuyos resultados aparecen diferenciados en cuatro grupos: VPH 16, 18, VPH no 16-18 (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 o 68) y beta-globina, que se utiliza como control interno en cada muestra. Entre sus ventajas destaca que carece de reactividad cruzada con genotipos no carcinogénicos y al estar totalmente automatizado reduce el tiempo de procesamiento por parte de los técnicos de laboratorio y patólogos(59).

Un segundo estudio muy reciente con similares conclusiones es el ATHENA24, cuyo objetivo principal fue la aprobación del sistema Cobas 4800 por la FDA para su uso en el cribado poblacional de CCU. Fue evaluado en un estudio llamado ATHENA, realizado en Estados Unidos y cuyo principal objetivo fue la aprobación del sistema Cobas 4800 por la FDA para su utilización en el cribado poblacional de CCU (60), mostrando una gran sensibilidad, así como alta concordancia con los resultados obtenidos mediante otras técnicas de referencia. Además, no se han observado reacciones cruzadas con VPH-BR, y su reproductibilidad y grado de automatización son muy elevados. Por todas estas razones, se trata de uno de los sistemas más extendidos para el cribado de CCU(61).

Estas técnicas de detección de VPH han sido aprobadas por la FDA para su uso en el cribado de CCU como prueba réflex, es decir, como triaje tras un resultado citológico de atipias de significado incierto (ASC-US) o como co-test. Pero únicamente dos técnicas disponen de la aprobación por la FDA para su uso en el **cribado primario**:

- Cobas: prueba de detección de ADN viral basados en técnicas de amplificación de fragmentos del ácido nucleico viral diana mediante PCR. Detecta los 14 genotipos virales de alto riesgo oncogénico, e información individual para el VPH 16 y 18
- Onclarity: prueba de detección de ADN viral basados en técnicas de amplificación de fragmentos del ácido nucleico viral diana mediante PCR. Detecta los 14 genotipos virales de alto riesgo oncogénico e informa de resultados de seis genotipos individuales de VPH (VPH16, VPH18, VPH31, VPH45, VPH51 y VPH52), con los ocho genotipos restantes de alto riesgo indicados en tres pequeños grupos: (VPH33, VPH58), (VPH35, VPH39, VPH68) y (VPH56, VPH59, VPH66).

➤ **Detección de ARN vírico:**

La detección del ARN mensajero (ARNm) de los oncogenes virales E6 y E7 se traduce en una integración del material genético viral en el ADN celular, así como la expresión de dicho ADN viral. Por tanto, se trata de una estrategia diagnóstica mucho más específica que la detección del ADN viral, ya que, dado que se correlaciona con el grado lesional, añade a su papel como método de cribado, el de marcador pronóstico de riesgo de cáncer. Existen dos métodos de detección de ARNm E6/E7, la prueba Aptima (Gen-Probe) y la prueba PreTect HPV-Proofer (NorChip)(62,63).

De entre las dos pruebas, Aptima es un sistema automatizado que detecta 14 tipos de VPH-AR (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 o 68), que desde 2011 está aprobado por la FDA y validado en la plataforma Panther como co-test (asociado a citología) y para la selección de las citologías de ASC-US(64).

### **3.4.5 La colposcopia:**

Aunque las pruebas de cribado permiten identificar a mujeres con un mayor riesgo de lesiones premalignas de alto grado o cáncer invasivo, es necesaria una prueba de diagnóstico como la colposcopia ante resultados citológicos anormales para la localización de la lesión y obtener así la confirmación diagnóstica. La colposcopia es una técnica de exploración óptica magnificada de los epitelios del cuello de útero, vagina y vulva, que permite identificar características epiteliales patológicas inapreciables a simple vista, y localizar el área más sospechosa para realizar una biopsia. (65).

Durante la colposcopia se debe explorar la zona de transformación (ZT). Se llama así al lugar de unión entre el epitelio endo y exocervical, correspondiéndose histológicamente a la unión entre epitelio cilíndrico y epitelio plano estratificado no queratinizado. Durante la etapa de vida sexual activa, entre estos dos epitelios, existe una tercera zona formada por células de tipo metaplásico que representan la transformación de la monocapa de células cilíndricas en células del epitelio exocervical distribuidas en varias capas, lo que les proporciona mayor resistencia. En este sitio es donde ocurre con mayor frecuencia la transformación neoplásica.

En función de si es posible identificarla o no, se describe la colposcopia como ZT tipo 1 si es visible completamente, tipo 2 si parte de la unión escamo columnar se introduce en el canal cervical

y precisa de maniobras adicionales para hacerla visible y tipo 3 cuando no es posible visualizarla (Figura 9) (66).

Figure: Transformation zone (TZ) types

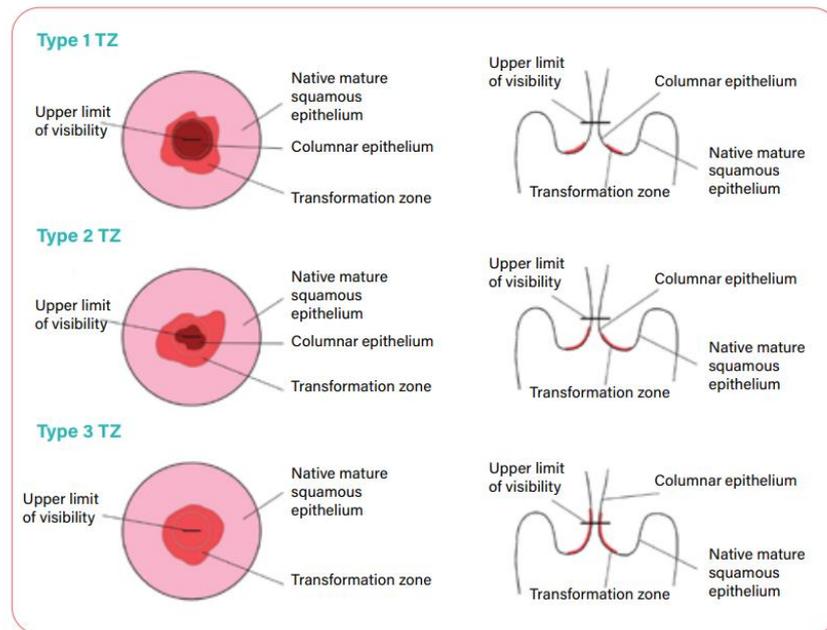


Figura 9. Tipos de zona de transformación (ZT) (Prendiville et al. 2017)

Se trata de una técnica con una elevada sensibilidad cercana al 94% para la detección de lesiones de alto grado, pero con una especificidad del 50%, ya que existen cambios anómalos que no se corresponden con lesiones intraepiteliales. Su principal objetivo es obtener una adecuada correlación entre la impresión de la imagen colposcópica y el resultado histológico de la lesión. Por ello, es de gran importancia una formación adecuada del colposcopista y mantener una evaluación constante de los resultados de la citología, la colposcopia y la histología en la práctica clínica. Por tanto, se recomienda que el proceso esté estandarizado y se utilice una terminología uniforme para una adecuada comunicación entre colposcopistas, siendo actualmente la más utilizada la introducida en 2011 por la International Federation of Cervical Pathology and Colposcopy (IFCPC)(67).

### 3.4.6 El estudio histológico.

El diagnóstico anatomopatológico se considera diagnóstico final de las lesiones precursora de CCU. Conforme aumenta el grado CIN, aumenta el espesor de epitelio con células indiferenciadas y se reduce el que presenta células maduras bien diferenciadas. Los criterios utilizados en el examen histológico son similares a los de la citología: alteraciones nucleares en forma de aumento de tamaño del núcleo, hiper cromasia o irregularidad del contorno. Estas alteraciones establecen el diagnóstico de SIL/CIN, y su gradación se establece en función de la gravedad de la alteración madurativa (68).

### 3.5 TRATAMIENTO FRENTE A LESIONES PRECURSORAS DE CANCER DE CUELLO DE UTERO

Según las últimas recomendaciones de la OMS, un tratamiento correcto requiere de la realización un examen colposcópico previo, llevado a cabo por un colposcopista experimentado, así como un registro adecuado de los hallazgos del mismo en un formato estructurado. En él, debe quedar constancia de la adecuación del examen, el tipo y tamaño de la zona de transformación (ZT).

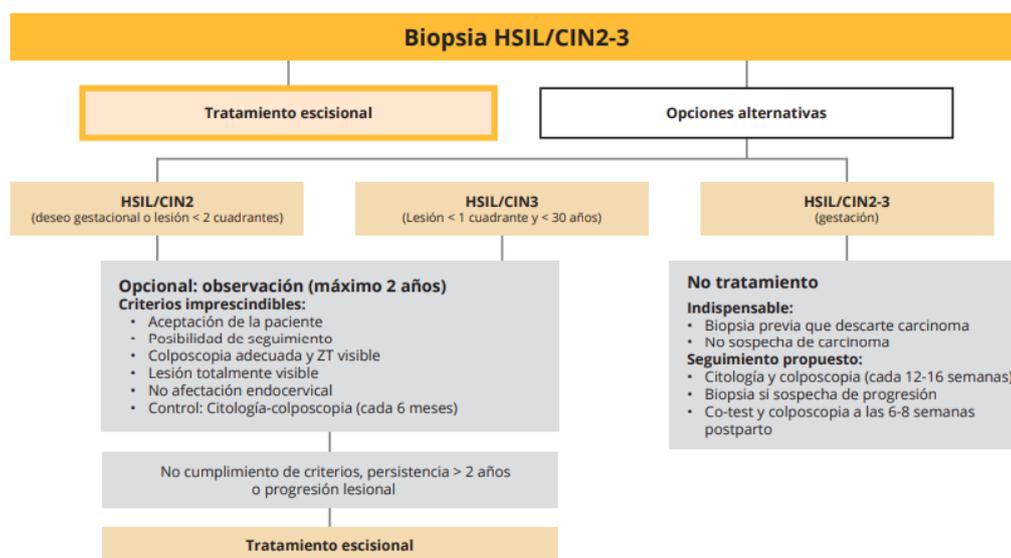
El tratamiento debe lograr la erradicación completa de la ZT y no solo de la lesión. Independientemente de si se utiliza un método escisional o destructivo, se considera óptima una profundidad de 7 mm, ya que la cripta glandular más profunda puede contener CIN hasta 4 mm y por tanto una destrucción de hasta 7 mm proporciona un grado adecuado de seguridad (66).

#### 3.5.1 Manejo de las lesiones de alto grado (HSIL/CIN II-III).

En general, las pacientes con HSIL/CIN III que no reciben tratamiento presentan un riesgo de progresión a CCU del 30% en un periodo de 30 años, mientras que la tasa de progresión a carcinoma invasor de las lesiones de HSIL/CIN II es del 22%.

Estudios recientes muestran que hasta el 40-74% de las pacientes con diagnóstico histológico de HSIL/CIN II pueden regresar espontáneamente en los 2 siguientes años al diagnóstico. Los factores más frecuentemente asociados a la regresión son la edad inferior a los 25 años, las lesiones poco extensas y la negativización del VPH.

Actualmente se recomienda el tratamiento de todas las pacientes con HSIL/CIN II-III, ya que globalmente presentan mayor riesgo de persistencia o progresión que de regresión y el tratamiento de dichas lesiones reduce la incidencia y mortalidad por CCU. Sin embargo, en situaciones especiales está aceptada la observación sin tratamiento por la elevada tasa de regresión. A continuación, en la Figura 10, se expone el algoritmo de tratamiento recomendado por la AEPCC.



**Figura 10.** Algoritmo de tratamiento de las H-SIL/CIN2-3 según: AEPCC-Guía: Prevención del cáncer de cuello de útero. (AEPCC, 2022).

### 3.5.2 Tipos de tratamiento.

Existen dos tipos de abordaje para el tratamiento de las lesiones cervicales intraepiteliales: tratamientos escisionales o destructivos.

#### 3.5.2.1 Tratamientos escisionales:

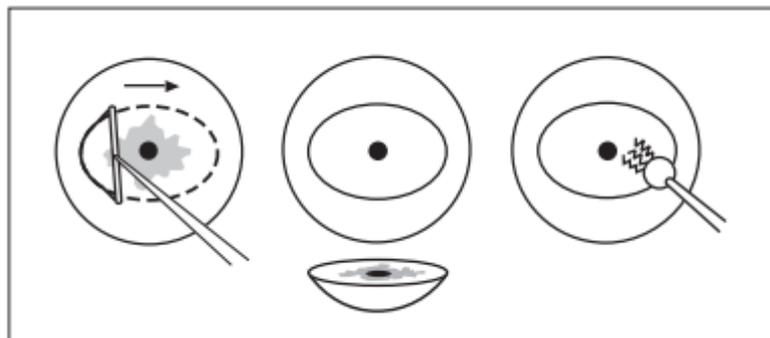
El objetivo de estos tratamientos es extirpar por completo la lesión intraepitelial de alto grado y obtener una pieza quirúrgica para su posterior estudio anatomopatológico. Por tanto, esta evaluación histológica confiere a este tipo de tratamiento ciertas **ventajas** entre las que destacan: confirmar el diagnóstico de la lesión, comprobar los márgenes de la pieza valorando el potencial riesgo de recidiva, o descartar lesiones microinfiltrantes o invasoras que requieran un tratamiento adicional. Entre sus **inconvenientes**, dada la necesidad de anestesia y un equipo más complejo que el usado con los métodos destructivos, supone un mayor coste que estos. Además, presentan una tasa mayor de complicaciones como hemorragia intra o postquirúrgica, infección de la herida, estenosis cervical o riesgo de parto prematuro en un futuro embarazo (69).

Las lesiones microinfiltrantes y el CCU pueden ser infradiagnosticadas por la biopsia dirigida por colposcopia, y detectarse únicamente en la pieza de escisión, circunstancia que sucede en el 2-5% de los casos tratados. Se han descrito unas tasas de curación 90-97% con tratamiento escisionales.

#### ➤ Conización con asa de diatermia:

También conocida como LEEP del inglés *Loop Electro-Excision Procedure* o LLETZ del inglés *Large Loop Excision of Transformation Zone*, fue introducida para la toma de biopsias con finalidad diagnóstica por Cartier en 1984. Dos años más tarde, fue propuesta con fines terapéuticos por Walter Prendiville (70), y es actualmente el procedimiento escisional más utilizado. Se trata de un procedimiento sencillo, común, rápido y de bajo coste.

Se disponen de distintos tamaños de asa diatérmica, lo que permite una adecuada adaptación a las características de la lesión cervical que se va a extirpar. Se recomienda realizar la escisión preferiblemente sin fragmentar la pieza, es decir, en un solo corte, no dificultando así la valoración de los márgenes (Figura 11) (71).



**Figura 11.** LEEP de una lesión ectocervical en un solo corte: excisión de la pieza quirúrgica y coagulación posterior con bola diatérmica (WHO 2014).

La conización con asa de diatermia tiene una tasa de curación para lesiones CIN II-III del 90%. La tasa de complicaciones es de un 7-10%, siendo más de la mitad de los casos sangrados intra o postquirúrgicos. La estenosis cervical ocurre en un mínimo porcentaje y puede dar lugar a hematometra, infertilidad y dificultades en la interpretación colposcópica posterior (72).

En cuanto a la morbilidad obstétrica posterior a la conización cervical, esta se ve relacionada con las dimensiones de la pieza quirúrgica. La anchura de la pieza no se asocia con un mal resultado en un futuro embarazo; sin embargo, este resultado sí se ve influenciado por la profundidad de la pieza. Una escisión >10-12mm y sobre todo >15 milímetros de profundidad, aumenta significativamente el riesgo de prematuridad general y extrema, y de otras complicaciones obstétricas como la amenaza de parto prematuro, ruptura prematura de membranas, corioamnionitis, bajo peso al nacer, y mortalidad perinatal (73,74).

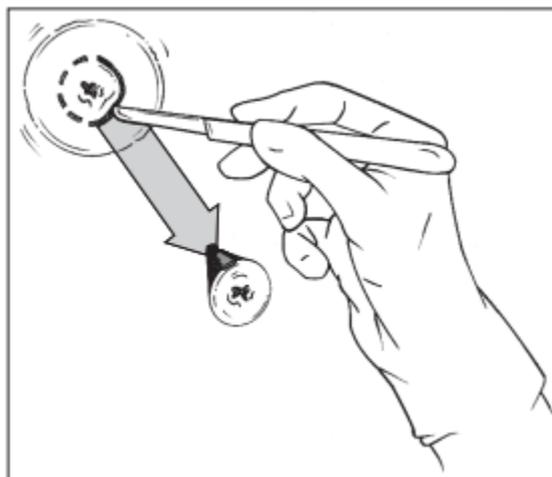
➤ **Conización con láser:**

Se trata de un procedimiento similar al asa de diatermia, con el inconveniente de que se trata de un procedimiento más lento y produce mayor artefacto térmico, así como un mayor coste y entrenamiento por parte del profesional que lo realiza. Por todo ello ha sido sustituida por el asa de diatermia.

➤ **Conización con bisturí frío:**

Fue la primera técnica utilizada como tratamiento escisional de lesiones cervicales premalignas, pero actualmente se encuentra en desuso. Entre sus inconvenientes destaca una mayor distorsión anatómica postquirúrgica ya que se suele realizar más extirpación de tejido del necesario, y una mayor tasa de complicaciones como hemorragia intra o postoperatoria y mayor morbilidad obstétrica comparado con LEEP (Figura 12).

Este método puede reservarse para el tratamiento de casos de CIN II/III con una extensa afectación del canal endocervical; o en casos de adenocarcinoma in situ y carcinoma microinvasivo. Estos dos diagnósticos requieren un control minucioso en la profundidad de la excisión realizada, algo difícil de controlar con un asa. Además, evita el artefacto térmico provocado con el asa diatérmica, permitiendo un mejor estudio del estado de los márgenes de la pieza quirúrgica (72).



**Figura 12.** Tratamiento escisional con bisturí frío (WHO 2014).

### 3.5.2.2 Tratamientos destructivos o ablativos:

El objetivo de estos tratamientos es la destrucción física de la lesión y toda la ZT, con el inconveniente de que no se obtiene tejido para estudio histológico, pudiendo pasar desapercibidas zonas de infiltración. Incluyen la coagulación térmica, la crioterapia y la vaporización con láser de CO<sub>2</sub>, siendo las dos últimas las más utilizadas.

Las técnicas destructivas se realizan únicamente en pacientes seleccionados que cumplan los siguientes requisitos: ZT de tipo 1, legrado endocervical (LEC) negativo previo, lesiones que ocupen <75% de la superficie del exocérnix, confirmación histológica del diagnóstico y exclusión de invasión ni neoplasia glandular y concordancia cito-histológica.

Se han descrito tasas de curación 85-95% con tratamientos ablativos. Se indican ante lesiones extensas que ocupan fondos de saco vaginal o en países con recursos limitado en lo que los tratamientos destructivos son menos asequibles.

#### ➤ Crioterapia:

Se trata de un método barato, indoloro y sencillo, con el inconveniente de no poderse delimitar fácilmente los límites del tejido que se desea tratar. Sus tasas de curación son del 77-93% y se indicarían en centros con pocos recursos o ante LSIL/CIN I.

#### ➤ Vaporización con láser CO<sub>2</sub>:

Se trata de una técnica precisa, pero costosa y que requiere personal entrenado. Sus tasas de curación son del 95-97% y se indicaría ante lesiones extensas que alcanzan fondo de saco vaginal, obteniéndose una excelente restitución anatómica.

### 3.5.3 Persistencia de enfermedad residual tras tratamiento escisional.

Las tasas de persistencia de la lesión son similares entre los distintos tratamientos escisionales (75). Según los datos publicados por la Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia en el año 2022 en la Guía de Prevención de Cáncer de Cuello Uterino, entre el 5 y 15% de las mujeres tratadas por HSIL/CIN II-III mediante conización presentarán enfermedad persistente/recurrente en el seguimiento (4). Se denomina lesión persistente o residual a la lesión que se diagnostica durante los controles realizados en el curso del primer año postratamiento. Se denomina lesión recurrente o recidiva a la que se presenta después del primer año de seguimiento, pudiendo considerarse en este caso una nueva lesión (76).

Se define enfermedad persistente o residual a la lesión que diagnostica durante los controles realizados en el curso de los 12 primeros meses tras de tratamiento, asumiéndose como una lesión incompletamente escindida. Se denomina enfermedad recurrente o recidiva a la que se presenta después del primer año de seguimiento, pudiendo considerarse en este caso una nueva lesión

Entre los factores implicados en la persistencia/recurrencia lesional post-conización se han descrito la edad por encima de 50 años, un estado de inmunosupresión, el hábito tabáquico, el genotipo VPH 16, el grado de citología, el grado de lesión en biopsia y el estado de los márgenes quirúrgicos de la pieza de conización o persistencia de VPH-AR durante el seguimiento. (77,78).

El riesgo de HSIL/CIN II-III en mujeres tratadas por una lesión premaligna es del 5% (IC95% 0,4-19%) y el riesgo de desarrollar un CCU es cinco veces mayor que el de la población general durante los siguientes 20 años (79). Este riesgo se ve incrementado a un 17% (IC95% 13-22%) si los márgenes quirúrgicos están afectados. Por tanto, está justificada la obligatoriedad de un seguimiento postratamiento adecuado, que permita identificar y tratar de forma precoz dichas lesiones (80).

Actualmente, dado la mayor sensibilidad de la prueba VPH frente a la citología, se utiliza esta prueba de forma preferente en los protocolos de seguimiento. Un resultado positivo en el primer control tras la conización es el principal predictor de persistencia de lesión cervical, con un riesgo de persistencia/recurrencia del 91% (IC95% 82.96%) independientemente del estado de los márgenes quirúrgicos. En cambio, un resultado negativo supone un valor predictivo negativo próximo al 100%, sobre todo en mujeres vacunadas tras el tratamiento (81).

El seguimiento en mujeres tratadas por SIL/CIN debe realizarse durante un periodo mínimo de dos años. Tras este tiempo, si todos los resultados son negativos, la paciente puede continuar el programa de cribado rutinario para cáncer de cuello de útero(82).

### **3.6 VACUNAS FRETE A VPH**

El cáncer de cérvix es el resultado final de una infección de transmisión sexual persistente y, por tanto, la vacunación es una estrategia fundamental en la prevención primaria del cáncer cervical y la patología premaligna asociada a la infección por VPH. Dicha persistencia ocurre sólo en el 10% de las mujeres infectadas y de estas, sólo un 1% desarrollará lesiones neoplásicas asociadas al VPH (83).

De los genotipos que infectan el tracto anogenital, se estima que el 70% de los carcinomas cervicales están causados por los genotipos virales 16 y 18, y más del 90% de las verrugas genitales por los genotipos 6 y 11.

#### **3.6.1 Partículas similares al virus: VLP (virus like particles)**

Las vacunas frente al VPH utilizan como inmunógenos los antígenos de la cápside viral y están formadas por partículas infecciosas similares al virus llamadas VLPs (del inglés, *virus like particles*). Mediante ingeniería genética y técnicas de recombinación, utilizando células procariotas con un fragmento de ADN de VPH insertado, se sintetizan proteínas del antígeno mayor de la cápside L1. Estas proteínas L1 tienen capacidad de autoensamblaje, formándose las partículas pseudovíricas VLPs. Carecen de ADN, por lo que no tienen capacidad infectiva ni replicativa en el huésped, pero son similares a los viriones antigénicamente, por lo que cuando se presentan al sistema inmunitario son altamente inmunogénicas(84,85).

#### **3.6.2 Vacunas VHP-VLP L1**

Actualmente existen tres modelos de vacuna frente al VPH autorizados por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA): la bivalente, la tetravalente y la nonavalente. La vacuna bivalente

está constituida por VLPs de los genotipos 16 y 18 y recibe el nombre de Cervarix® (Laboratorios GlaxoSmithKline).

La tetravalente, llamada Gardasil® (laboratorios Merck Research / Sanofi Pasteur MSD) contine además VLPs de los genotipos 6 y 11. La última vacuna desarrollada es la nonavalente, llamada Gardasil 9® (laboratorios Merck Sharp & Dohme) que incluye VLPs de los 4 genotipos incluidos en la tetravalente, así como los de los genotipos 31, 33, 45, 52 y 58, cubriendo un 20% adicional de casos de CCU, y por tanto alcanzando con esta vacuna un potencial preventivo total para el cáncer cervical del 90%. Estas vacunas son diferentes en su composición, carga antigénica, adyuvante y sistema de expresión y conformación de las VLP (Tabla 2).

**Tabla 2.** Comparación de las vacunas actualmente disponibles en España. (86,87)

CARACTERÍSTICAS	VACUNAS		
	Bivalente	Tetravalente	Nonvalente
<b>Laboratorio</b>	GlaxoSmithKline	Merck Research / Sanofi Pasteur MSD	Merck Sharp & Dohme
<b>Nombre comercial</b>	Cervarix®	Gardasil®	Gardasil 9®
<b>Año de comercialización</b>	2006	2009	2014
<b>Principio activo</b>	VLPs : - Tipo 16 (20µg) - Tipo 18 (20µg)	VLPs: - Tipo 6 (20µg) - Tipo 11 (40µg) - Tipo 16 (40µg) - Tipo 18 (20µg)	VLPs: - Tipo 6 (30µg) - Tipo 11 (40µg) - Tipo 16 (60µg) - Tipo 18 (40µg) - Tipo 31 (20µg) - Tipo 33 (20µg) - Tipo 45 (20µg) - Tipo 52 (20µg) - Tipo 58 (20µg)
<b>Sistema de expresión de la proteína L1</b>	VLPs expresadas en Baculovirus que utiliza células Hi-5 Rix4446 derivadas de Trichoplusia ni.	VLPs expresadas en células de Saccharomyces cervisiae CANADE 3C-5 (Cepa 1895).	VLPs expresadas en células de Saccharomyces cervisiae CANADE 3C-5 (Cepa 1895).
<b>Adyuvante</b>	Formulación ASO4: 500 microgramos de hidróxido de aluminio y 50 microgramos de monofosforil lípido A.	225 microgramos de hidroxifosfato sulfato de aluminio amorfo (AAHS).	500 microgramos de hidroxifosfato sulfato de aluminio amorfo (AAHS).
<b>Pautas*</b>	0, 6 meses (9-14 años) 0, 1, 6 meses (≥ 15 años)	0, 6 meses (9-13 años) 0, 2, 6 meses (≥ 14 años)	0, 6 meses (9-14 años) 0, 2, 6 meses (≥ 15 años)

\* En caso de inmunosupresión, la pauta será siempre de tres dosis.

Las vacunas frente al VPH tienen una eficacia profiláctica, previniendo la infección de aquellos genotipos virales que contienen, pero no modifican la historia natural de las infecciones que ya están en curso producidas por dichos tipos de VPH incluidos. Por esta razón, su potencial preventivo es mayor cuando se aplican a personas no expuestas, es decir, en adolescentes antes de sus primeras relaciones sexuales.

Además, se baraja una posible protección cruzada frente a otros genotipos no incluidos en la vacuna, basado en la relación filogenética entre los diferentes tipos de VPH. Se ha observado una protección cruzada frente a los genotipos 31, 33, 45, 52 y 58 con la vacuna bivalente y tetravalente. Esta eficacia para VPH-AR no incluidos, proporcionaría un incremento de protección frente al carcinoma cervical del 11-16% respecto a la protección conferida únicamente por los genotipos de VPH incluidos en la vacuna (88,89).

Los tres tipos de vacuna presentan una elevada inmunogenicidad, generando más de 40 veces los títulos de anticuerpos neutralizantes que se alcanzan con la infección natural. Estos anticuerpos evitan que el virus se adhiera a la membrana basal, la unión a la superficie celular se detiene y el complejo anticuerpo-virus es eliminado por la acción de los neutrófilos. El nivel mínimo de anticuerpos que proporciona protección no se conoce con exactitud, pero a mayor título y persistencia de los mismos, mayor será la protección a largo plazo (90).

Existe una alta evidencia a cerca de la seguridad y la eficacia de la vacunación frente al VPH. Según los resultados de diversos ensayos clínicos, las tres vacunas son eficaces en la prevención de infecciones cervicales incidentes, transitorias y persistentes causadas por los VPH 16 y 18, así como las alteraciones citológicas y lesiones precursoras cervicales asociadas a dichos genotipos(91). Además, la vacuna tetravalente y nonavalente ha demostrado eficacia frente a verrugas genitales superior al 98% en mujeres y al 90% en hombres. Con respecto a los resultados de seguridad de los ensayos clínicos, se ha demostrado un adecuado perfil de tolerancia y seguridad de las tres vacunas. Entre los efectos secundarios más frecuentes se encuentra el dolor, eritema e inflamación local en el lugar de la inyección, y con menor frecuencia, fiebre, cansancio, cefalea o dolor muscular (28).

### **3.6.3 Indicaciones de la vacunación frente a VPH.**

La edad en la que está indicada la vacunación difiere según el país y su agencia reguladora. En España los tres tipos de vacuna autorizadas están indicados a partir de los 9 años tanto en hombres como en mujeres, sin establecer límite superior de edad. No está indicada su administración en menores de 9 años por la falta de estudios sobre el nivel de seguridad e inmunogenicidad en este grupo de edad.

En 2007, el Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud Español aprobó la vacunación sistemática frente al VPH en una sola cohorte de niñas de 11 a 14 años. En 2008 se inició la administración de la vacuna bivalente hasta el año 2014. El objetivo era que en 2016 todas las Comunidades Autónomas hubiesen unificado la edad de vacunación a los 12 años. La cobertura global nacional en 2015 para la pauta completa de vacunación fue del 77,8%, mientras que en Aragón ascendía a 88,3%. Los últimos datos publicados por el Ministerio de Sanidad en 2019 reflejan tasas de vacunación con pauta completa del 79%, con un total de 171,929 mujeres vacunadas (92).

La vía de administración es intramuscular en el deltoides. No están indicadas las dosis de recuerdo. Entre las contraindicaciones absolutas para su uso se encuentra la hipersensibilidad a alguno de sus componentes o el antecedente personal de reacción anafiláctica a una dosis previa. En caso de embarazo, se recomienda posponer las dosis restantes hasta después del parto, aunque no es necesario en caso de ser administrada tomar ninguna medida adicional ya que no se han observado efectos teratógenos o adversos en gestantes que han sido vacunadas.

Está indicado un correcto seguimiento a los programas de cribado de cáncer de cuello de útero, independientemente del estado de vacunación.

### **3.6.3.1 Vacunación en mujeres tratadas por lesiones intraepiteliales cervicales de alto grado.**

Las mujeres tratadas por lesiones cervicales premalignas tienen un riesgo de recurrencia del 5-15%, y 5 mayor riesgo de carcinoma cervical que la población general. Por ello, aunque las vacunas frente al VPH no han demostrado un efecto terapéutico en pacientes con lesiones cervicales intraepiteliales, dado que la persistencia del VPH es el principal factor de riesgo de progresión o recurrencia de dichas lesiones, se ha propuesto la vacunación como tratamiento adyuvante en aquellas pacientes que han sido tratadas por lesiones cervicales premalignas de alto grado (93).

Se ha descrito una disminución del riesgo de persistencia/recurrencia lesional en mujeres vacunadas frente al VPH del 59% (90). En España, la vacunación en pacientes que han sido sometidas a conización cervical está incluida en el Calendario de Vacunación del Adulto aprobado en 2018.

Además, desde hace unos años, se está investigando a cerca del desarrollo de una vacuna terapéutica que pueda tratar la infección por VPH y las lesiones intraepiteliales cervicales derivadas de la misma. Hasta su que no se consiga disponer de tales vacunas, está creciendo el uso de la vacuna profiláctica administrada a pacientes que han sido tratadas por CIN (94).

El mecanismo de acción de la vacuna en pacientes que ya han sido tratadas no está del todo claro. Se considera que produce una reducción de las tasas de recurrencia de infección y lesiones intraepiteliales por VPH, ya que en pacientes que no han sido vacunadas previamente, actúa como prevención primaria y protege contra nuevas infecciones; y además puede evitar la pérdida de eficacia inmunológica frente a la reactivación del VPH. Inmunológicamente, las vacunas profilácticas parecen inducir un cambio en la respuesta inflamatoria local del cérvix, reduce los niveles de TNF $\alpha$  y otras citoquinas proinflamatorias (95).

Se han realizado diversos estudios que estudian el papel adyuvante de la vacunación en pacientes que han sido tratadas por lesiones cervicales intraepiteliales de alto grado, observándose discrepancia en los resultados en cuanto a la eficacia de la misma. Por tanto, actualmente no se dispone de bibliografía consistente que demuestre la disminución del riesgo de persistencia/recurrencia en mujeres vacunadas frente al VPH a largo plazo.

## **4 HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS DEL PROYECTO**

El cáncer de cérvix es uno de los principales problemas de salud en todo el mundo. Las neoplasias cervicales intraepiteliales (CIN) son precursoras del carcinoma invasor y constituyen un diagnóstico dinámico marcado por la evolución, persistencia e incluso regresión de la lesión.

Los programas de cribado de cáncer de cuello de útero en mujeres sanas han demostrado claramente su eficacia, puesto que permiten detectar lesiones premalignas asintomáticas cuyo diagnóstico y tratamiento, evitan su progresión a carcinoma invasor.

Las lesiones premalignas de alto grado suceden en población joven con deseos reproductivos dado el retraso de la edad de maternidad actual, de ahí que el objetivo del tratamiento de la lesión además de extirparla en su totalidad sea conservador y preserve la fertilidad futura de las pacientes.

Las mujeres tratadas mediante conización cervical por lesiones cervicales premalignas tienen un riesgo de persistencia/recurrencia del 5-15%, y 5 veces mayor de CCU que la población general. El principal factor de riesgo de recurrencia de SIL/CIN después de la conización es la persistencia de VPH. Aunque la mayoría de las mujeres aclaran la infección tras el tratamiento, su inmunidad natural no las protege totalmente frente a una reactivación o reinfección por el mismo tipo viral. Por tanto, las mujeres que han tenido una lesión cervical premaligna constituyen un grupo de especial riesgo de tener una nueva lesión o CCU.

De esta forma, la hipótesis de trabajo es confirmar esta hipótesis basada en la literatura científica, mediante el análisis de la casuística acumulada durante 11 años. Así pues, los objetivos concretos que se persiguen con la realización de este estudio son:

### **Objetivo principal:**

- Determinar el perfil de las pacientes sometidas a tratamiento escisional mediante conización cervical de la muestra de estudio.
- Analizar la influencia de factores de riesgo en la persistencia/recurrencia de lesiones intraepiteliales cervicales de alto grado durante el seguimiento.

### **Objetivos secundarios:**

- Analizar la relación entre el resultado anatomopatológico previo a la conización cervical con el resultado anatomopatológico definitivo de la pieza quirúrgica obtenida mediante la conización cervical.
- Analizar el valor de la vacunación frente al VPH en las posibles recurrencias de lesión intraepitelial de alto grado, comparándolo con pacientes no vacunadas, durante el seguimiento.

## **5 METODOLOGÍA Y PLAN DE TRABAJO**

### **5.1 DISEÑO Y SUJETOS DEL ESTUDIO**

Se trata de un estudio analítico observacional retrospectivo a partir de una base de datos elaborada por parte de la Unidad de Patología del Tracto Genital Inferior del Servicio de Ginecología del Hospital San Jorge de Huesca, en la que se incluyen las pacientes sometidas a un tratamiento escisional mediante conización cervical desde el 1 de enero de 2010 hasta el 31 de diciembre de 2021.

### **5.2 CRITERIOS DE SELECCIÓN DE PACIENTES**

#### **5.2.1 Criterios de inclusión:**

Se incluyen en el estudio a todas las mujeres mayores de 18 años, a las que se les ha diagnosticado una lesión intraepitelial cervical de alto grado y han sido sometidas a tratamiento escisional mediante conización cervical entre el 1 de enero de 2010 y el 31 de diciembre de 2021.

#### **5.2.2 Criterios de exclusión:**

Se excluyen todos aquellos casos en los que el resultado anatomopatológico es carcinoma invasor de cérvix.

### **5.3 VARIABLES DEL ESTUDIO Y SU DEFINICION**

Se recogen como variables para estudio las siguientes:

- Características basales de las pacientes:
  - Edad al diagnóstico (definida en años), dividiéndose a su vez en los siguientes rangos de edad: menor de 25, entre 25 y 30, entre 30 y 35 y mayores de 35.
  - Hábito tabáquico: fumadora o no fumadora.
  - Paridad: nuligesta, uno, dos, tres, cuatro, cinco, >5.
  - Método anticonceptivo usado: ninguno, anticonceptivos hormonales orales (ACHO), dispositivo intrauterino (DIU) de cobre, DIU Mirena, preservativo, ligadura tubárica, coitus interruptus, gestágenos orales, métodos naturales, vasectomía pareja, desconocida. A su vez, existe una variable independiente para el uso de métodos de barrera y ACHO.
  - Estado de inmunosupresión.
  - Patología asociada a VPH.

- Características anatomopatológicas:
  - Resultado de la citología: normal, ASCUS, L-SIL, H-SIL, ASC-H, AGC, normal, no disponible, no realizada por protocolo, insatisfactoria.
  - Citología catalogada según el grado de la lesión escamosa intraepitelial: alto grado, no alto grado, no disponible.
  - Detección HPV (genotipado): 16, 18, otros, 16+otros, 18+otros, 16+18+otros, negativo, no realizado, 16+18. A su vez existen variables independientes para la presencia o ausencia de: presencia de 16, presencia de 18, presencia de 16y/o18, presencia de otros, presencia de otros exclusiva.
  - Resultado de la biopsia obtenida bajo examen colposcópico: negativo, CIN I, CIN II, CIN III, AIS, carcinoma microinvasivo, carcinoma infiltrante.
  - Resultado de la conización cervical: en blanco, CIN I, CIN II, CIN III, AIS, carcinoma microinvasivo, carcinoma infiltrante, no valorable.
  
- Tratamiento escisional mediante conización cervical:
  - Espesor de la pieza quirúrgica: espesor de la pieza menor 5mm.
  - Estado de márgenes quirúrgicos: libres o afectos.
  - Resultado anatomopatológico de la pieza de conización cervical.
  
- Vacunación frente a VPH:
  - Estado de vacunación al comienzo del seguimiento tras la conización cervical: vacunada, no vacunada o desconocido
  - Tipo de vacuna administrada previamente a la conización cervical: Cervarix, Gardasil, Gardasil 9.
  
- Revisión realizada tras 6 meses de la conización cervical:
  - Resultados de la citología realizada a los 6 meses post-conización cervical
  - Valoración estado de infección por VPH a los 6 meses post-conización cervical.
    - \* Se estudiarán las mismas variables de seguimiento a los 24 meses post-conización cervical.
  
- Necesidad de tratamiento complementario durante el seguimiento: reconización o histerectomía.

## 5.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En el estudio descriptivo, las variables cuantitativas se han evaluado mediante el cálculo de su medida de tendencia central, la media ( $X$ ), y su medida de dispersión, la desviación típica (DT), con un intervalo de confianza (IC) del 95%. Se asume para su utilización la distribución normal de las variables cuantitativas según el Teorema Central del Límite, ya que se trata de una muestra superior a 30 casos. Las variables cualitativas han sido evaluadas mediante el cálculo de sus porcentajes.

En cuanto a la estadística inferencial, para la comparación entre variables cuantitativas con distribución “normal” con variables categóricas, se ha utilizado la prueba de la t de Student para muestras independientes si la variable cualitativa es dicotómica y la prueba de ANOVA si esta tiene más de dos variables. Respecto a las variables cualitativas o categóricas, para la comparación de las mismas se ha utilizado el test estadístico de Chi cuadrado ( $\chi^2$ ). La homogeneidad de varianzas se comprobó con la prueba de Levene.

Se ha asumido un nivel de significación  $\alpha$  del 0.05, debido a que es el que mejor se adapta a las pruebas de contraste de hipótesis de la estadística inferencial en las Ciencias Biomédicas porque conjuga los riesgos antagónicos alfa y beta. Por ello, se han considerado los valores de probabilidad “p” como estadísticamente significativos según un valor de p inferior a 0.05.

Los datos clínicos y demográficos de las pacientes se recogieron en una base de datos informatizada con la versión 25 del programa SPSS para Windows (Statistical Package for Social Sciences, IBM, Armonk, NY), para el análisis estadístico posterior.

## 5.5 ASPECTOS ÉTICOS

La investigación se ha llevado a cabo según los principios éticos de respeto a la dignidad humana, confidencialidad y proporcionalidad entre los riesgos y los beneficios esperados, respetando los principios establecidos en el Código de Nuremberg (1947), declaración de Helsinki (1964) y Código de Ética y Deontología Médica vigente, y cumpliendo la legislación española en el ámbito de la investigación biomédica y la protección de datos de carácter personal: Ley Orgánica 3/2018 de Protección de Datos de Carácter Personal, Ley 41/2002 básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica y Ley 14/2007 de investigación biomédica.

El estudio está aprobado por el CEICA (Comité de Ética de la Investigación de la Comunidad de Aragón) con fecha de 18 de mayo de 2022 y número de acta 10/2022, así como autorizado por el la Dirección Médica del Hospital Universitario San Jorge de Huesca (Anexos I y II).

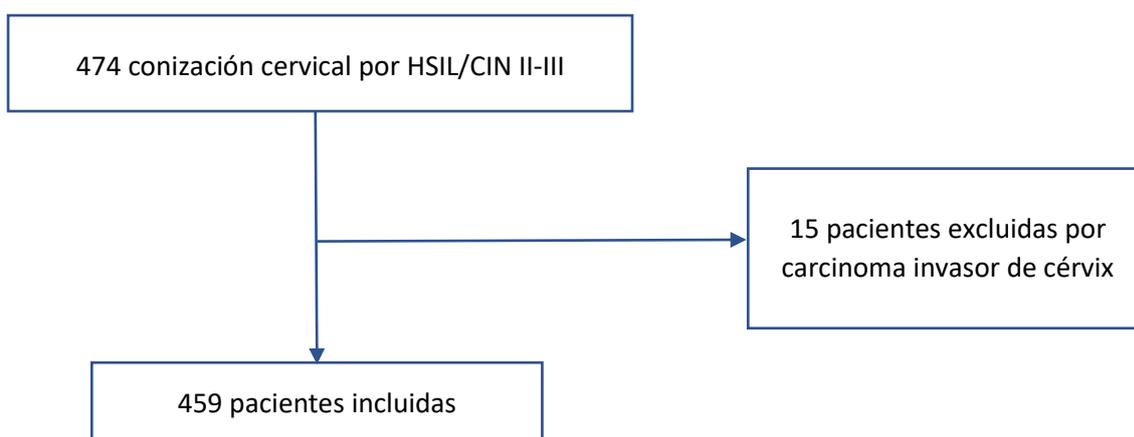
Por último, declaro que los participantes investigadores en este trabajo carecen de conflicto de intereses, y que por su naturaleza, la realización de este estudio no ha interferido en la labor asistencial del Servicio ni necesitado financiación específica para su desarrollo.

## 6 RESULTADOS

Entre el 1 de enero de 2010 y el 31 de diciembre de 2021, un total de 474 pacientes fueron sometidas a una conización cervical por diagnóstico de lesión intraepitelial cervical de alto grado.

Tras aplicar los criterios de selección, se excluyeron 15 pacientes en los que el resultado anatomopatológico fue carcinoma invasor de cérvix.

Finalmente, 459 pacientes fueron incluidas en el análisis estadístico.



### 6.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA MUESTRA:

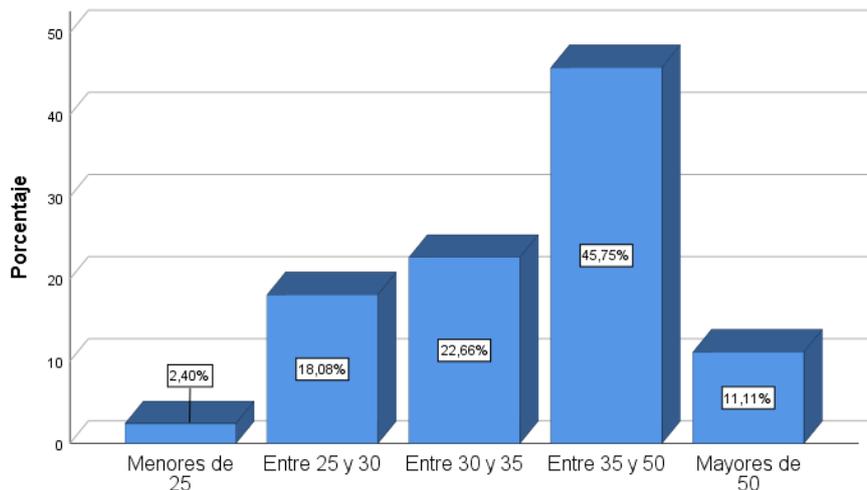
#### 6.1.1 Características basales de las pacientes:

##### Edad

Considerando la edad como una variable cuantitativa continua, se asume la distribución normal de la misma según el Teorema Central del Límite, ya que se trata de una muestra de  $n > 30$  casos. Tras el análisis estadístico, se ha objetivado que la media de edad de las pacientes en el momento de la realización de la conización cervical es de 38,42 años, con un IC 95% (37,57 - 39,28). La edad mínima es de 21 años y la máxima de 73 años.

Se han agrupado las pacientes de nuestro estudio en grupos de edad de la siguiente manera:

- Menores de 25 años.
- De 25 a 30 años.
- De 30 a 35 años.
- De 35 a 50 años.
- Mayores de 50 años.

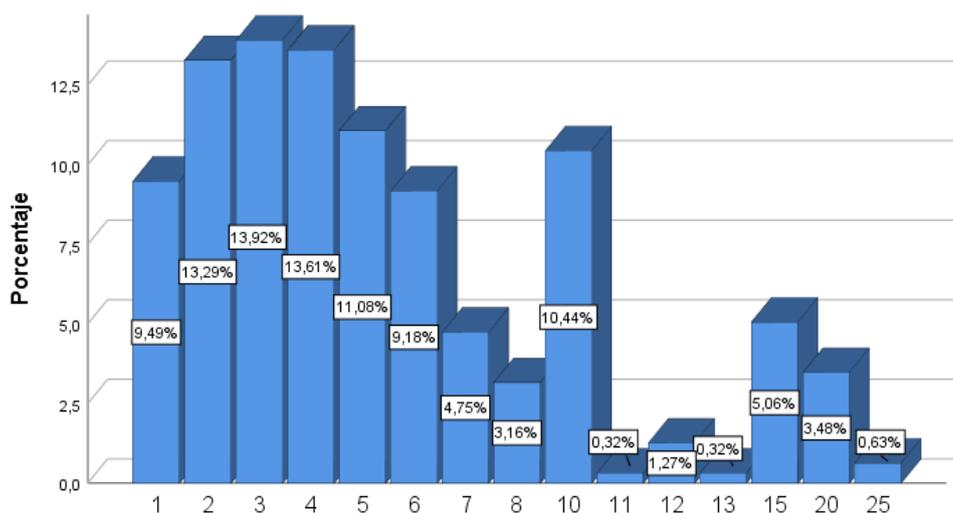


**Figura 13.** Distribución de rangos de edad.

Analizando la edad de las pacientes de la muestra destaca que el 68,5% de las mujeres pertenecen al grupo de edad que comprende desde los 30 a los 50 años de edad, apreciándose una disminución acusada de la frecuencia a partir de los 50 años de edad.

### Número de parejas sexuales

Hemos analizado el número de parejas sexuales que constaba en la historia clínica de las pacientes recogido durante la primera consulta en la Unidad de Patología Cervical, con una media 5,91 parejas, con un IC95% (5,40 – 6,42). En la siguiente figura se muestra el número de parejas sexuales de nuestra muestra:

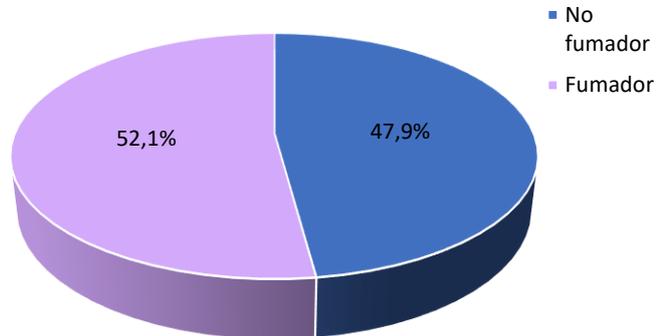


**Figura 13.** Número de parejas sexuales.

Encontramos que el 60,6% de las pacientes tienen un máximo de 5 parejas sexuales.

### Hábito tabáquico

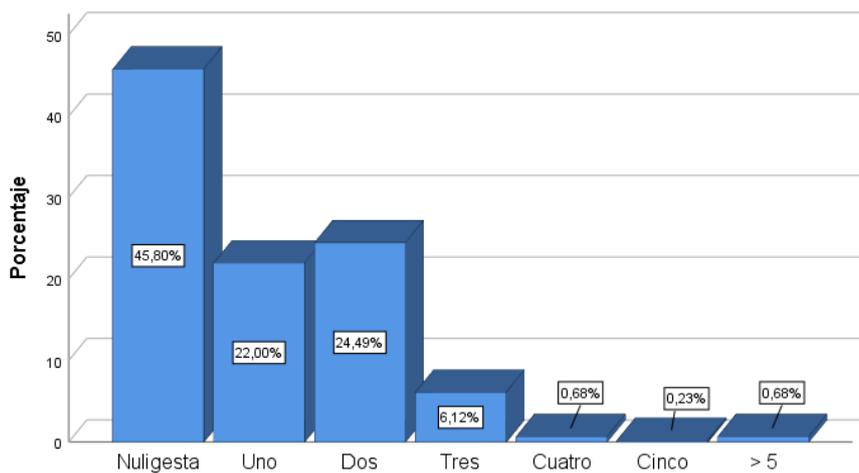
En el momento del diagnóstico el 53,2% de las pacientes de la muestra eran fumadoras.



**Figura 14.** Consumo de tabaco.

### Paridad

Con respecto a al número de gestaciones, destaca que el 45,80% de las pacientes no habían tenido ningún embarazo. Por tanto, el 32,2% de las pacientes se consideraban multigestas ya que habían presentado 2 o más embarazos en el momento de la realización de la conización cervical.



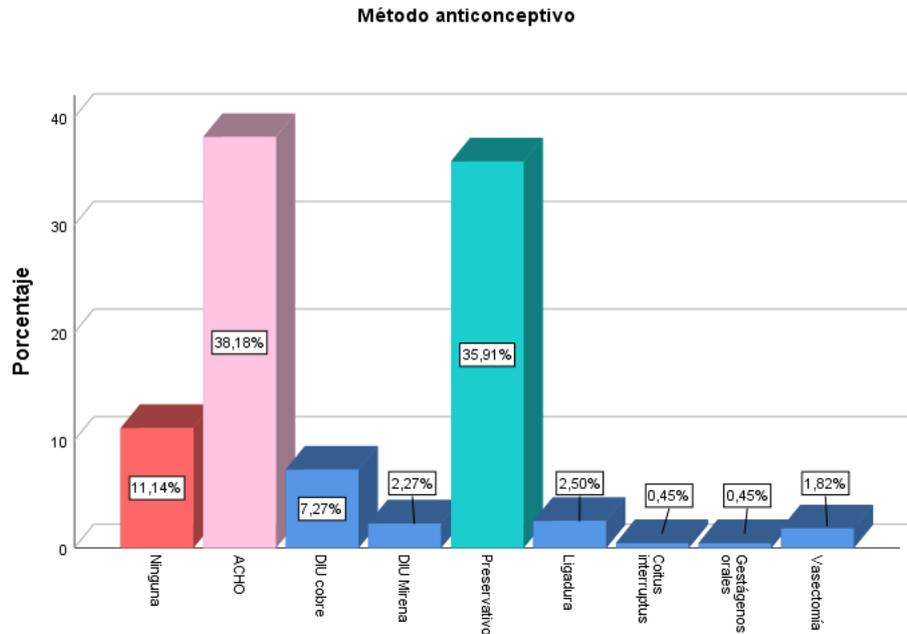
**Figura 15.** Número de partos.

El número de partos en nuestro estudio osciló entre 0 y 7, siendo la media de embarazos por paciente de 0,99 con un IC95% 0,88-1,11.

### **Método anticonceptivo**

En nuestra muestra el 38,1% de las mujeres utilizaban anticoncepción hormonal, frente al 61,9% que no los usaban.

El método anticonceptivo más frecuentemente utilizado son los ACHO (38,18%), seguido del preservativo (35,91%) y de la ausencia de ningún método (11,14%). Cabe mencionar que, además de las 158 usuarias que usan preservativo de forma exclusiva, 7 pacientes utilizan preservativo junto con ACHO, 1 junto con DIU de cobre y 1 junto con ligadura tubárica, por lo que el porcentaje de usuarias de métodos de barrera asciende al 38% del total de las pacientes de la muestra.



**Figura 16.** Método anticonceptivo.

### **Estado inmunológico:**

En cuanto al estado inmunológico, el 2,2% de las pacientes presentaban un estado de inmunodepresión. De ellas, 7 pacientes eran seropositivas (VIH), 1 tenía lupus eritematoso sistémico (LES) y 2 eran pacientes trasplantadas.

### **Patología asociada VPH:**

Del total de las pacientes de la muestra, 7 pacientes (1,5%) presentaban patología asociada relacionada con el VPH. De ellas, 6 pacientes presentaban condilomas acuminados y 1 tenía VIN.

**Tabla 3.** Características basales de las pacientes incluidas en el estudio.

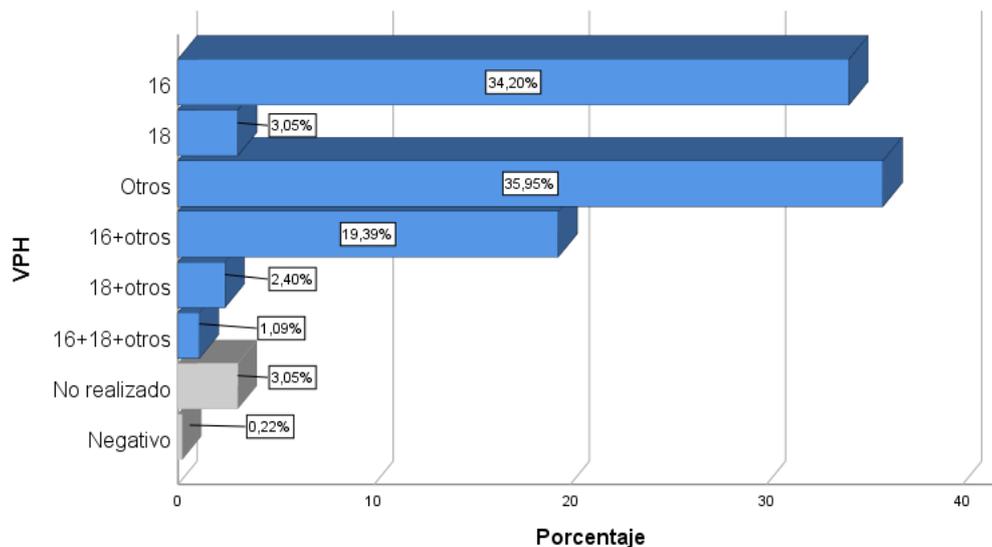
VARIABLE	Estrato	<sup>a</sup> N(%) / <sup>b</sup> X(± DT)
<i>Edad (años)<sup>b</sup></i>		38,42 (±0,433) años
<i>Número de parejas sexuales<sup>b</sup></i>		5,91 (±0,260) parejas
<i>Fumadora<sup>a</sup></i>	Sí	219 (53,2%)
<i>Número de partos<sup>b</sup></i>		0,99 (±0,059) partos
<i>Nuligesta<sup>a</sup></i>	Sí	202 (45,80%)
<i>Multigesta<sup>a</sup></i>	Sí	142 (32,2%)
<i>ACHO<sup>a</sup></i>	Sí	168 (38,3%)
<i>Métodos de barrera<sup>a</sup></i>	Sí	167 (38%)
<i>Vacunación<sup>a</sup></i>	Sí	332 (70,2%)
<i>Estado de inmunosupresión<sup>a</sup></i>	Sí	10 (2,2)
<i>Patología asociada VPH<sup>a</sup></i>	Sí	7 (1,5)

### 6.1.2 Infección por VPH:

De las 459 pacientes sometidas a conización cervical, 444 (96,7%) tuvieron un resultado en la prueba de VPH positivo, frente a únicamente 1 caso (0,2%) negativo. En 14 pacientes no se dispone de un resultado molecular de VPH previo a la realización de la conización cervical. En la siguiente tabla hemos recogido los genotipos de VPH hallados en las pacientes de nuestra muestra:

**Tabla 4.** Características de la infección VPH de las pacientes incluidas en el estudio.

VARIABLE	N(%)
<i>Infección VPH<sup>a</sup></i>	444 (96,7%)
<i>Genotipado VPH<sup>a</sup>:</i>	
▪ <b>Negativo</b>	1 (0,2%)
▪ <b>16</b>	157 (34,2%)
▪ <b>18</b>	14 (3,1%)
▪ <b>Otros</b>	165 (35,9%)
▪ <b>16+18</b>	3(0,7%)
▪ <b>16+otros</b>	89 (19,4%)
▪ <b>18+otros</b>	11 (2,4%)
▪ <b>16+18+otros</b>	5 (1,1%)
▪ <b>No realizado</b>	14 (3,1%)



**Figura 17.** Resultado prueba VPH.

Se analizaron los virus de alto riesgo (VPH-AR), observándose como genotipos principales el VPH de alto riesgo oncogénico de alguno o algunos de los tipos (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68) que fue positivo en 35,9% de los casos, y el genotipo 16 en el 34,2%. Siguiendo el orden de frecuencia se trataba de una infección producida por la combinación de VPH 16 y VPH-AR, observado en 89 pacientes (19,40%); el VPH 18 en 14 pacientes (3,1%); la combinación de VPH 18 y otros tipos de alto riesgo en 11 pacientes (2,4%) y por último la combinación del genotipo 16, 18 y otros tipos de alto riesgo en 5 pacientes (1,1%).

De las 444 pacientes de la muestra con resultado VPH positivo, el 24,5% tenían una infección causada por la combinación de más de un genotipo de alto riesgo oncogénico.

Por tanto, se observó con mayor frecuencia el grupo de VPH de alto riesgo oncogénico de alguno o algunos de los tipos (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68) que se ha detectado en un 58,8% de los casos. De forma aislada en un 35,9%, en un 19,4% de los casos se detectó una infección por VPH 16 y otros VPH-AR, en un 2,4% coexistía infección por VPH 18 y otros VPH-AR, y en el 1,1% de los casos se trataba de una infección por el VPH 16, 18 y otros VPH-AR.

El segundo en frecuencia es el VPH 16 que se ha detectado en el 55,4% de los casos. De forma aislada en un 34,2%, en un 19,4% de los casos se detectó una infección por VPH 16 y otros VPH-AR, en un 0,7% coexistía infección por VPH 16 y 18, y en el 1,1% de los casos se trataba de una infección por el VPH 16, 18 y otros VPH-AR.

### 6.1.3 Características anatomopatológicas:

#### Resultado estudio citológico:

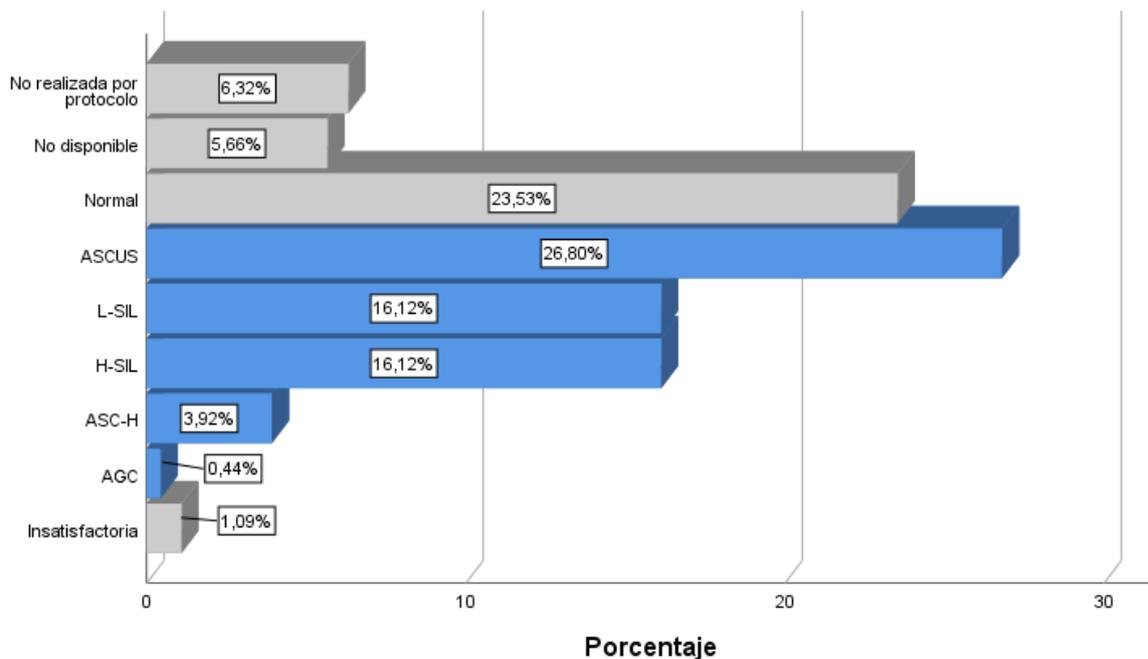
De las 459 pacientes sometidas a conización cervical, 291 (63,4%) tuvieron un resultado patológico en la citología cervical, frente a 108 (23,5%) en las que el resultado fue negativo. En 60

pacientes no se dispone de un resultado citológico previo a la realización de la conización cervical, ya fuese por ser una muestra insatisfactoria, por no estar disponible el resultado, o por no estar indicada su realización en el protocolo de cribado de cáncer de cuello de útero.

De las citologías patológicas, según el orden de frecuencia se observó en primer lugar 123 casos de atipia de células escamosas de significado incierto (ASC-US) (26,8%), seguido por 74 casos de lesión escamosa intraepitelial de alto grado (H-SIL) (16,1%) y 74 casos de lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (L-SIL) (16,1%). El diagnóstico de atipia de células escamosas que no permite descartar lesión de alto grado (ASC-H) se observó en 18 pacientes (3,9%) y por último el resultado con atipia de células glandulares (AGC) fue el más infrecuente en únicamente 2 casos (0,4%).

**Tabla 5.** Resultado de la citología cervical.

VARIABLE	N(%)
<b>Resultado citológico:</b>	
▪ <b>Normal</b>	108 (23,5%)
▪ <b>ASC-US</b>	123 (26,8%)
▪ <b>L-SIL</b>	74 (16,1%)
▪ <b>H-SIL</b>	74 (16,1%)
▪ <b>ASC-H</b>	18 (3,9%)
▪ <b>AGC</b>	2 (0,4%)
▪ <b>No disponible</b>	26 (5,7%)
▪ <b>No realizada por protocolo</b>	29 (6,3%)
▪ <b>Insatisfactoria</b>	5 (1,1%)



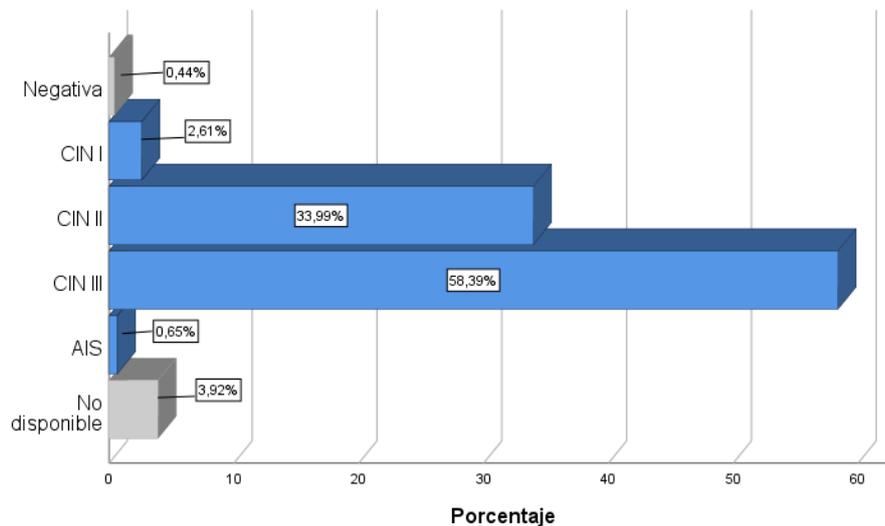
**Figura 18.** Resultado citología cervical.

### **Resultado de la biopsia cervical tomada bajo visión colposcópica:**

De las 459 pacientes sometidas a conización cervical, 268 (58,4%) tuvieron como resultado anatomopatológico de la biopsia cervical una neoplasia cervical intraepitelial III (CIN III), seguido en frecuencia por 156 casos (34%) de grado II (CIN II).

**Tabla 6.** Resultado anatomopatológico de la biopsia cervical.

VARIABLE	N(%)
<b>Resultado AP biopsia –colposcopia:</b>	
▪ <b>Negativa</b>	2 (0,4%)
▪ <b>CIN I</b>	12 (2,6%)
▪ <b>CIN II</b>	156 (34%)
▪ <b>CIN III</b>	268 (58,4%)
▪ <b>AIS</b>	3 (0,7%)
▪ <b>No disponible</b>	18 (3,9%)



**Figura 19.** Resultado AP de la biopsia guiada por colposcopia.

### **6.1.4 Tratamiento escisional mediante conización cervical:**

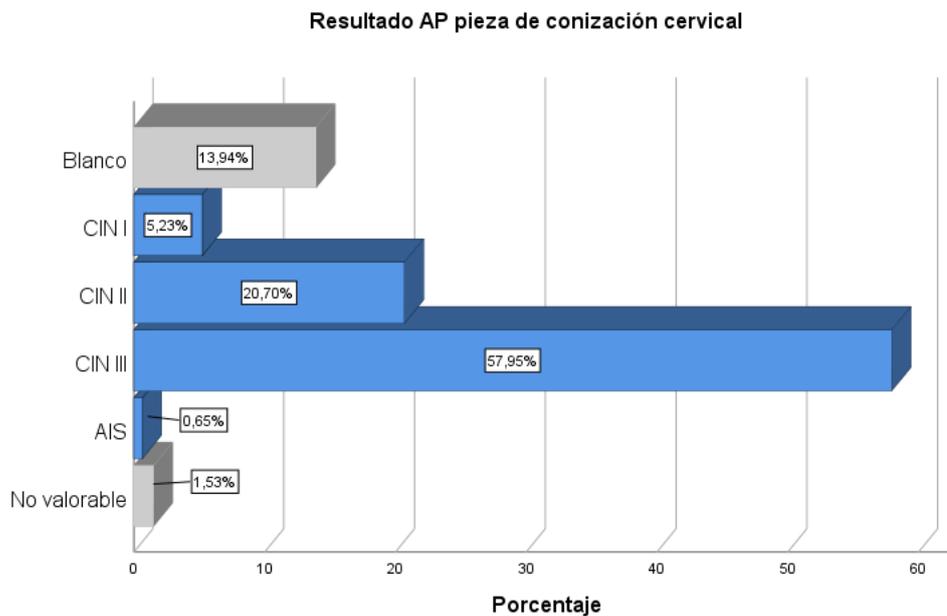
#### **Resultado de la pieza de conización cervical**

De las 459 pacientes sometidas a conización cervical, los resultados anatomopatológicos de las piezas quirúrgicas obtenidas han sido los siguientes:

- El 19,94% son negativos.
- El 5,23% corresponden con una neoplasia intraepitelial cervical de grado I (CIN I).
- El 20,70% son CIN II.
- El 57,95% son CIN III.
- El 0,65% son adenocarcinoma in situ (AIS).
- En el 1,53% de los casos la pieza no ha sido valorable.

**Tabla 7.** Resultado anatomopatológico de la pieza de conización cervical.

VARIABLE	N(%)
<b>Resultado AP conización<sup>a</sup>:</b>	
▪ En blanco	64 (13,9)
▪ CIN I	24 (5,2)
▪ CIN II	95 (20,7)
▪ CIN III	266 (58)
▪ AIS	3 (0,7)
▪ No valorable	7 (1,5)



**Figura 20.** Resultado AP de la pieza de conización cervical.

**Espesor de la pieza quirúrgica:**

Considerando la profundidad de la pieza de conización medida en cm como una variable cuantitativa continua, se asume la distribución normal de la misma según el Teorema Central del Límite, ya que se trata de una muestra de > 30 casos. Se ha objetivado que la media de profundidad es de 0,879 cm, con un IC 95% (0,842-0,917). A su vez, la profundidad mínima es de 0,2 cm y la máxima de 3 cm.

**Conización cervical en una única pieza:**

En el 82,8% de las pacientes incluidas en la muestra, se realizó la conización cervical obteniendo una única pieza quirúrgica, frente al 17,2% en la que se obtuvo en varios fragmentos cervicales.

### Estado de los márgenes quirúrgicos:

De las 459 conizaciones cervicales, el 93% de las mujeres no presentan márgenes afectados, frente al 7% en los que sí se observó persistencia de displasia en los márgenes tras el estudio anatomopatológico de la pieza quirúrgica.

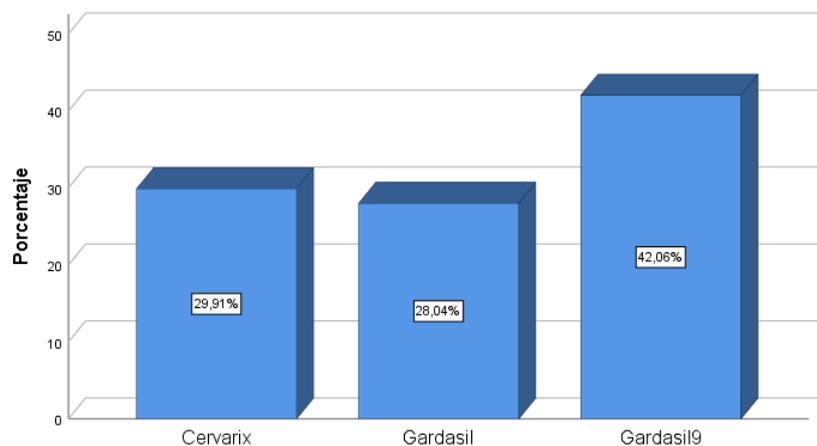
Del total de 32 márgenes afectados en nuestra muestra, en 17 casos (3,7%) se trataba del borde endocervical, en 11 casos (2,4%) de los márgenes exocervicales, y en 4 casos (0,9%) ambos estaban afectados.

**Tabla 8.** Características de la pieza de conización cervical.

VARIABLE	Estrato	<sup>a</sup> N(%) / <sup>b</sup> X(± DT)
<b>Profundidad de la pieza quirúrgica (cm)<sup>b</sup></b>		0,879 (±0,0189) cm
<b>Profundidad de la pieza quirúrgica<sup>a</sup>:</b>		
▪ <0,5cm		116 (25,3%)
▪ 0,5-1cm		228 (49,7%)
▪ >1cm		115 (25,1%)
<b>Conización en 1 única pieza</b>	Sí	380 (82,8%)
<b>Márgenes quirúrgicos afectados<sup>a</sup></b>	Sí	32 (7%)
<b>Borde de la pieza quirúrgica afecto:</b>		
▪ Libres		425 (93%)
▪ Exocervical afecto		11 (2,4%)
▪ Endocervical afecto		17 (3,7%)
▪ Ambos afectados		4 (0,9%)

### **6.1.5 Estado de vacunación frente a VPH:**

De las 459 pacientes de la muestra, 322 mujeres (70,2%) estaban vacunadas en el momento en el que comenzó el seguimiento tras la realización de la conización cervical, frente a 137 pacientes (29,8%) que no estaban vacunadas. El tipo de vacuna más utilizada fue la nonavalente (Gardasil 9), administrada en el 42,05% de las pacientes.



**Figura 21.** Tipo de vacuna administrada.

### 6.1.6 Revisión tras 6 meses de la conización cervical:

A los 6 meses del tratamiento quirúrgico, se le realizó la prueba VPH a un total de 418 pacientes, de los cuales 319 (76,3%) son negativos frente a 99 pacientes (23,7%) en las que persistía la infección por VPH, siendo la distribución de genotipos la siguiente: grupo de VPH de alto riesgo oncogénico de alguno o algunos de los tipos (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68) en 47 pacientes (11,2%), VPH 16 en 33 (7,9%) y VPH 18 en 3 (0,7%), VPH 16 junto con otros VPH-AR en 15 (3,5%) y VPH 18 junto con otros VPH-AR en 1 (0,2%).

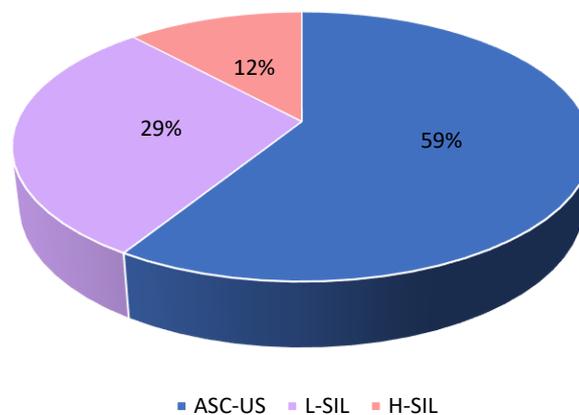
**Tabla 9.** Resultado de la prueba VPH a los 6 meses post-conización.

VARIABLE	N(%)
<b>Infeción VPH<sup>a</sup></b>	100 (23,9%)
<b>Genotipado VPH<sup>a</sup>:</b>	
▪ 16	33 (7,9%)
▪ 18	3 (0,7%)
▪ Otros	47 (11,2%)
▪ 16+otros	15 (3,6%)
▪ 18+otros	1 (0,2%)

Con respecto a la citología, se dispone de la citología de control post-conización en 415 pacientes, observándose que en 381 (91,8%) era negativa frente a un 34 (8,2%) de citologías patológicas. La alteración más frecuente a los 6 meses es ASC-US, encontrándose en 20 mujeres (4,8%), seguida de L-SIL en 10 (2,4%) y H-SIL en 4 (1%).

**Tabla 10.** Resultado de la citología cervical a los 6 meses post-conización.

VARIABLE	N(%)
<b>Resultado citológico:</b>	
▪ <b>Negativo</b>	381 (91,8%)
▪ <b>ASC-US</b>	20 (4,8%)
▪ <b>L-SIL</b>	10 (2,4%)
▪ <b>H-SIL</b>	4 (1%)



**Figura 22.** Resultado citológico tras 6 meses de seguimiento.

Se ha estudiado la relación entre la lesión cervical y la persistencia del VPH-AR tras la realización del tratamiento:

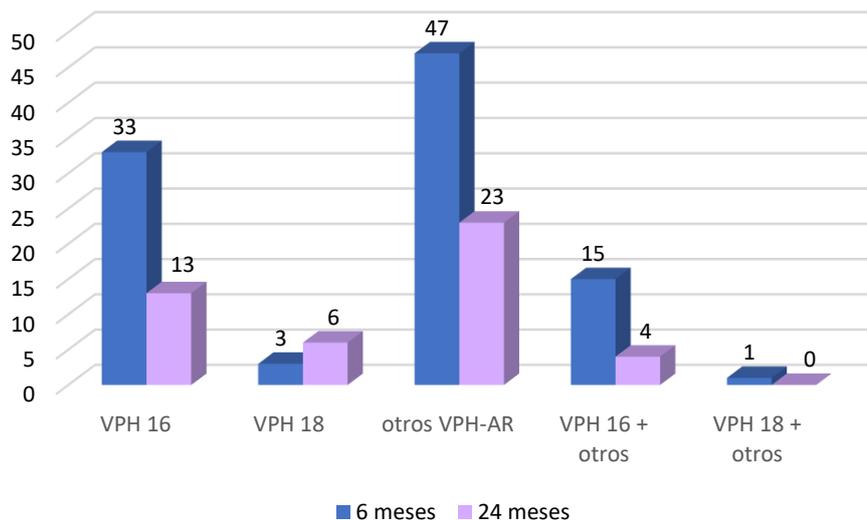
- En los casos CIN I el VPH se negativizó en el 90,5% de las pacientes.
- En el 73,9% de los casos de **CIN II** la prueba viral fue negativo. En 23 pacientes (26,1%) se evidenció persistencia viral, siendo 5 casos positivos para el genotipo 16, 13 casos para otros VPH-AR y 5 para la infección por VPH 16 y otros VPH-AR.
- En los casos de **CIN III** se negativizó en el 74,5% de las pacientes. En 62 mujeres (25,5%) persistía la infección por VPH, siendo 26 casos positivos para el genotipo 16, 24 para otros VPH-AR, 3 casos para el VPH 18 y 9 casos para la infección por VPH 16 y otros VPH-AR.

### 6.1.7 Revisión tras 24 meses de la conización cervical:

A los 24 meses del tratamiento quirúrgico, se le realizó la prueba VPH a un total de 276 pacientes, de los cuales 230 (83,3%) son negativos frente a 46 pacientes (16,7%) en las que persistía la infección por VPH, siendo la distribución de genotipos la siguiente: otros VPH-AR en 23 pacientes (8,3%), VPH 16 en 13 (4,7%), VPH 16 junto a otros VPH-AR en 4 (1,4%) y VPH 18 en 6 (1,3%).

**Tabla 11.** Resultado de la prueba VPH a los 24 meses post-conización.

VARIABLE	N(%)
<b>Infeción VPH<sup>a</sup></b>	46 (16,7%)
<b>Genotipado VPH<sup>a</sup>:</b>	
▪ 16	13 (4,7%)
▪ 18	6 (1,3%)
▪ Otros	23 (8,3%)
▪ 16 + otros	4 (1,4%)

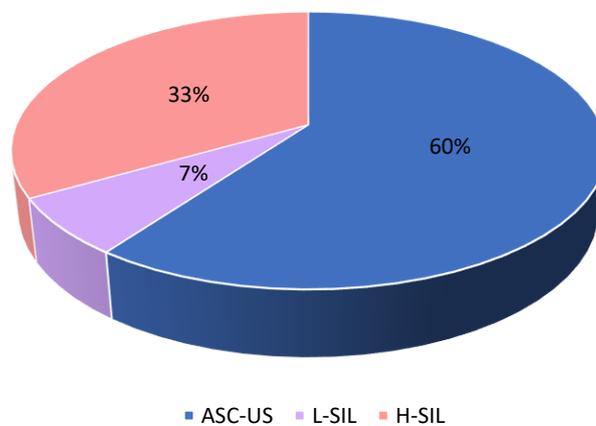


**Figura 23.** Frecuencia absoluta de infección tras 6 y 24 meses de seguimiento.

Con respecto a la citología, se dispone de la citología de control post-conización en 274 pacientes, observándose que en 259 (94,5%) era negativa frente a un 14 (5,5%) de citologías patológicas. La alteración más frecuente a los 24 meses es ASC-US, encontrándose en 9 mujeres (3,3%), seguida de H-SIL en 5 (1,8%) y L-SIL en 1 (0,4%).

**Tabla 12.** Resultado de la citología cervical a los 24 meses post-conización.

VARIABLE	N(%)
<b>Resultado citológico:</b>	
▪ <b>Negativo</b>	259 (94,5%)
▪ <b>ASC-US</b>	9 (3,3%)
▪ <b>L-SIL</b>	1 (0,4%)
▪ <b>H-SIL</b>	5 (1,8%)



**Figura 24.** Resultado citológico tras 24 meses de seguimiento.

### 6.1.8 Necesidad de reconización o histerectomía durante el seguimiento:

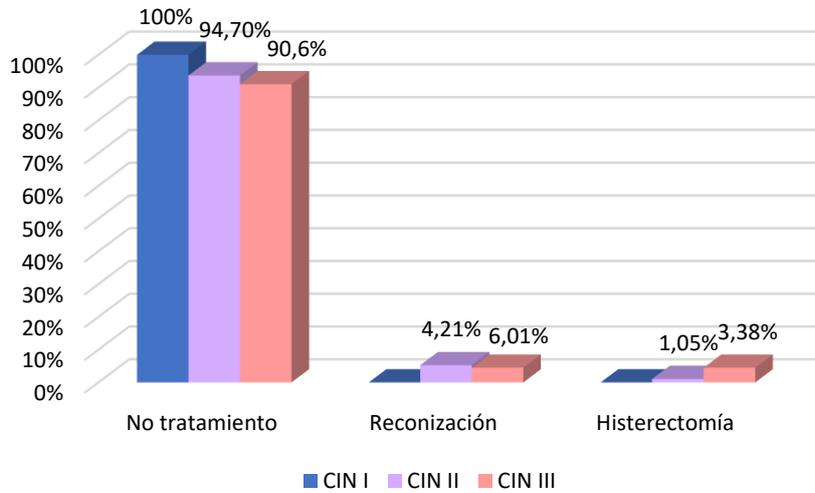
Del total de las 459 pacientes sometidas a conización cervical, 429 (93,5%) no han requerido tratamiento quirúrgico complementario durante los controles realizados hasta la fecha actual, frente a 30 (6,5%) pacientes en las que ante la persistencia/recurrencia de lesión se realizó tratamiento adicional.

- En 17 casos se realizó una reconización.
- En 13 casos se realizó una histerectomía total.

En el 2,39% (11/459), la persistencia lesional se diagnosticó mediante biopsia bajo visión colposcópica a los 6 meses de seguimiento; en un 3,70% (17/459) se diagnosticó entre los 6 y 24 meses tras la conización; y en 0,43% (2/459) durante el seguimiento hasta los 5 años tras la conización.

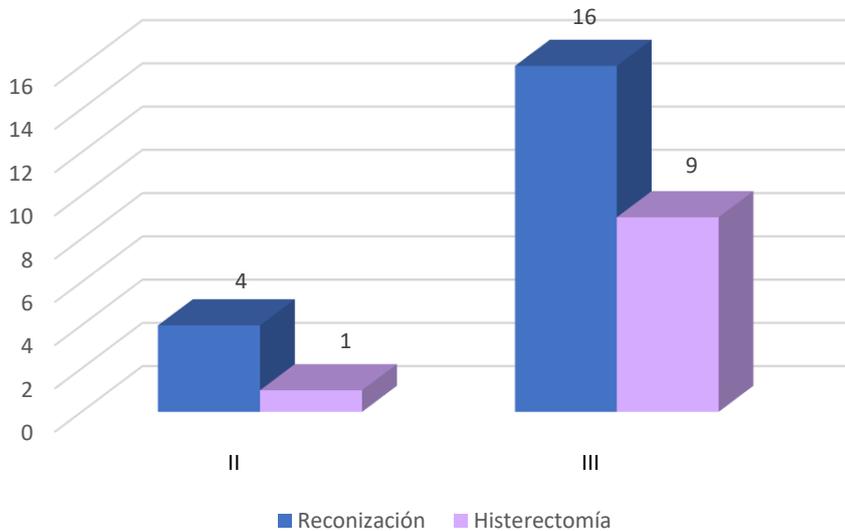
En los casos de CIN I no ha sido necesario realizar tratamiento quirúrgico complementario. En los casos CIN II, en el 94,7% de ellos no se realizó tratamiento quirúrgico complementario, frente a un 5,26% se realizó una segunda conización y en el 1,05% una histerectomía simple. En los casos de

CIN III, en el 90,60% no se realizó tratamiento complementario, en el 6,01% se realizó una reconización y en el 3,38% una histerectomía simple.



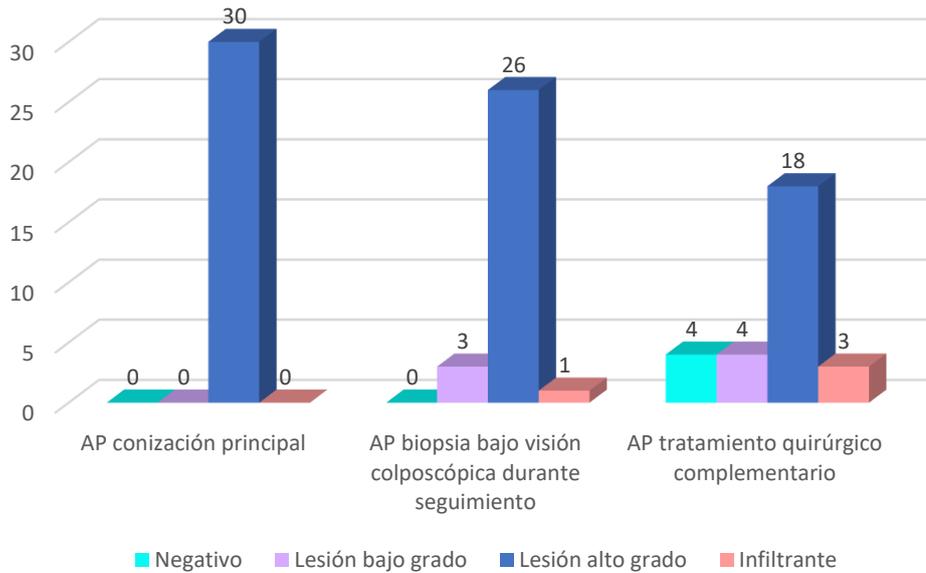
**Figura 25.** Necesidad de tratamiento complementario durante el seguimiento por persistencia/recidiva lesional.

De los 30 casos de recidiva, en el 16,67% (5/30) de los casos el resultado de la primera conización cervical había sido CIN II, mientras que en el 83,3% (25/30) restante trataba de un CIN III.



**Figura 26.** Relación entre la AP de la conización principal y la frecuencia y tipo del tratamiento quirúrgico complementario llevado a cabo.

En 3 de los casos con recidiva/persistencia de lesión, la pieza obtenida mediante tratamiento quirúrgico complementario, que en en ellos tres se trató de una histerectomía total, el resultado final de fue carcinoma infiltrante de cérvix en tres casos.



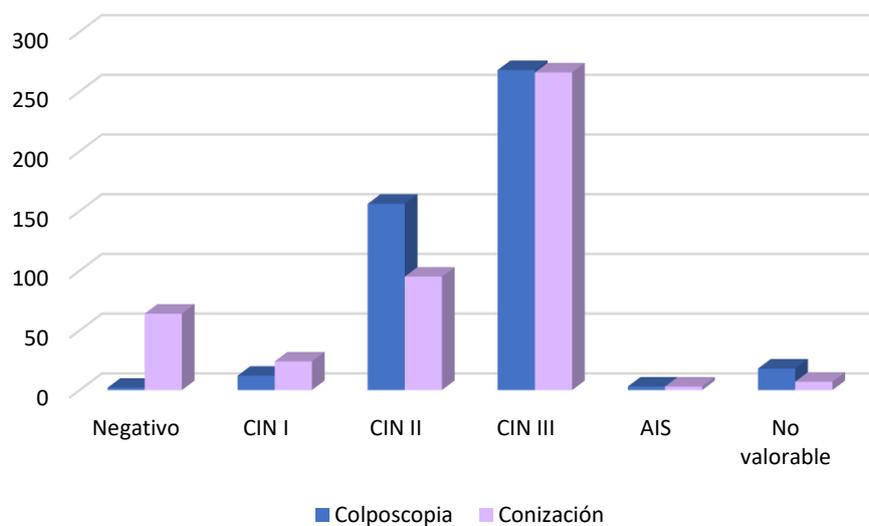
**Figura 27.** Relación de resultados anatomopatológicos.

## 6.2 ANÁLISIS COMPARATIVO:

### 6.2.1 Comparación de los resultados anatomopatológicos de la biopsia tomada bajo visión colposcópica y los de la pieza de conización cervical:

El número de casos de estudio anatomopatológico negativo en la pieza de conización cervical fue mayor que el de la biopsia tomada bajo colposcopia, mientras que el número de casos de CIN III fue menor que el de la biopsia de colposcópica.

Entre las 459 pacientes, la tasa de coincidencia entre ambos resultados fue de 53,37% (245/549); 86 casos (18,74%) tuvieron finalmente un resultado con mayor grado de lesión histológica, mientras que en 118 casos (25,70%) el grado de lesión fue menor.



**Figura 26.** Comparación de los resultados anatomopatológicos: biopsia guiada *versus* pieza conización cervical.

### 6.2.2 Comparación del grado histológico de lesión cervical y variables basales y anatomopatológicas del estudio.

Se ha realizado el análisis comparativo en el grado histológico de neoplasia intraepitelial cervical diagnosticado tras estudiar la pieza de conización y las variables recogidas en la Tabla 13.

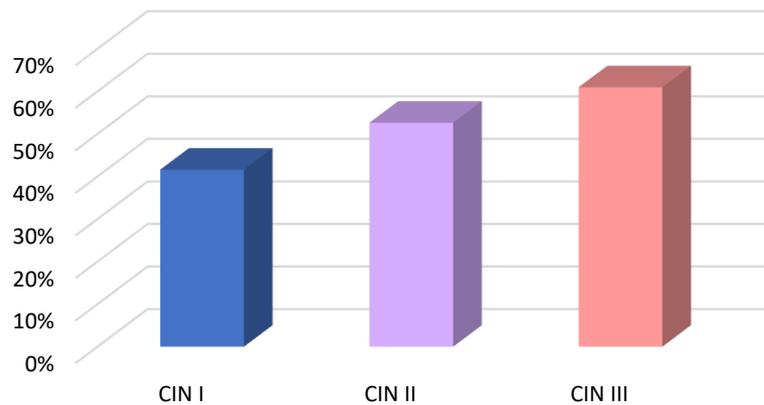
**Tabla 13. Análisis comparativo según grado histológico de lesión cervical.**

VARIABLE	Estrato	CIN I	CIN II	CIN III	P
Edad (años)		34,67 (±1,385) años	38,33 (±0,858) años	39,09 (±0,594) años	0,118
Fumadora	Sí	10 (45,5%)	51 (56,7%)	123 (53,2%)	0,658
Multigesta		1,29 (±0,348) partos	0,79 (±0,126) partos	1,14 (±0,075) partos	0,077
≥4 hijos	Sí	1 (4,2%)	1 (1,1%)	4 (1,6%)	0,932
ACHO	Sí	7 (29,2%)	28 (29,8%)	100 (40%)	0,092
Estado de inmunosupresión	Sí	1 (4,2%)	4 (4,2%)	4(1,5%)	0,103
Presencia VPH 16 pre-conización	Sí	10 (45,5%)	49 (52,7%)	164 (60,96%)	0,031*
Bordes afectos	Sí	0 (0%)	2 (2,1%)	28 (10,5%)	0,027*
Profundidad pieza conización (cm)		0,988 (±0,0828)	0,831 (±0,0399)	0,899 (±0,0238)	0,063
Espesor cono <0,5cm	Sí	5 (20,8%)	26 (27,4%)	60 (22,7%)	0,302

Tras analizar los resultados obtenidos, no se encuentran diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las variables, excepto en la infección por VPH 16 y la presencia de bordes quirúrgicos afectos.

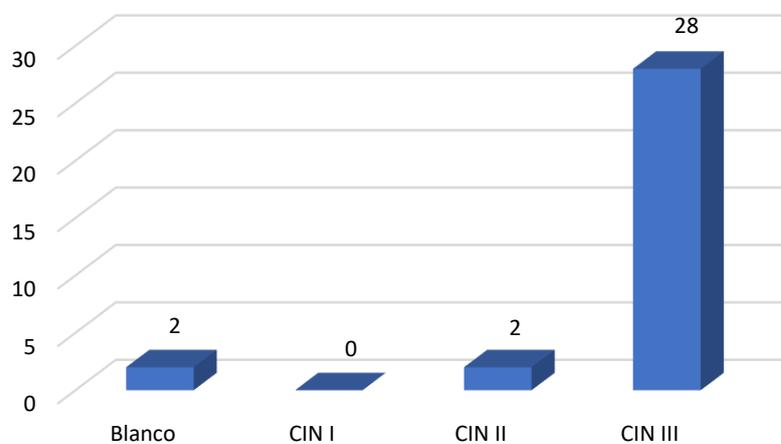
Se ha observado asociación estadísticamente significativa entre la presencia del genotipo 16 y el grado de lesión cervical con un valor de  $p = 0,031$ . La presencia del genotipo 16 aumenta a medida que aumenta el grado de lesión cervical: se identificó en el 45,5% (10/22) de los casos de CIN I, en el 52,7% (49/93) de los casos de CIN II y en el 60,96% (164/269) de los casos de CIN III.

## VPH 16



**Figura 27.** Frecuencia de infección por genotipo 16 en función del grado de lesión intraepitelial.

También se ha encontrado asociación estadísticamente significativa entre la afectación de los márgenes de la pieza quirúrgica y el grado de lesión cervical con un valor de  $p=0,027$ . El porcentaje de bordes quirúrgicos afectados en las conizaciones de nuestra muestra es mayor a medida que aumenta el grado de lesión histológica cervical.



**Figura 28.** Frecuencia de afectación de márgenes quirúrgicos en función del grado de lesión intraepitelial.

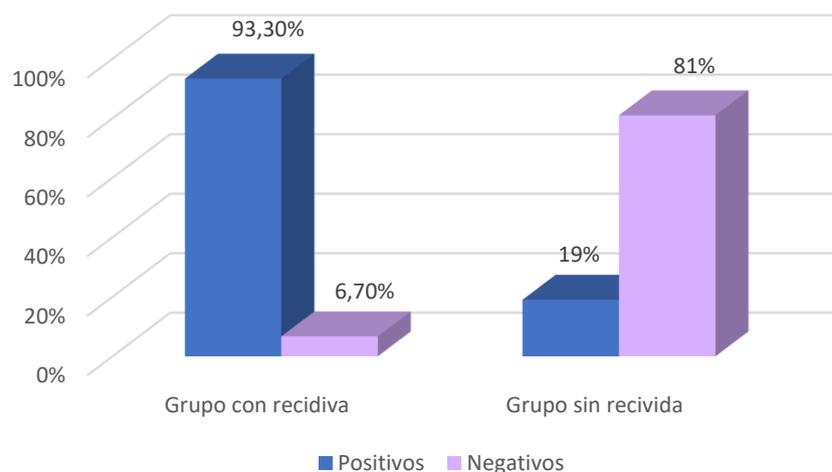
Al estudiar la relación entre el grado de lesión cervical y estado inmunológico, aunque no existe asociación estadísticamente significativa con un valor de  $p=0,103$ , podemos observar una tendencia, ya que el 80% de las pacientes con inmunodepresión han desarrollado un CIN II-III, frente a una paciente con un 10% que desarrolló un CIN I.

### 6.2.3 Comparación entre el desarrollo de persistencia/recidiva lesional y diferentes variables basales y anatomopatológicas del estudio.

Se ha realizado el análisis comparativo en el desarrollo de recidiva de lesión cervical de las diferentes variables recogidas en la Tabla 14.

Respecto a las variables **cuantitativas**, bien sean dicotómicas o no dicotómicas, en función de su presencia o ausencia en ambos grupos (recidiva/persistencia de neoplasia cervical invasiva durante el seguimiento vs no recidiva/persistencia), se ha realizado el test de Chi cuadrado o test de Fisher (si  $n < 10$  en alguno de los subgrupos) para establecer la presencia de diferencias estadísticamente significativas.

Tras analizar los resultados obtenidos, no se encuentran diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las variables, excepto en la persistencia del VPH a los 6 meses de seguimiento. En esta visita de control se realizó una prueba de VPH y en las pacientes con recidiva/persistencia de lesión se encontraron 28 (93,3%) que continuaban siendo positivas y 74 (19%) en el grupo sin lesión. Esta variable si tuvo significación estadística entre ambos grupos con una Odds Ratio de 59,595 ( $p > 0,0001$ ).



**Figura 29.** Frecuencia de persistencia de infección VPH durante el seguimiento según desarrollo o no de persistencia/recidiva de lesión intraepitelial.

En cuanto a las variables **cuantitativas**, una vez asumida la distribución normal de las mismas según el Teorema Central del Límite y tras comprobar la homogeneidad de varianzas con la prueba de Levene, se ha realizado la comparación de dichas variables en ambos grupos con la prueba de la t de Student.

Se ha observado asociación estadísticamente significativa entre la edad y la recidiva/persistencia de lesión cervical durante el seguimiento, con un valor de  $p = 0,016$ . La media de edad de las pacientes del grupo con recidiva/persistencia post-conización fue de  $42,37 \pm 2,220$  años frente a la media de  $38,15 \pm 0,434$  años en el grupo sin lesión, con una diferencia de medias de 4,217 años con un IC 95% (0,794-7,641). También se concluye que existe asociación

estadísticamente significativa entre la profundidad de la pieza de conización medida en centímetros y la recidiva de lesión cervical con un valor de p de 0,040.

**Tabla 14. Análisis comparativo según presencia o ausencia de recidiva.**

VARIABLE	Estrato	Recidiva N(%) / X(± DT)	No recidiva N(%) / X(± DT)	P
Edad (años)		42,37 (±2,220) años	38,15 (±0,434) años	0,016*
Fumadora	Sí	13 (43,3%)	206 (53,9%)	0,263
Multigesta	Sí	13 (44,8%)	129 (31,3%)	0,132
ACHO	Sí	9 (31%)	159 (38,8%)	0,407
Estado de inmunosupresión	Sí	0 (0%)	10 (2,3%)	0,398
Presencia VPH 16 y/o 18 pre-conización	Sí	22 (78,6%)	254 (61,1%)	0,064
Bordes afectos	Sí	4 (13,3%)	28 (6,5%)	0,157
Profundidad pieza conización (cm)		0,733 (±0,0765)	0,890 (±0,0194)	0,039*
Espesor cono <0,5cm	Sí	12 (40%)	104 (24,2%)	0,055
Persistencia VPH 6m tras conización	Sí	28 (93,3%)	74 (19%)	<0,001*

\* Diferencias estadísticamente significativas (p<0,05)

#### 6.2.4 Relación entre el estado de vacunación y el desarrollo de persistencia/recidiva de lesión cervical de alto grado:

Un total de 30 pacientes presentaron persistencia/recidiva de la lesión durante el seguimiento tras la conización cervical por lo que fueron sometidas a tratamiento quirúrgico complementario.

Se analizó la relación entre el estado de vacunación al comienzo del seguimiento y la persistencia/recurrencia de la neoplasia intraepitelial cervical (CIN) de alto grado. De las 322 pacientes que estaban vacunadas al comienzo del seguimiento, 23 (7,1%) presentaron una persistencia/recidiva de lesión cervical de alto grado. De las 137 que formaban el grupo de mujeres no vacunadas, 7 (5,1%) desarrollaron persistencia/recidiva de la lesión. Se analizó su asociación por medio del estadístico de contraste Chi cuadrado sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas con un valor de p=0,420.

En nuestra muestra la primera dosis de vacuna se administró de forma previa a la realización del tratamiento primario mediante conización cervical, y se administró la segunda y la tercera a los 2 y 6 meses respectivamente de la primera dosis. Por tanto, con el fin de mejorar la posible influencia de la vacunación en el riesgo de desarrollo de persistencia/recidiva durante el seguimiento, hemos realizado un segundo análisis comparativo, en el que se han excluido 11 casos de persistencia de lesión diagnosticados en la revisión tras 6 meses del tratamiento primario.

De las 322 pacientes que estaban vacunadas al comienzo del seguimiento, 12 (3,7%) presentaron una recidiva de lesión cervical de alto grado más tarde de los 6 primeros meses tras la intervención. De las 137 que formaban el grupo de mujeres no vacunadas, 7 (5,1%) desarrollaron recidiva de la lesión. Se analizó su asociación por medio del estadístico de contraste Chi cuadrado sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas con un valor de  $p=0,496$ .

### **6.3 ANÁLISIS DE SEGUIMIENTO Y SUPERVIVENCIA LIBRE DE RECIDIVA/PERSISTENCIA DE LESIÓN INTRAEPITELIAL:**

En nuestra muestra de pacientes y tras la realización de la conización cervical, se ha realizado un seguimiento a lo largo del tiempo, con el objetivo de estudiar la recidiva de lesión intraepitelial cervical.

Se ha realizado un estudio de supervivencia, determinando el evento final como la aparición de persistencia/recidiva de lesión intraepitelial cervical de alto grado. Se ha expresado en meses la aparición de la misma (SLR = Supervivencia Libre de Recidiva).

Tras el análisis del tiempo hasta el desarrollo de recidiva en nuestros pacientes afectados por la misma, obtenemos que el tiempo medio hasta la aparición del evento final son 18 meses, con un IC 95% (13,0-22,9), y una mediana de seguimiento hasta la aparición de recidiva de 18 meses, con un IC 95% (7,3-28,6).

#### **6.3.1 Análisis de factores predictivos de persistencia/recidiva:**

Se ha realizado el análisis de regresión de Cox. Tras este análisis no se encuentra ningún factor de riesgo entre las variables recogidas en la Tabla 15 respecto al desarrollo de persistencia/recidiva de lesión intraepitelial cervical de alto grado tras la realización de la conización cervical.

**Tabla 15. Análisis univariante de factores predictivos.**

<b>VARIABLE</b>	<b>Exp (B) Hazard Ratio (HR)</b>	<b>IC 95%</b>	<b>P</b>
<b>Edad (años)</b>	0,990	0,941-1,041	0,685
<b>Fumadora</b>	1,110	0,377-3,269	0,850
<b>Multigesta</b>	1,362	0,488-3,804	0,555
<b>ACHO</b>	1,204	0,339-4,275	0,773
<b>Presencia VPH 16 y/o 18 pre- conización</b>	0,787	0,174-3,558	0,756
<b>Bordes afectados</b>	1,576	0,427-5,812	0,494
<b>Profundidad pieza conización (cm)</b>	3,029	0,392-23,381	0,288
<b>Espesor cono &lt;0,5cm</b>	0,732	0,136-3,929	0,716
<b>Persistencia VPH 6m tras conización</b>	0,705	0,064-7,814	0,776

## **7 DISCUSIÓN**

La infección por virus del papiloma humano de alto riesgo (VPH-AR) es el primer requisito para la carcinogénesis cervical y el desarrollo de lesiones premalignas y cáncer de cérvix. Existen otros factores ambientales que aumentan el riesgo de contagio por VPH: edad temprana del primer coito, elevado número de parejas sexuales y mantener relaciones con hombres que tienen o han tenido múltiples parejas sexuales. Además, el comportamiento sexual de la mujer influye en el riesgo de infección por otras enfermedades de transmisión sexual que actúan a su vez como cofactores del cáncer de cuello de útero.

Diversos estudios epidemiológicos han concluido que la mayoría de las mujeres infectadas por VPH-AR nunca presentarán cáncer cervical, siendo un pequeño porcentaje las que progresarán a CIN II-III y eventualmente a cáncer. Por tanto, la infección por VPH se considera una causa necesaria pero no suficiente de cáncer cervical. Varios estudios de seguimiento en mujeres en las que se conocía su estado con respecto a la infección por VPH han permitido establecer el riesgo de progresión a CIN II-III. *Sherma et al.* concluyeron que el 4,5% de las mujeres infectadas con VPH fueron diagnosticadas de CIN III a los 3 años, y en el 7% a los 10 años. *Gilham et al.* realizaron un estudio de seguimiento de la cohorte del ensayo ARTISTIC y observaron que el 3,4% de las pacientes infectadas por VPH desarrollaban CIN III a los 10 años de seguimiento (96).

Estos datos sugieren la existencia de otros cofactores, favorecedores de la persistencia de infección por VPH, que modulan el riesgo de progresión a cáncer de cérvix. Entre ellos destacan factores virales como la infección por el genotipo 16 y/o 18, una elevada carga viral, la integración del ADN viral en el del huésped; y otros ambientales como la alta paridad, el uso de anticonceptivos hormonales de forma prolongada, el hábito tabáquico o un estado de inmunosupresión. Otros factores mencionados en diversos estudios, pero cuya asociación no ha podido evaluarse correctamente, son una posición socioeconómica desfavorecida que impida un acceso adecuado a los programas de cribado, así como deficiencias nutricionales y de antioxidantes (97).

### **7.1 CONSIDERACIONES SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS BASALES DE LAS PACIENTES.**

#### **Edad:**

Típicamente las neoplasias intraepiteliales cervicales (CIN) se dan en mujeres jóvenes mientras que el carcinoma invasor destaca en la tercera década y edades posteriores. La edad media de las pacientes de nuestro estudio es de 38,42 años, comparable con los resultados de *Guo et al.* que, tras analizar 1572 pacientes sometidas a conización cervical, aportan una media de edad de 38,76 años (98). Encontramos que 68,5% de las mujeres pertenecen al grupo de edad que comprende desde los 30 a los 50 años, siendo comparable a lo publicado en la literatura

#### **Número de parejas sexuales:**

Uno de los factores asociado de forma consistente con la infección por VPH es el número de parejas sexuales. En la bibliografía revisada observamos que el riesgo de contagio por VPH aumenta conforme lo hace el número de parejas sexuales, y todavía es mayor si el tiempo transcurrido entre

una pareja sexual y otra es corto (99). *Sierra-Torres et al.* realizaron un estudio de casos y controles y observaron un riesgo hasta cuatro veces mayor de CCU en mujeres con dos o más parejas sexuales (100). El estudio español AFRODITA cuyo fin era evaluar la cobertura del cribado de cáncer de cuello de útero a nivel nacional, basado en una encuesta a 6.852 mujeres, publicó que el 70,6% de las mujeres habían tenido una sola pareja sexual, el 23% entre dos y cuatro y el 6,4% más de cinco (101). En nuestro estudio, el 9,6% había tenido una sola pareja, el 40,2% entre 2 y 4 y el 50,2% más de 5. Por tanto, el número de compañeros sexuales es mayor en las mujeres de nuestro estudio.

*Yan et al.*, recientemente han realizado un estudio en 9991 mujeres, observando un riesgo 1,31 veces mayor de infección por VPH en mujeres que habían tenido más de una pareja sexual (102). *Zhi-Chan et al.* realizaron un metaanálisis en el que se concluyó que no existe una relación lineal entre el número de parejas sexuales y el riesgo de CCU, si no que este riesgo tiende a estabilizarse en mujeres con más de 4-7 parejas sexuales (103).

### **Hábito tabáquico:**

Existe un gran acuerdo entre los estudios realizados en diferentes países sobre el mayor riesgo de incidencia y persistencia de infección en mujeres fumadoras con respecto a las no fumadoras (104–106). Esta relación se demostró gracias al aislamiento de distintos constituyentes del tabaco, como benzopirenos y nitrosaminas derivadas de la nicotina, en el moco cervical (107). Otro mecanismo propone que el tabaco incrementa la proliferación y el recambio celular en la zona de transformación. Por ejemplo, *Chritine M White et al.* observaron en un grupo de mujeres VPH positivas y citología AS-CUS/L-SIL, un mayor riesgo de progresión de las lesiones en las que eran fumadoras dada la asociación entre el consumo de tabaco y la coexpresión de p16/Ki67, un marcador de proliferación y transformación de las células infectadas por VPH (108). También se propone que el tabaco produce una alteración de la inmunidad local del cérvix, en concreto una alteración de la actividad citotóxica de las células natural killers y una disminución de las células de Langerhans, que favorecen la persistencia de infección por VPH (109). Recientemente, *Juan P Muñoz et al.* han estudiado la posible interacción entre las vías de señalización de las oncoproteínas E6/E7 y los componentes carcinógenos del tabaco, concluyendo que el consumo de tabaco activa la transcripción de los oncogenes E6/E7 del VPH influyendo así en el potencial de transformación de las células infectadas (110).

Los últimos datos españoles según la publicación del Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC) de octubre de 2021, muestran las tasas de prevalencia de distintos cofactores de infección por VPH, siendo la de mujeres fumadoras del 22,3% (29). Con respecto al consumo de tabaco, la encuesta Europea de Salud en España del año 2020 publicada por el Instituto Nacional de Estadística, indica que el 18% de las mujeres de nuestro país son fumadoras. En nuestro estudio en el momento del diagnóstico el 53,2% de las pacientes eran fumadoras, por tanto, en nuestra muestra una prevalencia mayor que la reflejada por la IARC.

*Appleby P et al.* revisaron 23 estudios que relacionaban el consumo de tabaco y el cáncer de cérvix. En ocho de ellos, se concluyó que las mujeres con prueba VPH positiva tenían mayor riesgo de carcinoma cervical de células escamosas en comparación con las que nunca habían fumado (RR = 1,06 (0,14-7,96)) y que el riesgo aumentaba con número de cigarrillos consumidos al día y con una edad temprana de inicio de este hábito (111). *McIntyre-Seltman et al.* concluyeron en un grupo de mujeres con LSIL o ASC-US, que las pacientes fumadoras con infección por VPH-AR tienen hasta 3 veces más riesgo de ser diagnosticadas de CIN III o carcinoma cervical que las no fumadoras (112).

Resultados similares obtuvieron *Tin Ding et al.* observando un en pacientes fumadoras un riesgo 3,17 veces mayor de recurrencia de lesión en comparación con las que no lo son (78). En nuestro estudio no hemos encontrado una asociación estadísticamente significativa entre el consumo de tabaco y la mayor gravedad en el diagnóstico histológico de la lesión cervical.

### **Método anticonceptivo:**

Distintos estudios indican la relación entre el uso prolongado de anticonceptivos hormonales y el cáncer de cuello de útero. Se sugiere un aumento del riesgo en usuarias de ACHO durante más de 5 años, que parece disminuir si se interrumpen, e igualar en un plazo de 10 años al riesgo de las que nunca los han tomado (113). En nuestro estudio, el método anticonceptivo más frecuentemente utilizado son los ACHO, en un 38,18% de las pacientes, seguido del preservativo en un 35,91%.

La encuesta DAPHNE de 2022 sobre actitudes anticonceptivas en mujeres españolas muestra que el preservativo es el método anticonceptivo más utilizado con un 31,3% en 2020 y un 35,7% en 2022, mientras que el porcentaje de mujeres usuarias de ACHO era un 18,5% y un 17%, respectivamente. Por tanto, nuestro estudio se asemeja en las tasas de usuarias de métodos de barrera, pero difiere en el de anticonceptivos hormonales, siendo en nuestra muestra aproximadamente un 15% mayor que la media obtenida en la encuesta anual.

*Iversen et al.* llevaron a cabo un estudio de cohortes en mujeres de 15 a 49 años desde 1996 a 2014 para estudiar el riesgo de cáncer de cérvix asociado al uso de anticonceptivos hormonales. Concluyeron que las usuarias de ACHO tenían un 1,30 veces mayor riesgo de carcinoma, y que este aumentaba si se usaban de forma prolongada (114). En la misma línea, *Huilan eta al.* realizaron un estudio retrospectivo de casos y controles para estudiar la asociación entre anticonceptivos hormonales y el desarrollo de CIN II-III, observando que las usuarias de ACHO presentaban un riesgo 1,5 veces mayor en comparación con las que nunca los habían usado, y este se veía incrementado conforme aumentaba su tiempo de uso (115).

Sin embargo, *Anastasiou et al.* han realizado recientemente un metaanálisis en el se incluyen 7 estudios que estudian la asociación entre anticonceptivos hormonales y el desarrollo de CIN II-III o carcinoma de cérvix en mujeres con infección por VPH. Dos de ellos mostraban un incremento del riesgo en usuarias de ACHO con una Odds Ratio de 1,5-2,7; en otro estudio no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, pero sí se observó una disminución del riesgo si se suspendía el tratamiento en mujeres VPH positivas; y en los cuatro restantes no se hallaron diferencias. El análisis concluyó que no existía evidencia suficiente para apoyar la asociación entre ACHO y el cáncer de cérvix (116). Por tanto, en la bibliografía actual existe discrepancia en cuanto al efecto de la anticoncepción hormonal y el desarrollo de patología cervical, ya que son varios los estudios con resultados no concluyentes para esta asociación (117).

### **Paridad:**

Se conoce que durante el embarazo se producen cambios hormonales (aumento de los niveles de estrógeno y progesterona) que pueden modular la respuesta inmune local a nivel cervical. Además, el parto vaginal favorece la ectopia cervical facilitando la exposición directa al VPH y otros

cofactores. Estos mecanismos influyen por tanto en el riesgo de persistencia o progresión de la infección por VPH (118).

*Baskaran et al.* concluyeron que las mujeres con 4-6 embarazos a término tienen un mayor riesgo de cáncer de cérvix. En ocho estudios de casos y controles sobre el cáncer de cérvix invasivo y dos estudios sobre el carcinoma in situ, se sugiere que las mujeres con 7 partos tienen un riesgo 3,8 veces mayor que las nulíparas y 2,3 veces superior a las que han tenido uno o dos embarazos de presentar un carcinoma cervical de células escamosas (119). En nuestro estudio, el número de gestaciones osciló entre 0 y 7, siendo la media de embarazos por paciente de 0,99. Hemos estudiado la relación entre el número medio de partos y el grado de lesión cervical sin observarse diferencias estadísticamente significativas (ANOVA  $p > 0,05$ ), con un número medio de partos en las pacientes diagnosticadas de CIN I de 1,29, en las CIN II de 0,79 y en las CIN III de 1,14.

### **Estado inmunológico:**

Las mujeres con inmunosupresión tienen mayor riesgo de cáncer genital y anal que las mujeres sanas de su mismo grupo de edad. *Ellrbrock et al.* realizaron un estudio de casos y controles para estudiar y comparar la incidencia de lesión intraepitelial cervical entre mujeres VIH positivas y negativas durante un periodo de seguimiento de 3 años. Concluyeron que el 20% de las mujeres seropositivas desarrollaron una LSIL frente al 5% de las mujeres no infectadas por VIH, lo que suponía un riesgo 3,2 veces mayor en mujeres VIH positivas. *Coronado et al.*, publican que la inmunosupresión es el factor de riesgo predictivo más importante en la recurrencia de lesiones premalignas cervicales (120). En nuestro estudio el 2,2% de las pacientes eran inmunodeprimidas, bien por infección VIH, LES o trasplantadas con tratamientos inmunosupresores. Hemos estudiado la posible relación entre el estado de inmunosupresión y la lesión cervical, sin encontrar relación estadísticamente significativa entre ambas variables. Sin embargo, observamos que el porcentaje de pacientes inmunodeprimidas es mayor en lesiones CIN II-III.

## **7.2 CONSIDERACIONES SOBRE LA INFECCIÓN POR VPH.**

Con respecto a los resultados de infección, en nuestra muestra el 96,7% tuvieron un resultado positivo en la prueba de VPH, tratándose en un 24,5% de los casos de una infección causada por la combinación de más de un genotipo de alto riesgo oncogénico. Los tipos del VPH-AR identificados en nuestro estudio por orden de frecuencia son:

- El grupo de VPH de alto riesgo oncogénico de alguno o algunos de los tipos (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68) se detectó el 58,8% de los casos:
  - De forma aislada en un 35,9%.
  - En un 19,4% de los casos se detectó una infección por VPH 16 y otros VPH-AR.
  - En un 2,4% coexistía una infección por VPH 18 y otros VPH-AR.
  - En un 1,1% de los casos se trataba de una infección por el VPH 16, 18 y otros VPH-AR.

- El segundo tipo viral según su frecuencia es el VPH 16, detectado en el 55,4% de los casos:
  - De forma aislada en un 34,2%.
  - En el 19,4% de los casos se detectó coinfección con otros tipos virales de alto riesgo.
  - En un 0,7% coexistía infección por VPH 16 y 18.
  - En un 1,1% de los casos se trataba de una infección por el VPH 16, 18 y otros VPH-AR
  - El VPH es detectado en un 7,3% de los casos.

En el metaanálisis realizado por *Clifford et al.* con 14,595 casos de HSIL y 7094 de CCU, los tipos de VPH-AR identificados en lesiones intraepiteliales cervicales de alto grado con más frecuencia por orden de prevalencia decreciente son el VPH 16 (45,3%), 31 (8,6%), 33 (7,3%), 58 (7%), 18 (6,9%), 52 (5,1%), 35 (3,8%), 51 (3,6%), 45 (2,3%), 56 (2,9%), 39 (2%), 66 (1,9%) y 68 (1,1%) (121). Resultados similares muestran *Tjalma et al.* en el que los genotipos más frecuentes en pacientes con neoplasia intraepitelial cervical eran el 16, 33 y 31, con tasas de infección por más de un genotipo VPH en el 17,2% de las mismas (122).

Se debe tener en cuenta que la prueba de VPH realizada en nuestro hospital no realiza la tipificación específica del genotipo si se trata de una infección por VPH de alto riesgo oncogénico distintos al 16 y 18, dando un resultado positivo para alguno de los siguientes: 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68. Por tanto, únicamente podemos comparar la tasa de VPH 16 y 18, que son similares a los de nuestro estudio.

*Solé-Sedeno et al.* estudiaron las diferencias en la progresión a CIN II-III según el tipo de VPH-AR. Observaron que el riesgo de progresión para el VPH 16 fue del 32,1%, para el VPH 18 del 14,3% y para otros VPH-AR del 5,8%. La presencia de una infección por VPH 16 suponía un riesgo 7,4 veces mayor de desarrollar una neoplasia intraepitelial cervical de alto grado que la ausencia de infección (123).

En nuestro estudio hemos estudiado la relación entre el tipo de VPH y el grado de lesión histológica cervical, y se ha observado que el VPH 16 aumenta a medida que aumenta el grado de lesión cervical en la pieza de conización, identificándose en el 41,6% (10/24) de los casos de CIN I, en el 52,63% (50/95) de los casos de CIN II y en el 60,96% (164/269) de los casos de CIN III.

### **7.3 CONSIDERACIONES SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS ANATOMOPATOLÓGICAS.**

Un resultado anormal en las pruebas de cribado cervical implica la mayoría de las veces la posterior realización de una colposcopia y biopsia dirigida, con el fin de obtener un diagnóstico histológico de confirmación. Por ello, la biopsia tomada bajo visión colposcópica es el Gold Standard en el diagnóstico de la patología cervical. Su eficacia está condicionada principalmente por la experiencia y la capacidad del colposcopista para interpretar los hallazgos observados, así como su capacidad para dirigir las biopsias a aquellas zonas que sugieren mayor grado lesional (124).

### **Comparación entre los resultados de la biopsia guiada bajo visión colposcópica y los de la pieza de conización cervical:**

*Underwood et al.* realizaron un metaanálisis que incluía un total de 8000 biopsias con el objetivo de estudiar la rentabilidad diagnóstica de la colposcopia, comparando el resultado anatomopatológico de la biopsia guiada por colposcopia y la de la pieza quirúrgica final. Se concluyó que la sensibilidad y especificidad de la colposcopia para la detección de lesiones cervicales de alto grado en la pieza de conización era diferente según si el resultado de la biopsia dirigida fue de LSIL/CIN I (91% y 25%, respectivamente) o a HSIL/CIN II-III (81% y 63%, respectivamente) (125).

Es importante considerar las diferencias de precisión de la biopsia cervical tomada durante la colposcopia y el resultado final tras la conización cervical, con un grado final histológico aumentado o disminuido. La biopsia dirigida puede sobreestimar el grado de lesión con respecto al diagnóstico escisional cuando la lesión es pequeña si la biopsia incluye el fragmento con mayor anormalidad, o subestimar la gravedad de la lesión dada la posibilidad de realizar la biopsia en un área cervical distinta a la que incluye el mayor grado lesional (126).

En nuestro estudio, los resultados muestran que el número de resultados anatomopatológicos negativos en la pieza de conización cervical fue mayor que los de la biopsia tomada bajo colposcopia, mientras que el número de casos de CIN III fue menor que el de la biopsia de colposcópica. Entre las 459 pacientes sometidas a conización cervical, la tasa de coincidencia entre ambos resultados fue de 53,37% (245/459), y los resultados AP postquirúrgicos mostraron que 86 casos (18,74%) tenían un resultado AP mayor y 118 casos (25,70%) un resultado menor. *Stuebs et al.* realizaron un estudio con 4778 pacientes en las que se realizó una biopsia cervical bajo visión colposcópica y tratamiento escisional posterior. La tasa de coincidencia para CIN III-III es del 74% y del 48% para CIN I. Las tasas de sobrediagnóstico son del 19,6% y de infradiagnóstico del 18,8% (127). Por tanto, nuestros resultados son similares a los de la bibliografía revisada.

### **Tratamiento escisional mediante conización cervical:**

Con respecto al tratamiento de lesiones intraepiteliales cervicales, *Hurtado-Roca et al.* realizaron un metaanálisis sobre la eficacia y seguridad de la crioterapia, la conización con bisturí frío o la coagulación térmica, comparándolos con la conización con asa de diatermia. Se observó que el tratamiento con crioterapia incrementaba el riesgo de recurrencia en un 86% con respecto al asa de diatermia, mientras que la conización con bisturí frío la reducía (128). Resultados similares se observan en el metaanálisis de *Santesso et al.*, con tasas de recurrencia del 5,3% tras conización con asa de diatermia o crioterapia, frente a un 4,1% tras conización con bisturí frío (129). *Zhang et al.* compararon la eficacia y seguridad de las técnicas ablativas y escisionales, concluyendo que el riesgo de persistencia/recurrencia es 1,65 veces mayor con tratamientos ablativos en comparación con los escisionales, mientras que no existían diferencias en los perfiles de seguridad de ambos tratamientos (130).

Por tanto, dada su tasa de curación del 90-97%, el tratamiento de elección del H-SIL/CIN II-III es la conización cervical con asa de diatermia, que trata de conseguir la exéresis completa de toda la zona de transformación, incluyendo en el corte la totalidad de la lesión. Uno de los inconvenientes de esta técnica es la probabilidad de realizar una escisión incompleta. El estudio español realizado por *Centeno et al.* recoge un total de 720 conizaciones con un seguimiento de entre 7 meses y 8

años, y concluye que el 14% de las mismas presentaba afectación de márgenes quirúrgicos (131). Menor tasa de afectación se observa en el estudio retrospectivo presentado recientemente por *Chen et al.* que tras estudiar 1005 conizaciones con asa de diatermia y su seguimiento de 24 meses, presentan una tasa de persistencia/recurrencia del 1,6%, observando que esta era mayor en los casos con margen endocervical afecto con respecto a los márgenes libres o la afectación del margen ectocervical (132).

En nuestro estudio, el 7% de las conizaciones presentaban afectación de los márgenes quirúrgicos. Del total de 17 márgenes afectos, en el 3,7% se trataba del borde endocervical, en el 2,4% el exocervical, y en el 0,9% ambos bordes estaban afectos. Se conoce que las neoplasias intraepiteliales grado CIN III y aquellas lesiones debido a una infección por VPH 16 son generalmente más extensas que las de menor grado y las producidas por otro genotipo viral distinto. Por ello, hemos analizado la relación entre el grado de lesión cervical y la afectación de los márgenes quirúrgicos encontrado diferencias estadísticamente significativas, y observamos que el porcentaje de bordes afectados en nuestra muestra es mayor a medida que aumenta el grado de lesión cervical. A pesar de no hallar asociación significativa entre la presencia del genotipo 16 y la afectación de márgenes quirúrgicos, sí observamos un mayor porcentaje de VPH 16 en los casos de bordes quirúrgicos afectos en comparación con los libres. Tampoco hemos observado asociación entre la afectación de los márgenes y la persistencia/recurrencia de lesión cervical durante el seguimiento.

Es importante considerar que una escisión incompleta no es sinónimo de lesión residual. El daño térmico derivado del asa puede dificultar la interpretación histológica de los bordes de la pieza de conización, siendo un factor dependiente de la habilidad y experiencia del cirujano (133). Por tanto, aunque la presencia de márgenes afectos aumenta el riesgo de persistencia/recidiva lesional, el estado de los márgenes de forma aislada tiene una baja capacidad de predecirla, ya que el 60% de las pacientes con márgenes afectos no presentan SIL/CIN en el seguimiento posterior. En nuestro estudio, observamos un porcentaje incluso mayor, ya que el 87.5% de las pacientes con bordes afectos no presentaron ninguna lesión durante el seguimiento. Por tanto, la existencia de márgenes afectos no es sinónimo de lesión residual y no justifica la realización de una terapia escisional directa.

Con respecto al espesor de la pieza quirúrgica, *Yan Ge et al.* realizaron un estudio con 415 conizaciones para identificar posibles factores predictores de persistencia/recidiva de la lesión, y observaron que una profundidad mayor a 0,5 cm era un factor protector de recurrencia (134). *Srijarusith et al.* analizaron el espesor adecuado de la pieza de conización cervical que permitiese obtener unos márgenes quirúrgicos libres, estableciendo como punto de corte calculado mediante curvas ROC una profundidad de resección de 7.21 mm, con una sensibilidad del 63,53 % y una especificidad del 71,76 % (135). *Giannella et al.* observaron que una profundidad de al menos 9 mm se relacionaba con tasas de márgenes quirúrgicos libres del 88,3% (136). En nuestro estudio el espesor medio de la pieza quirúrgica fue de 8,79 mm, por lo que se cumpliría dicha recomendación. Además, observamos asociación estadísticamente significativa entre la profundidad de la pieza de conización y la recidiva de lesión cervical con un valor de p de 0,039.

### **Revisión tras 6 y 24 meses de la conización cervical:**

El objetivo principal del tratamiento no es tratar la infección por VPH, si no eliminar la lesión cervical, pero existe evidencia de que el VPH-AR se negativiza en las lesiones extirpadas completamente, con tasas de aclaramiento de la infección por VPH del 85-90% tras la conización. Sin embargo, se estima que entre un 5-15% de las pacientes sometidas a una conización, presentarán enfermedad persistente o recurrente durante el seguimiento (4).

Debido a este riesgo tras el tratamiento, es importante informar a la paciente de la necesidad de realizar un seguimiento adecuado para detectar de forma precoz la persistencia/recidiva de lesión. Actualmente, la mayor sensibilidad de la prueba VPH respecto a la citología para detectar casos de persistencia/recurrencia lesional, la convierte en el test preferente de los protocolos de seguimiento postratamiento.

En nuestro estudio, a los 6 meses de la conización se realizó la prueba VPH a 418 pacientes, resultando negativa en el 76,3%, frente a un 23,7% de pacientes en las que persistía la infección por VPH. En cambio, a los 24 meses del tratamiento se observó un aumento de negativización del virus que alcanzaba el 83,3% de las pacientes, frente a un 16,7% en las que persistía la infección por VPH.

La prueba de VPH y el cotest poseen una mayor sensibilidad en la detección de CIN II-III en comparación con la citología, tanto en el diagnóstico previo a la conización como en el seguimiento posterior a la cirugía (80,137). En nuestro estudio esto lo vemos reflejado en las pruebas diagnósticas realizadas a los 6 y 24 meses, en la que se observa mayor número de resultados alterados en la prueba de VPH con respecto a los resultados citológicos.

*Arbyn et al.* realizaron un metaanálisis para estudiar si los márgenes afectos o la prueba VPH tras el tratamiento son factores predictivos adecuados de un fracaso de la conización, definido como persistencia/recurrencia de HSIL/CIN II-III. Observaron tasas de persistencia/recurrencia del 6,1%. Concluyen que los resultados de la prueba de VPH fueron más precisos que el estado del margen quirúrgico en la predicción de recurrencia lesional, con mayor sensibilidad (91% versus 22,8%) y una especificidad similar de 83-84%. Una prueba de VPH negativa post-conización se asoció con un riesgo de HSIL/CIN II-III del 0,8 %, mientras que este riesgo fue del 3,7 % cuando los márgenes estaban libres (138). Resultados similares muestran *Tin Ding et al.* con un 6,1% de recurrencia de HSIL tras la conización. Por tanto, la escasa capacidad predictiva del estado de los márgenes para predecir la recurrencia argumenta que no esté recomendado diferenciar las pruebas a llevar a cabo durante el seguimiento según el estado de los márgenes (78).

En nuestro estudio se observó persistencia/recurrencia de CIN II-III en el 6,5% de las pacientes, lo que se corresponde con la bibliografía publicada. En 17 casos se realizó una reconización y en 13 casos una histerectomía total. Hemos observado una asociación estadísticamente significativa entre la persistencia de VPH a los 6 meses de seguimiento y la persistencia/recidiva de lesión ( $p < 0,0001$ ). En los casos de CIN I no fue necesario realizar tratamiento quirúrgico complementario. En los casos CIN II, el 93,7% de ellos no se realizó tratamiento quirúrgico complementario frente a un 5,25% que se realizó una segunda conización y un 1,05% una histerectomía simple. Y en los casos de CIN III, en el 91% no se realizó tratamiento complementario, en el 4,5% se realizó una reconización y en el 4,5% una histerectomía simple.

## **7.4 CONSIDERACIONES SOBRE EL ESTADO DE VACUNACIÓN FRENTE A VPH.**

Con respecto al papel adyuvante de la vacunación en pacientes que han sido tratadas por lesiones intraepiteliales de alto grado, se observan diferentes resultados en la bibliografía publicada. *Jentschke et al.* han realizado recientemente un metaanálisis con un total de diez estudios (tres prospectivos, tres retrospectivos, tres análisis post-hoc de ensayos clínicos aleatorizados y un registro de series de casos de CCU) comparando el riesgo de persistencia/recidiva lesional tras la conización en pacientes sin o con vacuna pre o postratamiento. Sus resultados mostraron una reducción significativa de un 59% en el riesgo de CIN II-III durante el seguimiento en pacientes que habían sido vacunadas frente al VPH (OR 0.41 IC95% 0,27-0,64) (90). En la misma línea, *Kechagias et al.* en un metaanálisis con un total de 36 artículos muestran una reducción del riesgo de recurrencia del 57%, y en particular cuando se trata de una infección por el genotipo 16 y/o 18 (139).

En cambio, un metaanálisis llevado a cabo por *Eriksen et al.* no encontraron ningún efecto significativo de la vacunación contra el VPH en el riesgo de recurrencia de CIN II-III cuando se utilizaron los resultados obtenidos en los estudios observacionales incluidos (140). *Arbyn et al.* observaron riesgos similares de CIN II-III asociados a VPH 16/18 entre mujeres vacunadas y no vacunadas entre los 24 y los 45 años, existe evidencia de certeza moderada de que los riesgos de CIN2+ asociados con HPV16/18 (91). *Sand et al.* tampoco encontraron diferencias estadísticamente significativas entre vacunadas y no vacunadas, pero sí que observaron un menor riesgo de recurrencia en mujeres vacunadas 0-3 meses antes de la conización en comparación con las mujeres vacunadas 0-12 meses tras la cirugía (141).

En nuestro estudio se analizó la relación entre el estado de vacunación al comienzo del seguimiento y la persistencia/recurrencia de la neoplasia intraepitelial cervical (CIN) de alto grado, sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,420$ ). Por tanto, existe una gran discrepancia en los resultados en cuanto a la eficacia de la misma y no se dispone de bibliografía consistente que demuestre la disminución del riesgo de persistencia/recurrencia en mujeres vacunadas frente al VPH a largo plazo.

## **7.5 FORTALEZAS Y LIMITACIONES DEL ESTUDIO.**

El diseño de este estudio tiene fortalezas y limitaciones que deberían tenerse en cuenta a la hora de interpretar los resultados. Entre sus fortalezas, destaca que se ha conseguido una cohorte de pacientes amplia en número y años de seguimiento, así como la recolección minuciosa de los datos. Además, se han aplicado criterios de inclusión estrictos, obteniendo una muestra correctamente seleccionada gracias a la existencia de un protocolo asistencial definido en nuestro centro y a nivel nacional. Los hallazgos de las pruebas realizadas fueron analizados en la misma sección, y en la gran mayoría de los casos por el mismo examinador. En cambio, el equipo que realiza la técnica escisional es comparativamente más amplio, por lo que los médicos están más especializados en el diagnóstico en comparación con el tratamiento de lesiones intraepiteliales cervicales.

Entre las principales limitaciones, destaca la naturaleza retrospectiva y no aleatorizada de nuestro estudio. Debido a que los datos han sido recogidos de las historias clínicas de las pacientes,

dependen de la precisión del personal sanitario a la hora de completar las mismas. El periodo de seguimiento tras la conización cervical no es el mismo en todas las pacientes, ya que se incluyen las intervenciones realizadas hasta diciembre de 2021, que por tanto únicamente tienen realizado la primera revisión a los 6 meses. Esto puede infraestimar la tasa de persistencia o recurrencia total de las pacientes incluidas en la muestra. Se necesita realizar ensayos clínicos prospectivos, controlados y aleatorizados para poder dar recomendaciones basadas en evidencia científica de alta calidad sobre la vacunación en mujeres tratadas por lesión intraepitelial de alto grado y su efectividad en la reducción de las tasas de recidiva lesional.

## 8 CONCLUSIONES

1. La infección persistente por VPH es causa necesaria para el desarrollo del cáncer de cérvix y sus lesiones precursoras. En nuestra muestra de 459 conizaciones cervicales, la prueba de VPH fue positiva en el 96,7% de los casos.
2. Los VPH 16 y 18 son responsables del 70% de los casos de cáncer de cuello uterino a nivel mundial. En nuestra serie, estos dos genotipos virales se identificaron en el 60,9% de las pacientes con lesión intraepitelial cervical.
3. La evidencia más reciente apunta a que los genotipos que coinfectan el cérvix actúan de forma independiente en el desarrollo de las lesiones cervicales (24,5% casos de infección multigenómica en nuestra serie).
4. La edad media de las pacientes sometidas a conización cervical fue de 38,42 años, similar a lo descrito en la literatura.
5. La infección persistente por VPH es condición necesaria, pero no suficiente en el proceso de carcinogénesis del cuello uterino, por tanto, son necesarios cofactores que actúen junto al virus: multiparidad, hábito tabáquico, anticoncepción hormonal e inmunodepresión. Sin embargo, no hemos encontrado significación estadística para ninguna de ellas.
6. El número de casos de estudio anatomopatológico negativo en la pieza de conización fue mayor que el de la biopsia tomada bajo colposcopia, mientras que el número de casos de CIN III fue menor que el de la biopsia de colposcópica. La tasa de coincidencia entre ambos resultados fue de 53,37%.
7. En el análisis histológico de las piezas quirúrgicas encontramos un 13,9% de conizaciones “en blanco”, un 5,2% de CIN I y un 78,7% de CIN II-III. La afectación de los márgenes exo y endocervicales del cono, fueron del 2,4% y del 3,7%, respectivamente. Cuanto mayor fue el grado de lesión histológica, mayor fue la frecuencia de márgenes afectados.
8. Las neoplasias intraepiteliales cervicales debidas a una infección por VPH 16 son generalmente más extensas que las producidas por un genotipo viral distinto.
9. La escisión de la lesión se asoció con la negativización del VPH en el 83,3% de las pacientes durante los dos primeros años tras la conización.
10. La determinación del ADN-VPH a los 6 meses del tratamiento ofrece una alta sensibilidad para la detección de la enfermedad residual. En los casos de persistencia del VPH, el más frecuente fue el grupo de otros VPH-AR distintos del 16 y 18 (11,2%).
11. El tratamiento quirúrgico complementario (reconización o histerectomía) fue necesario el 6,5% de las pacientes.
12. No hemos observado disminución del riesgo de recidiva lesional durante el seguimiento en aquellas mujeres que estaban vacunadas frente al VPH en comparación con las que no lo están.

## 9 ANEXOS

**Anexo I.** Dictamen favorable CEICA (Comité de Ética de la Investigación de la Comunidad de Aragón) con fecha de 18 de mayo de 2022 y número de acta 10/2022.



**Informe Dictamen Favorable  
Trabajos académicos**

C.I. PI22/257

18 de mayo de 2022

Dña. María González Hincos, Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

### CERTIFICA

**1º.** Que el CEIC Aragón (CEICA) en su reunión del día 18/05/2022, Acta Nº 10/2022 ha evaluado la propuesta del Trabajo:

**Título: Análisis de la tendencia de lesiones intraepiteliales de cuello de útero y su tratamiento escisional mediante conización cervical en el Hospital San Jorge de Huesca, durante el periodo de 2010-2021**

**Alumna: Noelia Lázaro Fracassa**

**Tutores: Jara Carrera Banzo y Jose Manuel Ramón y Cajal**

**Versión protocolo: Versión 2 - 18/05/2022**

**Alumna: Noelia Lázaro Fracassa**

**Tutores: Jara Carrera Banzo y Jose Manuel Ramón y Cajal**

**Versión protocolo: Versión 2 - 18/05/2022**

**2º.** Considera que

- El proyecto se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y los principios éticos aplicables.
- El Tutor/Director garantiza la confidencialidad de la información, la cesión de los datos seudonimizados y el adecuado tratamiento de los datos, en cumplimiento de la legislación vigente y la correcta utilización de los recursos materiales necesarios para su realización.

**3º.** Por lo que este CEIC emite **DICTAMEN FAVORABLE a la realización del proyecto.**

Lo que firmo en Zaragoza

GONZALEZ HINJOS  
MARIA - DNI 03857456B

Firmado digitalmente  
por GONZÁLEZ HINJOS  
MARIA - DNI 03857456B  
Fecha: 2022.05.20  
13:49:45 +02'00'

María González Hincos  
Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

**Anexo II.** Autorización de la Dirección Médica del Hospital Universitario San Jorge de Huesca.



DOÑA CRISTINA CUARTERO CASÍN, DIRECTORA DEL HOSPITAL SAN JORGE DE HUESCA

AUTORIZA A:

D/Doña NOELIA LÁZARO FRACASSA, residente de Obstetricia y Ginecología a llevar a cabo el estudio de investigación para su trabajo de Fin de Master con título "Master Universitario de iniciación a la investigación en medicina" manteniendo siempre la debida obligación de confidencialidad y uso correcto de los datos obtenidos del mismo.

Así mismo para su realización deberá informar al jefe/coordinador/supervisor responsable de la unidad donde se va a desarrollar su estudio.

En Huesca, 15 de Marzo de 2022

Fdo: Dña Cristina Cuartero Casín  
Directora del Hospital San Jorge  
Huesca



## **10 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS**

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021 May;71(3):209–49.
2. Spain. Human papillomavirus and related cancers. Fact Sheet 2021. Available from: [www.hpvcentre.net](http://www.hpvcentre.net)
3. Chirlaque MD, Salmerón D, Galceran J, Ameijide A, Mateos A, Torrella A, et al. Cancer survival in adult patients in Spain. Results from nine population-based cancer registries. *Clin Transl Oncol*. 2018 Feb 1;20(2):201–11.
4. Torne A, Andía D, Bruni L, Centeno C, Coronado P, Cruz Quilez J, et al. AEPCC-Guía: Prevención secundaria del cáncer de cuello del útero, 2022. Conducta clínica ante resultados anormales de las pruebas de cribado. AEPCC-Guía. 2022.
5. Hausen H zur, Schulte-Holthausen H, Wolf H, Dörries K, Egger H. Attempts to detect virus-specific DNA in human tumors. II. Nucleic acid hybridizations with complementary RNA of human herpes group viruses. *Int J Cancer*. 1974;13(5):657–64.
6. Bosch FX, Manos MM, Muñoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group. *J Natl Cancer Inst*. 1995 Jun 7;87(11):796–802.
7. Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJLM, Shah K v. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol*. 2002;55(4):244–65.
8. zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers - a brief historical account. *Virology*. 2009 Feb;384(2):260–5.
9. de Villiers EM. Cross-roads in the classification of papillomaviruses. *Virology*. 2013 Oct;445(1–2):2–10.
10. Chacón J, Sanz I, Rubio MD, de la Morena ML, Díaz E, Mateos ML, et al. Detección y genotipado del virus del papiloma humano de alto riesgo en muestras de lesiones cervicales. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2007;25(5):311–6.
11. de Sanjosé Llongueras S, García García A. Virus del papiloma humano y cáncer: epidemiología y prevención. 4ª Monografía de la Sociedad Española de Epidemiología. 2006.
12. Groves IJ, Coleman N. Pathogenesis of human papillomavirus-associated mucosal disease. *J Pathol*. 2015 Mar;235(4):527–38.
13. Félix Beltrán-Lissabet J. Aspectos generales sobre la estructura y función de las proteínas codificadas por el virus del Papiloma Humano. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*. 2014;45(2):108–18.
14. Reina JC, Muñoz N, Sánchez GI. El estado del arte en las infecciones producidas por el virus del papiloma humano. *Colombia Médica*. 2008;39(2).
15. Chacón J, Mateos ML, Sanz I, Rubio MD, Baquero F. Genotipos de virus del papiloma humano más frecuentes en mujeres con citología cervicovaginal alterada utilizando técnicas de

- captura de híbridos y reacción en cadena de la polimerasa. *Clin Invest Ginecol Obstet*. 2006;23(3):97-101.
16. Doorbar J, Egawa N, Griffin H, Kranjec C, Murakami I. Human papillomavirus molecular biology and disease association. *Rev Med Virol*. 2015 Mar;25(1):2–23.
  17. Powell NG, Evans M. Human papillomavirus-associated head and neck cancer: oncogenic mechanisms, epidemiology and clinical behaviour. *Diagn Histopathol*. 2015 Feb;21(2):49–64.
  18. Girolglou T, Florin L, Schäfer F, Streeck RE, Sapp M. Human Papillomavirus Infection Requires Cell Surface Heparan Sulfate. *J Virol*. 2001 Feb;75(3):1565–70.
  19. Egawa N, Egawa K, Griffin H, Doorbar J. Human Papillomaviruses; Epithelial Tropisms, and the Development of Neoplasia. *Viruses*. 2015 Jul;7(7):3863–90.
  20. Woodman CBJ, Collins SI, Young LS. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. *Nat Rev Cancer*. 2007 Jan;7(1):11–22.
  21. Aquaro S, Pérez-González A, Cachay E, Ocampo A, Poveda E. Update on the Epidemiological Features and Clinical Implications of Human Papillomavirus Infection (HPV) and Human Immunodeficiency Virus (HIV) Coinfection. *Microorganisms*. 2022 May;10(5):1047.
  22. Hopman AHN, Kamps MA, Smedts F, Speel EJM, Herrington CS, Ramaekers FCS. HPV in situ hybridization: impact of different protocols on the detection of integrated HPV. *Int J Cancer*. 2005 Jun;115(3):419–28.
  23. McBride AA, Warburton A. The role of integration in oncogenic progression of HPV-associated cancers. *PLoS Pathog*. 2017 Apr;13(4).
  24. Bedell SL, Goldstein LS, Goldstein AR, Goldstein AT. Cervical Cancer Screening: Past, Present, and Future. *Sex Med Rev*. 2020 Jan;8(1):28–37.
  25. Steinbach A, Riemer AB. Immune evasion mechanisms of human papillomavirus: An update. *Int J Cancer*. 2018 Jan;142(2):224–9.
  26. Stanley M. Immune Responses to Human Papillomavirus and the Development of Human Papillomavirus Vaccines. *Human Papillomavirus: Proving and Using a Viral Cause for Cancer*. 2020;283–97.
  27. Steenbergen RDM, Snijders PJF, Heideman DAM, Meijer CJLM. Clinical implications of (epi)genetic changes in HPV-induced cervical precancerous lesions. *Nat Rev Cancer*. 2014;14(6):395–405.
  28. Sendagorta-Cudós E, Burgos-Cibrián J, Rodríguez-Iglesias M. Infecciones genitales por el virus del papiloma humano. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2019 May;37(5):324–34.
  29. Bruni L, Albero G, Serrano B, Mena M, Collado J, Gómez D, et al. ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). *Human Papillomavirus and Related Diseases in the World*. 2021.
  30. Castellsagué X, Iftner T, Roura E, Vidart JA, Kjaer SK, Bosch FX, et al. Prevalence and genotype distribution of human papillomavirus infection of the cervix in Spain: the CLEOPATRE study. *J Med Virol*. 2012;84(6):947–56.

31. Alemany L, Pérez C, Tous S, Llobart-Bosch A, Lloveras B, Lerma E, et al. Human papillomavirus genotype distribution in cervical cancer cases in Spain. Implications for prevention. *Gynecol Oncol*. 2012;124(3):512–7.
32. de Sanjosé S, Ibáñez R, Rodríguez-Salés V, Peris M, Roura E, Diaz M, et al. Screening of cervical cancer in Catalonia 2006–2012. *Ecancermedicalscience*. 2015;9:532.
33. Michalczyk K, Misiak M, Chudecka-Głaz A. Can Adjuvant HPV Vaccination Be Helpful in the Prevention of Persistent/Recurrent Cervical Dysplasia after Surgical Treatment?—A Literature Review. *Cancers (Basel)*. 2022;14(18).
34. Muñoz N, Méndez F, Posso H, Molano M, van den Brule AJC, Ronderos M, et al. Incidence, duration, and determinants of cervical human papillomavirus infection in a cohort of Colombian women with normal cytological results. *J Infect Dis*. 2004;190(12):2077–87.
35. Litwin TR, Clarke MA, Dean M, Wentzensen N. Somatic Host Cell Alterations in HPV Carcinogenesis. *Viruses*. 2017;9(8).
36. González Martínez G, Troconis JN. Historia natural de la infección por el virus del papiloma humano: una actualización. *Invest Clin*. 2014;55(1):82–91.
37. Manini I, Montomoli E. Epidemiology and prevention of Human Papillomavirus. *Ann Ig*. 2018;30(4 Suppl 1):28–32.
38. Chow LT, Broker TR, Steinberg BM. The natural history of human papillomavirus infections of the mucosal epithelia. *APMIS*. 2010;118(6–7):422–49.
39. Burchell AN, Winer RL, de Sanjosé S, Franco EL. Chapter 6: Epidemiology and transmission dynamics of genital HPV infection. *Vaccine*. 2006 Aug 21;24(Suppl. 3):S52–61.
40. Ochoa Carrillo FJ, Guarneros De Regil DB, Velasco Jimenez MT. Infección por virus del papiloma humano en mujeres y su prevención. *Gaceta Mexicana de Oncología*. 2015;14(3):157–63.
41. Alonso de Ruiz P, Lazcano E, Hernandez M. *Cáncer cervicouterino: diagnóstico, prevención y control* - Patricia Alonso de Ruiz, Eduardo C. Lazcano Ponce, Mauricio Hernández Ávila - Google Libros. 2nd ed. México: Editorial Médica Panamericana; 2006.
42. Reyes MC, Cooper K. Cervical cancer biopsy reporting: A review. *Indian J Pathol Microbiol*. 2014;57(3):364.
43. Carreras R, Xercavins J, Checa M. *Virus del papiloma humano y cáncer de cuello de útero*. 1st ed. Editorial Médica Paramericana; 2007.
44. Bruno MT, Cassaro N, Bica F, Boemi S. Progression of CIN1/LSIL HPV Persistent of the Cervix: Actual Progression or CIN3 Coexistence. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2021.
45. McCredie MR, Sharples KJ, Paul C, Baranyai J, Medley G, Jones RW, et al. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. *Lancet Oncol*. 2008;9(5):425–34.
46. Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia. *AEPCC guía: Prevención secundaria del cáncer de cuello de útero*. 2022. (Copyright@ AEPCC 2022).

47. Lili E, Chatzistamatiou K, Kalpaktsidou-Vakiani A, Moysiadis T, Agorastos T. Low recurrence rate of high-grade cervical intraepithelial neoplasia after successful excision and routine colposcopy during follow-up. *Medicine*. 2018;97(4).
48. Fedewa SA, Sauer AG, Siegel RL, Jemal A. Prevalence of major risk factors and use of screening tests for cancer in the United States. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2015;24(4):637–52.
49. Demay R. Common problems in Papanicolau smear interpretation. *Arch Pathol Lab Med*. 1997;121(3):229–38.
50. Bouvard V, Wentzensen N, Mackie A, Berkhof J, Brotherton J, Giorgi-Rossi P, et al. The IARC Perspective on Cervical Cancer Screening. *New England Journal of Medicine*. 2021;385(20):1908–18.
51. Ogilvie G, Nakisige C, Huh WK, Mehrotra R, Franco EL, Jeronimo J. Optimizing secondary prevention of cervical cancer: Recent advances and future challenges. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. 2017;138:15–9.
52. Koliopoulos G, Nyaga V, Santesso N, Bryant A, Martin-Hirsch P, Mustafa R, et al. Cytology versus HPV testing for cervical cancer screening in the general population. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;8(CD008587).
53. Meijer CJLM, Berkhof J, Castle PE, Hesselink AT, Franco EL, Ronco G, et al. Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. *Int J Cancer*. 2009;124(3):516–20.
54. Scheurer ME, Tortolero-Luna G, Adler-Storthz K. Human papillomavirus infection: biology, epidemiology, and prevention. *Int J Gynecol Cancer*. 2005;15(5):727–46.
55. Hopman AHN, Kamps MA, Smedts F, Speel EJM, Herrington CS, Ramaekers FCS. HPV in situ hybridization: Impact of different protocols on the detection of integrated HPV. *Int J Cancer*. 2005;115(3):419–28.
56. Torné A, Ordi J, Puig-Tintoré LM, Jou P, Sánchez E, Muntané J, et al. The detection of papillomavirus by in situ hybridization. Clinico-pathological and virological correlation in patients with squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix. *Med Clin (Barc)*. 1997 ;109(18):691–5.
57. Organización Panamericana de la Salud. Incorporación de la prueba del virus del papiloma humano en programas de prevención de cáncer cervicouterino. Manual para gerentes de programas de salud. Organización Panamericana de la Salud. 2016.
58. Danmarys Hernández L, Jhon Cruz M, Quintero Vega M, Bastidas M, Puig Pons J. Diseño de un sistema de PCR para la detección del virus del papiloma humano mediante el uso de oligonucleótidos degenerados de la región E6. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 2012;72(4):249–54.
59. Mateos Lidenmann M, Pérez-Castro S, Pérez-Gracia M, Rodríguez-Iglesias M. Diagnóstico microbiológico de la infección por el virus del papiloma humano. *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC)*. 2016; 35(9):593-602.

60. Wright TC, Stoler MH, Behrens CM, Apple R, Derion T, Wright TL. The ATHENA human papillomavirus study: design, methods, and baseline results. *Am J Obstet Gynecol*. 2012;206(1):46.e1-46.e11.
61. Mateos-Lindemann ML, Pérez-Castro S, Rodríguez-Iglesias M, Pérez-Gracia MT. Diagnóstico microbiológico de la infección por virus del papiloma humano. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2017;35(9):593–602.
62. Bruno MT, Ferrara M, Fava V, Barrasso G, Panella MM. A prospective study of women with ASCUS or LSIL pap smears at baseline and HPV E6/E7 mRNA positive: a 3-year follow-up. *Epidemiol Infect*. 2018;146(5):612–8.
63. Discacciati MG, da Silva IDC, Villa LL, Reis L, Hayashi P, Costa MC, et al. Prognostic value of DNA and mRNA e6/e7 of human papillomavirus in the evolution of cervical intraepithelial neoplasia grade 2. *Biomark Insights*. 2014;9:15-22.
64. Castle PE, Reid J, Dockter J, Getman D. The reliability of high-risk human papillomavirus detection by Aptima HPV assay in women with ASC-US cytology. *J Clin Virol*. 2015;69:52–5.
65. Hariprasad R, Mittal S, Basu P. Role of colposcopy in the management of women with abnormal cytology. *Cytojournal*. 2022;19:40.
66. Prendiville W, Sankaranarayanan R. *Colposcopy and Treatment of Cervical Precancer*. Lyon (FR): International Agency for Research on Cancer; 2017.
67. Bornstein J, Bentley J, Bösze P, Girardi F, Haefner H, Menton M, et al. 2011 colposcopic terminology of the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy. *Obstetrics and gynecology*. 2012;120(1):166–72.
68. Sellors J, Sankaranarayanan R. *La colposcopia y el tratamiento de la neoplasia intraepitelial cervical: Manual para principiantes*. Washington, D.C.;2003.
69. Zhang W, Lin Y. Modified method of cervical conization with hybrid use of a cold knife and an electric knife for high-grade squamous intraepithelial lesions. *Journal of International Medical Research*. 2022;50(6):1–8.
70. Prendiville W, Davies R, Berry PJ. A low voltage diathermy loop for taking cervical biopsies: a qualitative comparison with punch biopsy forceps. *Br J Obstet Gynaeco*. 1986;93(7):773–6.
71. WHO. *Comprehensive Cervical Cancer Control. A guide to essential practice*. Second edition. World Health Organization, WHO.
72. Basu P, Taghavi K, Hu SY, Mogri S, Joshi S. Management of cervical premalignant lesions. *Curr Probl Cancer*. 2018;42(2):129–36.
73. Kyrgiou M, Athanasiou A, Paraskevaidi M, Mitra A, Kalliala I, Martin-Hirsch P, et al. Adverse obstetric outcomes after local treatment for cervical preinvasive and early invasive disease according to cone depth: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2016;354.
74. Athanasiou A, Veroniki AA, Efthimiou O, Kalliala I, Naci H, Bowden S, et al. Comparative effectiveness and risk of preterm birth of local treatments for cervical intraepithelial neoplasia and stage IA1 cervical cancer: a systematic review and network meta-analysis. *Lancet Oncol*. 2022;23(8):1097–108.

75. Martin-Hirsch PP, Paraskevaidis E, Bryant A, Dickinson HO, Keep SL. Surgery for cervical intraepithelial neoplasia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;(6).
76. Bjørnerem MS, Sørbye SW, Skjeldestad FE. Recurrent disease after treatment for cervical intraepithelial neoplasia-The importance of a flawless definition of residual disease and length of follow-up. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2020;248:44–9.
77. Alder S, Megyessi D, Sundström K, Östensson E, Mints M, Belkić K, et al. Incomplete excision of cervical intraepithelial neoplasia as a predictor of the risk of recurrent disease-a 16-year follow-up study. *Am J Obstet Gynecol.* 2020;222(2):172.e1-172.e12.
78. Ding T, Li L, Duan R, Chen Y, Yang B, Xi M. Risk factors analysis of recurrent disease after treatment with a loop electrosurgical excision procedure for high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Gynaecol Obstet.* 2022. doi: 10.1002/ijgo.14340.
79. Soutter W, Sasieni P, Panoskaltsis T. Long-term risk of invasive cervical cancer after treatment of squamous cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer.* 2006;118(8):2048–55.
80. Kocken M, Helmerhorst TJM, Berkhof J, Louwers JA, Nobbenhuis MAE, Bais AG, et al. Risk of recurrent high-grade cervical intraepithelial neoplasia after successful treatment: a long-term multi-cohort study. *Lancet Oncol.* 2011;12(5):441–50.
81. Kelly H, Jaafar I, Chung M, Michelow P, Greene S, Strickler H, et al. Diagnostic accuracy of cervical cancer screening strategies for high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN2+/CIN3+) among women living with HIV: A systematic review and meta-analysis. *EClinicalMedicine.* 2022;53:101645.
82. Zang L, Hu Y. Risk factors associated with HPV persistence after conization in high-grade squamous intraepithelial lesion. *Arch Gynecol Obstet.* 2021;304(6):1409–16.
83. Stokley S, Jeyarajah J, Yankey D, Cano M, Gee J, Roark J, et al. Human Papillomavirus Vaccination Coverage Among Adolescents, 2007–2013, and Postlicensure Vaccine Safety Monitoring, 2006–2014 — United States. *Morbidity and Mortality Weekly Report.* 2014;63(29):620.
84. Manini I, Montomoli E. Epidemiology and prevention of Human Papillomavirus. *Italy Ann Ig.* 2018;30:28–32.
85. Yadav R, Zhai L, Tumban E. Virus-like Particle-Based L2 Vaccines against HPVs: Where Are We Today? *Viruses.* 2019;12(1).
86. Vacunación frente al Virus del Papiloma Humano. Documento de consenso 2011 de Sociedades Científicas Españolas. 2011.
87. Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia. AEPCC guía: Vacunación selectiva frente al virus del papiloma humano en poblaciones de riesgo elevado. 2022. (Copyright@ AEPCC 2022).
88. Panwar K, Godi A, Cocuzza CE, Andrews N, Southern J, Turner P, et al. Binding antibody levels to vaccine (HPV6/11/16/18) and non-vaccine (HPV31/33/45/52/58) HPV antigens up to 7 years following immunization with either Cervarix® or Gardasil® vaccine. *Vaccine.* 2022;40(9):1198–202.

89. Godi A, Panwar K, Haque M, Cocuzza CE, Andrews N, Southern J, et al. Durability of the neutralizing antibody response to vaccine and non-vaccine HPV types 7 years following immunization with either Cervarix® or Gardasil® vaccine. *Vaccine*. 2019;37(18):2455–62.
90. Jentschke M, Kampers J, Becker J, Sibbertsen P, Hillemanns P. Prophylactic HPV vaccination after conization: A systematic review and meta-analysis. *Vaccine*. 2020;38(41):6402–9.
91. Arbyn M, Xu L, Simoens C, Martin-Hirsch PPL. Prophylactic vaccination against human papillomaviruses to prevent cervical cancer and its precursors. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;5(5).
92. Freire-Salinas J, Benito R, Azueta A, Gil J, Mendoza C, Nicolás M, et al. Genotype Distribution Change After Human Papillomavirus Vaccination in Two Autonomous Communities in Spain. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11.
93. Michalczyk K, Misiak M, Chudecka-Głaz A. Can Adjuvant HPV Vaccination Be Helpful in the Prevention of Persistent/Recurrent Cervical Dysplasia after Surgical Treatment?-A Literature Review. *Cancers (Basel)*. 2022;14(18).
94. Barra F, della Corte L, Noberasco G, Foreste V, Riemma G, di Filippo C, et al. Advances in therapeutic vaccines for treating human papillomavirus-related cervical intraepithelial neoplasia. *J Obstet Gynaecol Res*. 2020;46(7):989–1006.
95. Scott ME, Shvetsov YB, Thompson PJ, Hernandez BY, Zhu X, Wilkens LR, et al. Cervical cytokines and clearance of incident human papillomavirus infection: Hawaii HPV cohort study. *Int J Cancer*. 2013;133(5):1187–96.
96. Gilham C, Sargent A, Kitchener HC, Peto J. HPV testing compared with routine cytology in cervical screening: long-term follow-up of ARTISTIC RCT. *Health Technol Assess*. 2019;23(28):1–43.
97. Baskaran K, Kumar PK, Santha K, Sivakamasundari I. Cofactors and Their Association with Cancer of the Uterine Cervix in Women Infected with High-Risk Human Papillomavirus in South India. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2019;20(11):3415.
98. Guo Y, Wang Y, Peng Q, Li L, Zou M, Wang C, et al. Absence of high-grade cervical intraepithelial neoplasia in conization specimens from patients with colposcopic biopsy-confirmed high-grade cervical intraepithelial neoplasia: Retrospective study of 1695 cases. *Front Oncol*. 2022;12.
99. Sun L, Yang L, Liu X, Tang L, Zeng Q, Gao Y, et al. Optimization of Cervical Cancer Screening: A Stacking-Integrated Machine Learning Algorithm Based on Demographic, Behavioral, and Clinical Factors. *Front Oncol*. 2022;12:1.
100. Sierra-Torres CH, Tying SK, Au WW. Risk contribution of sexual behavior and cigarette smoking to cervical neoplasia. *Int J Gynecol Cancer*. 2003;13(5):617–25.
101. Puig-Tintoré LM, Castellsagué X, Torné A, de Sanjosé S, Cortés J, Roura E, et al. Coverage and factors associated with cervical cancer screening: results from the AFRODITA study: a population-based survey in Spain. *J Low Genit Tract Dis*. 2008;12(2):82–9.
102. Yang D, Zhang J, Cui X, Ma J, Wang C, Piao H. Risk Factors Associated With Human Papillomavirus Infection, Cervical Cancer, and Precancerous Lesions in Large-Scale Population Screening. *Front Microbiol*. 2022;13.

103. Liu ZC, Liu WD, Liu YH, Ye XH, Chen SD. Multiple Sexual Partners as a Potential Independent Risk Factor for Cervical Cancer: a Meta-analysis of Epidemiological Studies. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015;16(9):3893–900.
104. Pista A, de Oliveira CF, Cunha MJ, Paixao MT, Real O. Risk factors for human papillomavirus infection among women in Portugal: the CLEOPATRE Portugal Study. *Int J Gynaecol Obstet.* 2012;118(2):112–6.
105. Herrero R, Castle PE, Schiffman M, Bratti MC, Hildesheim A, Morales J, et al. Epidemiologic profile of type-specific human papillomavirus infection and cervical neoplasia in Guanacaste, Costa Rica. *J Infect Dis.* 2005;191(11):1796–807.
106. Renschmidt C, Kaufmann AM, Hagemann I, Vartazarova E, Wichmann O, Deleré Y. Risk factors for cervical human papillomavirus infection and high-grade intraepithelial lesion in women aged 20 to 31 years in Germany. *Int J Gynecol Cancer.* 2013;23(3):519–26.
107. Prokopczyk B, Cox JE, Hoffmann D, Waggoner SE. Identification of tobacco-specific carcinogen in the cervical mucus of smokers and nonsmokers. *J Natl Cancer Inst.* 1997;89(12):868–73.
108. White CM, Bakhiet S, Bates M, Ruttle C, Pilkington LJ, Keegan H, et al. Exposure to tobacco smoke measured by urinary nicotine metabolites increases risk of p16/Ki-67 co-expression and high-grade cervical neoplasia in HPV positive women: A two year prospective study. *Cancer Epidemiol.* 2020;68.
109. Xi LF, Koutsky LA, Castle PE, Edelstein ZR, Meyers C, Ho J, et al. Relationship between cigarette smoking and human papillomavirus type 16 and 18 DNA load.
110. Muñoz JP, Carrillo-Beltrán D, Aedo-Aguilera V, Calaf GM, León O, Maldonado E, et al. Tobacco Exposure Enhances Human Papillomavirus 16 Oncogene Expression via EGFR/PI3K/Akt/c-Jun Signaling Pathway in Cervical Cancer Cells. *Front Microbiol.* 2018;9.
111. Appleby P, Beral V, Berrington De González A, Colin D, Franceschi S, Goodill A, et al. Carcinoma of the cervix and tobacco smoking: Collaborative reanalysis of individual data on 13,541 women with carcinoma of the cervix and 23,017 women without carcinoma of the cervix from 23 epidemiological studies. *Int J Cancer.* 2006;118(6):1481–95
112. McIntyre-Seltman K, Castle PE, Guido R, Schiffman M, Wheeler CM. Smoking is a risk factor for cervical intraepithelial neoplasia grade 3 among oncogenic human papillomavirus DNA-positive women with equivocal or mildly abnormal cytology. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005;14(5):1165–70.
113. Kamani MO, Akgor U, Gültekin M. Review of the literature on combined oral contraceptives and cancer. *Ecanermedscience.* 2022;16.
114. Iversen L, Fielding S, Lidegaard Ø, Hannaford PC. Contemporary hormonal contraception and cervical cancer in women of reproductive age. *Int J Cancer.* 2021;149(4):769–77.
115. Xu H, Egger S, S Velentzis L, L O’Connell D, Banks E, Darlington-Brown J, et al. Hormonal contraceptive use and smoking as risk factors for high-grade cervical intraepithelial neoplasia in unvaccinated women aged 30–44 years: A case-control study in New South Wales, Australia. *Cancer Epidemiol.* 2018;55:162–9.

116. Anastasiou E, McCarthy KJ, Gollub EL, Ralph L, van de Wijgert JHHM, Jones HE. The relationship between hormonal contraception and cervical dysplasia/cancer controlling for human papillomavirus infection: A systematic review. *Contraception*. 2022;107:1–9.
117. Demarco M, Egemen D, Hyun N, Chen X, Moscicki AB, Cheung L, et al. Contribution of Etiologic Cofactors to CIN3+ Risk Among Women With Human Papillomavirus-Positive Screening Test Results. *J Low Genit Tract Dis*. 2022;26(2):127–34.
118. Condrat CE, Filip L, Gherghel M, Cretoiu D, Suciuc N. Maternal HPV Infection: Effects on Pregnancy Outcome. *Viruses*. 2021;13(12).
119. Muñoz N, Franceschi S, Bosetti C, Moreno V, Herrero R, Smith JS, et al. Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *Lancet*. 2002 Mar 30;359(9312):1093–101.
120. Coronado Martín PJ, Fasero Laiz M, Ramírez Mena M, Arab Eblen C, Bellón del Amo M, García Santos J, et al. La inmunosupresión es un factor mayor de riesgo en la recidiva de las lesiones del tracto genital inferior asociadas al virus del papiloma humano. *Progresos de Obstetricia y Ginecología*. 2010;53(5):179–88.
121. Clifford GM, Smith JS, Aguado T, Franceschi S. Comparison of HPV type distribution in high-grade cervical lesions and cervical cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer*. 2003;89(1):101.
122. Tjalma WA, Fiander A, Reich O, Powell N, Nowakowski AM, Kirschner B, et al. Differences in human papillomavirus type distribution in high-grade cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer in Europe. *Int J Cancer*. 2013;132(4):854–67.
123. Solé-Sedeno JM, Mancebo G, Miralpeix E, Lloveras B, Bellosillo B, Alameda F, et al. Utility of Human Papillomavirus Genotyping in the Management of Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesions. *J Low Genit Tract Dis*. 2018;22(1):13–6.
124. Ren H, Jia M, Zhao S, Li H, Fan S. Factors Correlated with the Accuracy of Colposcopy-Directed Biopsy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Invest Surg*. 2022;35(2):284–92.
125. Underwood M, Arbyn M, Parry-Smith W, de Bellis-Ayres S, Todd R, Redman CWE, et al. Accuracy of colposcopy-directed punch biopsies: a systematic review and meta-analysis. *BJOG*. 2012 Oct;119(11):1293–301
126. NHS Cervical Screening Programme Colposcopy and Programme Management. Third Edition. 2016.
127. Stuebs FA, Dietl AK, Behrens A, Adler W, Geppert C, Hartmann A, et al. Concordance Rate of Colposcopy in Detecting Cervical Intraepithelial Lesions. *Diagnostics*. 2022;12(10).
128. Hurtado-Roca Y, Becerra-Chauca N, Malca M. Efficacy and safety of cryotherapy, cold cone or thermocoagulation compared to LEEP as a therapy for cervical intraepithelial neoplasia: Systematic review. *Rev Saude Publica*. 2020;54.
129. Santesso N, Mustafa RA, Wiercioch W, Kehar R, Gandhi S, Chen Y, et al. Systematic reviews and meta-analyses of benefits and harms of cryotherapy, LEEP, and cold knife conization to treat cervical intraepithelial neoplasia. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*. 2016;132(3):266–71.

130. Zhang L, Sauvaget C, Mosquera I, Basu P. Efficacy, acceptability and safety of ablative versus excisional procedure in the treatment of histologically confirmed CIN2/3: A systematic review. *BJOG*. 2022. doi: 10.1111/1471-0528.17251.
131. Centeno C, Xercavins J. Técnicas de tratamiento de las lesiones intraepiteliales. *Patología del tracto genital inferior y colposcopia en España*. 2006;52–6.
132. Chen L, Liu L, Tao X, He Y, Zhang H, Zhou X, et al. Analysis of recurrence and its influencing factors in patients with cervical HSIL within 24 months after LEEP. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2019;54(8):534–40.
133. Miroshnichenko GG, Parva M, Holtz DO, Klemens JA, Dunton CJ. Interpretability of excisional biopsies of the cervix: cone biopsy and loop excision. *J Low Genit Tract Dis*. 2009;13(1):10–2.
134. Ge Y, Liu Y, Cheng Y, Liu Y. Predictors of recurrence in patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia after cervical conization. *Medicine*. 2021;100(27).
135. Srijarusith N, Rodpenpear N. The Appropriateness of Cone Depth in Loop Electrical Excision Procedure (LEEP) for Negative Pathological Margin from High Grade Precancerous Lesion of Cervix, Retrospective Study. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2022;23(2):659–64.
136. Giannella L, Delli Carpini G, di Giuseppe J, Gardella B, Bogani G, Monti E, et al. Should attention be paid to the cone depth in the fully visible transformation zone? Retrospective analysis of 517 patients with cervical intraepithelial neoplasia grade 3. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. 2022. doi: 10.1002/ijgo.14520.
137. Clarke MA, Unger ER, Zuna R, Nelson E, Darragh TM, Cremer M, et al. A Systematic Review of Tests for Postcolposcopy and Posttreatment Surveillance. *J Low Genit Tract Dis*. 2020;24(2):148–56.
138. Arbyn M, Redman CWE, Verdoodt F, Kyrgiou M, Tzafetas M, Ghaem-Maghami S, et al. Incomplete excision of cervical precancer as a predictor of treatment failure: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol*. 2017;18(12):1665–79.
139. Kechagias KS, Kalliala I, Bowden SJ, Athanasiou A, Paraskevaidi M, Paraskevaidis E, et al. Role of human papillomavirus (HPV) vaccination on HPV infection and recurrence of HPV related disease after local surgical treatment: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2022;378.
140. Eriksen DO, Jensen PT, Schroll JB, Hammer A. Human papillomavirus vaccination in women undergoing excisional treatment for cervical intraepithelial neoplasia and subsequent risk of recurrence: A systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2022 Jun 1;101(6):597–607.
141. Sand FL, Kjaer SK, Frederiksen K, Dehlendorff C. Risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or worse after conization in relation to HPV vaccination status. *Int J Cancer*. 2020;147(3):641–7.