

Agradecimientos

A Dios por darnos las ganas de seguir aprendiendo cada dfa m6s.

A la Dra. Andrea Marina Ortega, por su paciencia y exquisita conducci6n de la investigaci6n, dada su experiencia , y el apoyo constante en la culminaci6n de la misma.

A la A la Dra. Gladys Vazquez quien acogi6 la investigaci6n con entusiasmo desde el inicio, brindando su apoyo para lo que sea necesario del departamento de Ginecologfa y Obstetricia del Hospital Nacional de Itaugua

A la Profesora Doctora Ana Maria Soilan por su amplia experiencia y ardua labor en la docencia que nos inculca a continuar con el aprendizaje buscando la excelencia.

INDICE

| Contenido | Página |
|--------------------------------|---------------|
| Resumen..... | 3 |
| Pregunta de investigación..... | 4 |
| Objetivos..... | 5 |
| Introducción..... | 6 |
| Exposición del problema..... | 8 |
| Revisión de literaturas..... | 10 |
| Metodología..... | 26 |
| Variables..... | 27 |
| Asuntos estadísticas..... | 29 |
| Resultados..... | 30 |
| Discusión..... | 35 |
| Conclusión..... | 37 |
| Bibliografía..... | 38 |

RESUMEN

Con el objetivo de determinar los hallazgos colposcópicas en pacientes portadoras del virus del papiloma humano de tipos diferentes a 16 y 18, que

acudieron al departamento de patología cervical en el servicio de Gineco Obstetricia, se realizó un estudio observacional, descriptivo, prospectivo en el Hospital Nacional de Itaugua, donde se analizaron 149 pacientes a las que se le realizó la prueba de detección del VPH y se evaluó las características colposcópicas de aquellas a las que dio positivo para el tipo de virus diferente los de 16 y 18.

Resultados: De las 149 pacientes estudiadas dieron positivo al VHP 29 pacientes, de las cuales 19 de ellas fueron para los tipos diferentes a los del 16 y 18. Se determinó que solo 5 de ellas presentaron una colposcopia anormal y la imagen colposcópica que se halló con más frecuencia fue el epitelio acetoblanco y el puntillado fino.

Conclusiones: La imagen colposcópica anormal menor más frecuente fue el epitelio aceto blanco y el puntillado fino. La prevalencia de pacientes diagnosticadas con el virus del papiloma humano fue de 19,46%, de las cuales el 65,5%, fueron positivo para virus de tipos diferentes a los 16 y 28. La edad más prevalente de las pacientes fue menos a 40 años y el inicio de relaciones sexuales se dio con mayor frecuencia antes de los 20 años, entre todas las pacientes estudiadas solo una se conoció tabaquista.

Palabras clave: Virus del papiloma humano, Colpocoscopia y HPV, Imágenes colposcópicas menores

PREGUNTA DE INVESTIGACION

1. ¿Cuáles son los hallazgos colposcópicos en las pacientes que dieron positivo para el virus del papiloma humano de tipos diferentes a los de 16 y 18, que acudieron al servicio de patología cervical del Hospital Nacional de Itaugua atendidas entre mayo de 2017 y mayo de 2018?

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar los hallazgos colposcópicos en pacientes en las cuales se diagnosticó positivo para el virus de HPV de tipos diferentes a 16 y 18, en el departamento de patología cervical del servicio de Gineco obstetricia en el Hospital Nacional en el periodo mayo 2017 a mayo 2018.

Objetivos Específicos

1. Determinar la imagen colposcópica positiva más frecuente presente en las pacientes que consultaron en el servicio.
2. Determinar la prevalencia del virus del HPV en dichas pacientes atendidas.
3. Identificar los factores de riesgo prevalentes en las pacientes estudiadas.
4. Identificar edad prevalente en el momento del diagnóstico.

INTRODUCCION

El cáncer de cuello uterino es el resultado de una infección persistente por el virus papiloma humano (VPH), tiene una incidencia de 40 por 100.000 mujeres al año

en países en desarrollo y es una de las causas más frecuentes de muerte en mujeres en el mundo. Mientras América del sur y el suroccidente africano tienen una incidencia mayor de 20 por cada 100.000 mujeres por año, los países desarrollados de Europa occidental, América del Norte, Nueva Zelanda y Australia tienen una de 10 por 100.000. En Paraguay existe una tasa de incidencia de 34,2 por 100.000 mujeres y de mortalidad de 15,7 por 100.000 mujeres.¹

La infección persistente por el virus produce una lesión escamosa intraepitelial, en el cuello uterino, la cual varía de un crecimiento anormal mínimo (bajo grado), progresando en espesor hasta llegar a la capa más superficial del epitelio (alto grado). La actividad mitótica está confinada a la capa basal y a las capas celulares por encima de ella sin compromiso del estroma.²

Para ayudarnos a diagnosticar dichas lesiones contamos con la citología que es un método de laboratorio de descubrimiento, y también con la colposcopia, que es un método clínico; cada técnica valora aspectos distintos de las neoplasias. La citología valora cambios morfológicos de las células descamadas, mientras que la colposcopia valora los cambios en el patrón vascular subepitelial del cuello uterino. Existen diferentes técnicas para determinar la presencia del virus del HPV responsable de las lesiones post infección persistente.³

La sensibilidad de la citología está entre 30-60%, mientras que la de la detección molecular del Virus Papiloma Humano (VPH) en muestras cervicales, es mayor al 90% para detectar neoplasia intraepitelial cervical de grado 2 (CIN II) o más.³

En cuanto a la colposcopia su principal valor es localizar la lesión, valorar su extensión y permitir una biopsia dirigida a la zona más sospechosa, entre

sus desventajas se considera que es de adiestramiento difícil, no permite valorar lesiones endocervicales, utiliza un equipo costoso y su tiempo de ejecución es prolongado.³

Fueron identificados más de 120 genotipos del virus papiloma humano (VPH) y aproximadamente 40 infectan el tracto anogenital femenino y masculino. Han sido clasificados de acuerdo con el potencial para provocar cambios malignos en el epitelio cervical en VPH de alto riesgo (VPH-AR), como VPH-16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 y 59; VPH de probable alto riesgo (VPH-pAR) como VPH-26, 53, 66, 68, 73 y 82, y VPH de bajo riesgo (VPH-BR), como VPH-6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 y CP6108).⁴

La infección por VPH puede ser asintomática e inofensiva. El sistema inmune

combate la infección, que luego se resuelve por si misma, con diferentes tiempos

para lograr la resolución.^{5,6}

Por otro lado se desconoce si las infecciones persistentes por el VPH se caracterizan por una detección continua del virus, o por un estado de latencia viral durante el cual el virus no se detecta, para luego reaparecer más tarde.⁷ La distinción entre una infección persistente o transiente es arbitraria y depende tanto del tiempo del muestreo en relación con la historia natural de la infección y el intervalo entre muestras. Los estudios longitudinales muestran que las infecciones por VPH recurrentes no ofrecen evidencia de que el episodio recurrente se correlacione con la re-emergencia del mismo genotipo, pero la detección secuencial o concurrente de otros tipos de VPH es común. No existe aún evidencia de competencia entre los tipos de VPH, pero frecuentemente muestran un riesgo aumentado de adquisición de nuevos tipos de VPH las pacientes ya infectadas, comparadas con aquellas que habían sido VPH-negativas.⁸

MARCO TEORICO

Exposición del problema.

Según la Unión Internacional Contra el Cáncer, cada año se diagnostican en el mundo doce millones de personas y 7,6 millones mueren por esta enfermedad. Se calcula que en el 2030 habrá 26 millones de nuevos casos de cáncer y 17 millones de muertes, y el aumento será más rápido en los países con rentas bajas y medias. En América Latina y el Caribe, el cáncer es la segunda causa de muerte, y el índice de casos va en aumento. No obstante ser una enfermedad que afecta a los niveles socioeconómicos altos, en los de bajos recursos es opacada a menudo por las infecciones⁹.

El cáncer de cérvix representa el 10% de todas las neoplasias malignas diagnosticadas en mujeres, de las cuales el 50% mueren por esta causa. A pesar de que el cáncer es una enfermedad prevenible y curable a poco costo, y con un bajo riesgo cuando se desarrollan programas de prevención secundaria, estos han tenido poco o ningún éxito en la región.⁹

Es esta una patología reconocida por más de 50 años como una enfermedad ligada a la conducta sexual de la mujer o su pareja y que además se distribuye con una marcada inequidad al afectar desproporcionadamente a las mujeres de los estratos sociales más pobres y a las regiones más desfavorecidas económicamente; hasta el punto que las tasas de mortalidad por este cáncer son tres veces mayores en América Latina y el Caribe, que en Estados Unidos y Canadá.¹⁰ Las diferencias entre los países de la Región, para el periodo del 2.000 al 2.012, obtenidos de los informes de Globocan¹¹, muestran diferencias en las tasas estandarizadas x 100.000 mujeres de hasta cinco veces en la incidencia (Puerto Rico 9,73 Vs Bolivia 50,73) y de casi siete veces en la mortalidad (Puerto Rico 3,3 Vs Nicaragua 21,67). Estas diferencias no son necesariamente una consecuencia de variaciones en la conducta sexual de estas poblaciones, sino sobre todo a un desigual acceso a medidas de control.¹⁰

Considerando la alta prevalencia a nivel mundial y regional de la infección por el virus del HPV y lo que conlleva esa situación, es de suma importancia conocer la prevalencia de dicha patología en nuestro medio y aun mas en nuestro servicio, como también conocer la posible relación entre una infección y las imágenes detectadas con la colposcopia y de esa manera tener en cuenta dichos hallazgos colposcópicos a fin de que nos lleve a sospechar de una lesión intraepitelial y con ello mejorar la técnica de diagnostico, además de incentivar a las pacientes a concurrir a los controles respectivos, a orientarlas e informarlas sobre los posibles riesgos que podrían presentar una infección no detectada a largo plazo y en su respectivo caso tratar a las pacientes de manera a prevenir el cáncer de cuello uterino.

REVISION DE LITERATURAS

Tanto el diagnóstico como el tratamiento de la infección producida por el virus papiloma humano y el cáncer asociado a este virus, nos plantean uno de los mayores desafíos en la última década. Las principales dificultades

radican en la identificación del genotipo viral, la ausencia de una terapia antiviral efectiva y las altas tasas de recurrencia y persistencia a pesar de la terapia empleada.¹²

Estructura y clasificación del virus papiloma humano

El virus papiloma humano (VPH) es un virus de tamaño pequeño, no encapsulado, con una estructura icosaédrica y una doble cadena de ADN circular de 7.500 a 8.000 pb. Este virus pertenece a la familia de los *Papovaviridae*, incluida en el género *Papillomavirus*. Son parásitos especie-específicos, ampliamente distribuidos en la naturaleza e infectan tanto a aves como mamíferos. Usualmente, el resultado de la infección es la formación de un crecimiento benigno, verruga, o papiloma, ubicado en cualquier lugar del cuerpo.¹² Existe un gran interés en los VPH como causa de malignidad, particularmente en el cáncer cervical. Al menos 58 diferentes VPH han sido identificados usando técnicas moleculares, estableciendo su relación con tipos particulares de tumores. La replicación de los virus papiloma depende del grado de diferenciación de los queratinocitos; las partículas virales maduras sólo se detectan en los núcleos de los estratos granuloso y córneo. Los efectos cito-páticos que se observan en el epitelio, tales como la presencia de inclusiones intra-citoplasmáticas o nucleares, o la vacuolización peri-nuclear que caracteriza a las células coilocíticas, son secundarios a la interferencia ocasionada por el virus en la diferenciación de la célula huésped. Aún no se conoce cómo este virus tiene la capacidad de penetrar la piel intacta; se sospecha que los micro-traumas facilitan su acceso a las capas más profundas de piel y mucosas.¹³

CLASIFICACIÓN DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

A los virus del VPH se les ha dado un número para clasificarlos y se han dividido en dos grupos dependiendo de la posibilidad que tienen de que el sitio de la infección evolucione a lesiones cancerígenas.¹⁴

El VPH denominado de bajo riesgo (virus tipo 6 y 11, 40 42, 53, 54 y 57) porque rara vez produce cáncer; las lesiones causadas por este tipo de virus son llamadas condilomas o verrugas genitales, tienen el aspecto de una coliflor y se presentan en los órganos genitales de la mujer: vulva, uretra, cuello del útero, ano y los muslos. En el hombre pueden aparecer en el pene, el escroto, el ano, la ingle y los muslos.¹⁴

Figura 1.



Los tipos de VPH de bajo riesgo pueden causar cambios leves en el cuello del útero de una mujer. Estos cambios no conducen al cáncer, no son perjudiciales y desaparecen con el tiempo.¹⁴

El VPH denominado de alto riesgo u oncogénico (que desarrolla cáncer) son los virus tipos 16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 68 y 69 que causan tumores que por lo general son planos y casi invisibles y se encuentran asociados a los casos de cáncer en el cuello del útero.

- Las lesiones precancerosas le pueden dar un aspecto anormal a las células del cuello del útero sin ser cancerosas todavía PERO, las células precancerosas pueden convertirse en cáncer si las lesiones no son tratadas a tiempo.

Tanto los virus de alto riesgo como los de bajo riesgo pueden causar el crecimiento de células anormales, pero generalmente sólo los tipos de VPH de alto riesgo pueden conducir al cáncer. Las células cervicales anormales pueden detectarse cuando se realiza la “prueba Pap”, o Papanicolaou, durante un examen ginecológico¹⁴

Genoma y proteínas del virus

El genoma ha sido dividido en tres regiones principales: una región reguladora no codificante de aproximadamente 1 kb, la cual se denomina región larga de control (LCR, long control region); una región que incluye genes de expresión temprana, que dan origen a proteínas no estructurales y una región que contiene los genes de expresión tardía, que dan origen a dos proteínas estructurales. En total se encuentran 9 o 10 marcos de lectura abierta y en todos los papilomavirus están localizados en una sola de las hebras del ADN genómico (figura 1). La LCR contiene elementos de respuesta para factores de transcripción celulares, tales como AP1, SP1, Oct1, etcétera, así como para las proteínas virales E1 y E2, que controlan la replicación y la expresión del genoma viral. Particularmente, se ha determinado que el VPH 16 posee elementos conocidos como PE (o p97) y PL (o p670), que son promotores que regulan la expresión de genes tempranos y tardíos, respectivamente, así como la presencia de ARNm con modificaciones de corte y empalme (splicing) durante la diferenciación de las células epiteliales. Los marcos de lectura se agrupan en dos conjuntos denominados genes de expresión temprana (E, early) y genes de expresión tardía (L, late). En el primer grupo se encuentran E1, E2, E4, E5, E6 y E7, mientras que en el segundo se encuentran L1 y L2. En algunos

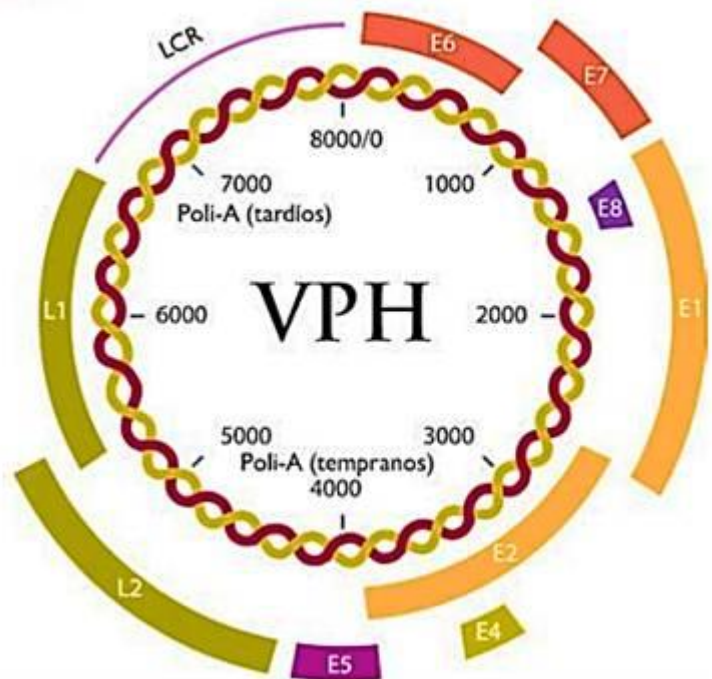
papilomavirus se pueden identificar dos marcos de lectura adicionales, denominados E3 y E8.¹⁵ Las proteínas codificadas en el genoma que forman parte de la estructura del virión son solo dos: L1 y L2. Las demás proteínas virales cumplen diferentes funciones durante el ciclo replicativo.¹⁵

Figura 2.

ORGANIZACIÓN DEL GENOMA DE VPH

El genoma del VPH es una molécula de ADN circular de doble cadena. Se divide en tres regiones: la región larga de control, LCR, que no contiene marco de lectura alguno; la región temprana, que contiene a los genes E1 a E8; y la región tardía que contiene a los genes L1 y L2, los cuales constituyen la cápside. Con el permiso de impresión y modificación por parte de Taylor & Francis Books (UK).

Fuente:
The Health's Professional's HPV HAND-BOOK, I: Human papillomavirus and cervical cancer. 2004. The European Consortium for Cervical Cancer education. Taylor & Francis Group



Replicación

El genoma se replica como un plásmido (episoma) nuclear multicopia.

Existen dos mecanismos que intervienen en la replicación.

a) Replicación plasmídica: en las células del estrato basal. Inicialmente el DNA viral es amplificado de unas 50 a 400 copias/genoma diploide. Luego de esto se replica una vez por cada división celular, la relación de copias por número de células permanece. La proteína E1 está involucrada en esta fase de la replicación.

b) Replicación vegetativa: tiene lugar en las células en diferenciación terminal (estratos espinoso y granuloso). En estas células se pierde el control del número de copias por célula y el DNA es amplificado en muy alto número (miles de copias por célula). Los virus luego son desprendidos de las células epiteliales cuando éstas se descaman y se transmite por contacto directo (verrugas genitales) o indirecto (verrugas vulgares)¹⁶

En la tabla 1 se describen las funciones de los productos de los genes de HPV.¹⁶

TABLA I

| FUNCIONES DE LOS PRODUCTOS DE GENES DE HPV. | |
|--|---|
| Abreviaturas: BPV (papilomavirus bovino), LCR (Long Control Region – Región Larga de Control), orf (open reading frame – marco abierto de lectura), kD (kilo Dalton). | |
| GEN | FUNCION |
| E1 | El orf E1 codifica una proteína de 68–76 kD esencial para la replicación plasmídica del DNA. El producto completo es una proteína nuclear fosforilada que se une al origen de replicación en el LCR del BPV1. Se ha visto que E1 une ATP e <i>in Vitro</i> se une la proteína E2 completa llamada el transactivador de transcripción de E2 (E2TA), por lo que incrementa la transcripción viral. La unión a E2 refuerza la afinidad de E1 por el origen de replicación del DNA. En HPV-16, E1 tiene efectos indirectos en la inmortalización de las células. Actúa tanto como una proteína de unión a DNA y subsecuentemente como helicasa para desenrollar el DNA hacia delante de la horquilla de replicación. |
| E2 | El orf E2 (de BPV-1) codifica tres proteínas las cuales regulan la transcripción y replicación del DNA viral. La proteína completa E2 de 40-58 kD, el transactivador de transcripción (E2TA), activa los promotores virales mediante la unión de elementos de respuesta facilitadores E2 (responsive enhancer elements). La función de esta proteína está reprimida (por unión competitiva) por otras dos proteínas E2, el represor transcripcional E2 (E2TR) y el represor transcripcional E8/E2 (E8/E2TR). En HPV-16 y HPV-18 la proteína E2 suprime los promotores a partir de los cuales se transcriben las proteínas transformadoras E6 y E7. Cuando el HPV-16 se integra en los cromosomas de las células huésped, la integridad de los orf E1 y E2 orfs son alterados, por lo que la represión normal de E6 y E7 se pierde, con la consecuente sobre-expresión de estas proteínas transformadoras. |
| E3 | Existe sólo en BPV1, BPV2, EEPV y BPV4. En todos ellos, con la excepción de BPV4, el orf se sobrepone a ambos E2 y E4, mientras que en BPV4 sobrepone E1. No se conoce si esta orf es traducida. |
| E4 | El orf E4 está completamente contenido dentro del orf E2. Generalmente no tiene codón de iniciación, y se expresa de transcriptos cortados. Los productos del gen E4 se encuentran primariamente en el citoplasma de queratinocitos superficiales, donde son extremadamente abundantes. En el genoma del HPV1, el gen E4 gene se expresa desde el promotor tardío P(L). |
| E5 | El orf E5 codifica una proteína transformadora celular. Es uno de los orf más pobremente conservados entre los Papilomavirus, y generalmente carece de codón de iniciación. El producto del gen E5 es la proteína transformadora más pequeña que se ha identificado. Puede causar también proliferación de los fibroblastos dérmicos en los fibropapilomas. |
| E6 | Codifica una proteína de transformación celular de 16–19 kD. El producto de este gen contiene cuatro motivos Cys–X–X–Cys, indicando una potencial unión de zinc; también puede actuar como proteína de unión a ácidos nucleicos. En los HPVs de alto riesgo como HPV-16, las proteínas E6 y E7 son necesarias y suficientes para inmortalizar a las células epiteliales escamosas huéspedes. El producto de este gen de alto riesgo forma un complejo p53, lo que promueve su degradación. |
| E7 | Codifica una proteína transformadora de 10–14 kD. El producto de este gen es una fosfoproteína nuclear ligadora de zinc, y que además se une a pRB, p107 y p130. |
| E8 | Este orf sólo está presente en los papilomavirus bovinos y en HPV6b. En BPV1, un producto de fusión de 28 kD E8/E2 está involucrado en la regulación transcripcional mediante la represión de la transcripción de E2. Los orfs E8 de BPV3, BPV4 y BPV6 parecen ser análogos a los del orf E6, los cuales no se hallan en estos tres PVs. |
| L1 | Codifica la proteína mayor de cápside de 56–60 kD. Está relativamente bien conservada entre todos los papilomavirus. El extremo carboxi terminal del producto del gen L1 es el sitio de dos señales de localización nuclear. |
| L2 | Codifica la proteína menor de cápside de 49–60 kD. |
| L3 | Aparece sólo en BPV4, DPV y HPV5b. No se sabe si es traducido. |
| L4 | Solamente aparece en BPV4. No se sabe si es traducido. |
| LCR | (Long Control Region) Región extensa de control – a veces se refiere como upstream regulatory region (URR) o region no codificante). Definida operativamente como la región desde la terminación del orf de L1 orf hasta la primer metionina del orf E6 (algunos autores usan el comienzo del orf E6); contiene varios motivos de regulación de transcripción y el origen de replicación. |

Fuente: Virus de papiloma humano. Revisión e indicaciones terapéuticas. Revista argentina de dermatología v.87 n.1 Ciudad Autónoma de Buenos Aires ene./mar. 2006

Patogénesis

El virus inicialmente se presenta como un elemento extra cromosómico autoreplicativo que se denomina episoma. En esta fase, la replicación del virus se hace sincrónicamente con la división de la célula del huésped, por lo que el número de las copias virales no se disminuye con el tiempo. La fase de incubación dura aproximadamente 6 semanas a 8 meses, período en el cual grandes zonas del epitelio genital y anal son colonizadas sin que ocurra manifestaciones clínicas ni histológicas; en este momento la infección es conocida como latente (replicación episomal viral). Esta infección puede progresar a una expresión activa (replicación viral productiva o vegetativa), con el efecto citopático viral concomitante, lo que representa la pérdida del control celular local; para esto se requiere la interacción con la célula huésped y su permiso, en interacción con el estado inmune del huésped y factores de riesgo, tales como infección por otros virus, comienzo de relaciones sexuales a temprana edad, uso de nicotina, tipo de HLA y genotipo del HPV. Salud Uninorte. Barranquilla (Col.), 19: 3-13, 2004 10. La inserción del genoma de HPV al genoma celular rompe una parte del gen E2, desde el cual sólo se transcribe el dominio activador de la transcripción desregulada de E6 y E7. este ADN integrado se replica durante cada mitosis celular, de tal modo que un contenido cromático aneuploide se desarrolla en la célula huésped y le da morfología displásica; en estos casos, la producción de ADN viral es mucho menor en infecciones vegetativas y los productos de genes tardíos casi nunca aparecen.¹⁷

Diagnostico de las infecciones por virus papiloma humano

Entre los métodos que se han desarrollado para el diagnóstico de las infecciones por VPH genital destacan:

- Ensayo en base a reacción de polimerasa en cadena (*PCR-based assay*-Amplicor VPH; Roche Diagnostic, Basel, Switzerland). Identifica a 30 genotipos, incluyendo 13 de alto riesgo u oncogénicos.
- Reacción de polimerasa en cadena y ADN/ARN viral mediante la prueba de captura de híbridos 2 (Hybrid capture® 2-HC2; Digene, Gathesburg, MD, E.U.A.). Prueba rápida en lote (menos de 2 horas) para detectar por lo menos 13 genotipos oncogénicos.
- El Programa para la Tecnología Apropriada para la Salud (PATH), en colaboración con Arbor Vita Corporation (E.U.A.), está desarrollando una segunda prueba, una tira de flujo lateral, para la detección de la proteína E6 en los tipos oncogénicos de VPH, en menos de 20 minutos.

El Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología ha entregado una guía para la utilización de estas técnicas y recomendaciones para la interpretación de resultados, en conjunto con resultados citopatológicos y tecnología en el diagnóstico celular¹⁸⁻¹⁹.

La prueba cobas® HPV, es un producto de diagnóstico in vitro con certificación CE, destinada para el cribado del cáncer de cuello uterino. El virus del papiloma humano (HPV) es una causa conocida del cáncer de cuello uterino, y su detección permite identificar a las mujeres en situación de riesgo. El cribado con dicha prueba, que identifica el ADN del HPV, detecta más lesiones cervicouterinas de alto grado que la prueba de Papanicolau (citología cervicovaginal) por sí sola. Identificar a las mujeres en situación de riesgo antes de que aparezca el cáncer o lesiones cervicouterinas precancerosas es una estrategia de prevención importante

que contribuye a mantener la eficiencia del cribado y a proteger a las mujeres de los posibles efectos nocivos de un sobretratamiento.

Las pruebas cobas para el HPV están clínicamente validadas para el cribado primario del HPV, el triaje para determinar la presencia de células escamosas atípicas de importancia no determinada (ASC-US) y el análisis combinado (HPV y citología cervicovaginal) en los sistemas cobas 4800 o cobas 6800/8800*. La prueba cobas HPV proporciona información específica sobre los genotipos 16 y 18 del HPV, los de mayor riesgo, a la vez que ofrece un resultado agrupado para los otros 12 genotipos de alto riesgo, todo ello en un mismo análisis realizado a partir de una única muestra obtenida de la paciente.

Modalidades terapéuticas

Existen modalidades de tratamiento para preservar la función reproductora y disminuir la morbilidad y son hechos fundamentales en el tratamiento de pacientes con lesión escamosa intraepitelial (LIE) que se dividen en lesión escamosa intraepitelial de bajo y alto grado, distinción indispensable por su evolución y significado clínico diferentes, porque las lesiones escamosas intra epiteliales de bajo grado deben vigilarse y actuar solamente cuando tienen más de 24 meses de persistencia, la mujer es mayor de 30 años y son causadas por un virus de alto riesgo oncogénico. Ninguna mujer con citología anormal debe tratarse sin un estudio colposcópico y toma de biopsia previa. Estos tratamientos pueden ser químicos, los que comprenden citotoxicidad inducida químicamente. Los tratamientos tópicos, como ácidos orgánicos, ácido tricloroacético y los antimetabolitos que comprenden al 5 fluoracilo y agentes antimicóticos como la podofilina- podofilotoxina; y los métodos ablativos que permiten la destrucción y escisión del tejido lesionado, como: crioterapia, electrocoagulación diatérmica, termo coagulación, vaporización con láser de CO₂, ASA diatérmica, conización con

bisturí e histerectomía (cuadro 1). También existen las vacunas terapéuticas (bivalentes y tetravalentes) así como los antivirales (aciclovir, vidaribina) y finalmente los inmunorreguladores como el interferon-alfa, imiquimod y ácido glicirricínico.²⁰

Cuadro 1. Formas terapéuticas para el tratamiento de la infección por virus del papiloma humano

| Ablación | Tópicos |
|------------------------------------|-----------------------|
| Crioterapia | Ácidos orgánicos |
| Electrocauterización | Ácido tricloroacético |
| Cono con electrocirugía | Ácido bicloroacético |
| Asa diatérmica | Antimetabolitos |
| Cono con láser CO2 | 5 - fluorouracilo |
| Fotovaporizador con láser CO2 | Agentes Antimicóticos |
| Cono de cuello uterino con bisturí | Podofilina |
| Podofilotoxina | |
| | Inmunorreguladores |
| | Imiquimod |
| | Interferon alfa |
| | Ácido glicirricínico |

LESIONES PREMALIGNAS DEL CUELLO UTERINO

En 1943, Papanicolaou fue el primero en clasificar los extendidos de manera más descriptiva, los clasificó en cinco tipos²¹:

- I. Ausencia de células anormales o atípicas.
- II. Citología atípica sin evidencia de malignidad.
- III. Citología sugestiva, pero no concluyente de malignidad.
- IV. Citología fuertemente sugestiva de malignidad.
- V. Citología concluyente de malignidad.

Ya en 1954, Reagan es quien introduce el término displasia como definición de lesión precursora. Divide este término en tres tipos: displasia leve, displasia moderada, displasia grave, y adicionalmente carcinoma in situ²².

En 1968, Richard crea el término neoplasia de neoplasia intraepitelial cervical y la clasifica en grado I que corresponde a displasia leve, grado II correspondiente a displasia moderada y grado III correspondiente a displasia grave y carcinoma in situ²³.

Luego de estas propuestas en 1988, el Instituto Nacional del Cáncer en Estados Unidos decidió convocar patólogos, citólogos y ginecólogos para el desarrollo de una terminología uniforme para la citología cervical²⁴. De esa manera nace el sistema Bethesda, que ha sido modificado posteriormente en 1999 y la última en abril-mayo del 2001²⁵.

En el siguiente cuadro se observa la correlación entre las terminologías.

| Cuadro 2.1: Correlación entre la terminología displasia/carcinoma <i>in situ</i> , NICy Bethesda | | | |
|--|---|-----------------------------|--|
| Terminología de displasia | Terminología NIC original | Terminología NIC modificada | Sistema Bethesda Terminología LIE (1991) |
| Normal | Normal | Normal | Dentro de los límites normales |
| Atipia | Atipia colocítica, condiloma plano, sin cambios epiteliales | NIC de bajo grado | Cambios celulares benignos (infección o reparación) ASCUS/AGUS L-LIE |
| Displasia o discariosis leve | NIC 1 | NIC de bajo grado | L-LIE |
| Displasia o discariosis moderada | NIC 2 | NIC de alto grado | H-LIE |
| Displasia o discariosis grave | NIC 3 | NIC de alto grado | H-LIE |
| Carcinoma <i>in situ</i> | NIC 3 | NIC de alto grado | H-LIE |
| Carcinoma invasor | Carcinoma invasor | Carcinoma invasor | Carcinoma invasor |

NIC: neoplasia intraepitelial cervical; L-LIE: lesión intraepitelial escamosa de bajo grado; (H-LIE): lesión escamosa intraepitelial de alto grado; ASCUS: Células escamosas atípicas de significado incierto; AGUS: Células glandulares atípicas de significado incierto.

Lesión Intraepitelial de Bajo Grado (LIEBG o LSIL). Con este nombre se agrupan a aquellas lesiones producidas por infecciones por VPH y las lesiones con atipia leve (NIC I)²⁶. En el Sistema Bethesda está consignado así debido a que la virología molecular de ambos tipos de lesiones es semejante y tienen características clínicas semejantes²⁷. La lesión se caracteriza por presentar células escamosas aisladas o en grupos poco cohesivos de células superficiales, maduras, con núcleos tres veces mayores que el núcleo de una célula intermedia, son hipercromáticas y con una cromatina irregular. Se puede observar también una irregularidad de la membrana nuclear, los nucléolos son pequeños o no están presentes²⁸.

Lesión Intraepitelial de Alto Grado (LIEAG o HSIL). Este tipo de lesión abarca a las lesiones epiteliales con displasia o conocidas como neoplasia intraepitelial cervical (NIC II y III), y carcinoma in situ, estas alteraciones se caracterizan por presentar alteración en su estructura epitelial con mayor o menos grado de maduración. Cuando hablamos de una displasia moderada o NIC II, se encuentra atipia comprometiendo los dos tercios inferiores del epitelio, con maduración y cambios virales en el tercio superior. Cuando hablamos de displasia severa se observa compromiso de todo el espesor del epitelio y atipia marcada, las células son voluminosas y se ven cambios virales superficiales. En el carcinoma in situ, se observa proliferación de células monomorfas pequeñas que reemplazan totalmente al epitelio sin cambios virales. Estas dos últimas abarcan el NIC III²⁷. En general, las características citológicas que podemos observar en esta lesión son células más pequeñas que las LIEBG que se disponen comúnmente de manera aislada, en placas no cohesivas o de manera más infrecuente en agregados de aspecto sincitial. El tamaño del núcleo es semejante a los LIEBG, aunque se observa aumento de la relación núcleo/citoplasma. El citoplasma es inmaduro y a veces de aspecto denso de aspecto metaplásico. El núcleo es hipercromático con una cromatina fina y groseramente granular. La membrana nuclear presenta irregularidades y el nucléolo no se observa²⁸.

LA COLPOSCOPIA

El colposcopio es una especie de microscopio o lente de aumento que permite visualizar a mayor tamaño los tejidos y que sirve para detectar lesiones tanto benignas como malignas a nivel de cuello, vagina, vulva, etc.²⁹

Literalmente, colposcopia significa "mirar dentro de la vagina" (colpo significa vagina, scopia significa mirar). La colposcopia fue inicialmente descrita por Hans Hinselman en Alemania en 1925. En ese tiempo, él esperaba crear una herramienta efectiva de diagnóstico para el cáncer cervical, una de las malignidades más comunes que afectaban a las mujeres de su época. Hinselman sospechaba que las lesiones endofíticas o exofíticas de la pelvis eran mayormente precursoras de carcinoma cervical, y esperaba que magnificando estos tejidos las lesiones precursoras podrían ser identificadas a tiempo, para permitir un tratamiento efectivo antes del desarrollo o la diseminación de una enfermedad invasiva. A pesar de sus esfuerzos, sus teorías sobre la génesis del cáncer cervical eran incorrectas, y su protocolo para la evaluación colposcópica era clínicamente impráctico, por lo cual la búsqueda de métodos alternativos de diagnóstico para el cáncer cervical siguió adelante.²⁹

A principios de los años 1940s, George Papanicolaou demostró el potencial del monitoreo citológico (el test Papanicolaou o Pap smear) para detectar condiciones malignas en la cervix. La colposcopia pasó a competir con el test de Papanicolaou en el diagnóstico de cáncer cervical. El Pap smear demostró su superioridad para fines de monitoreo y se volvió ampliamente aceptado como modalidad de primera línea para este propósito.²⁹

El colposcopio fue esencialmente olvidado hasta los 1960s, cuando fue redescubierto como un test complementario para mujeres con hallazgos citológicos anormales. Actualmente tiene aceptación casi universal como test de seguimiento para mujeres con presuntas lesiones cervicales con potencial malignizante.²⁹

El diagnóstico colposcópico de la neoplasia cervical requiere conocer y saber reconocer sus cuatro características principales: la tonalidad e intensidad del acetoblanqueo, los bordes y el contorno superficial de las zonas acetoblancas, el patrón vascular y la tinción de yodo. La colposcopia con biopsia dirigida se describe como el método de referencia o el patrón de oro para el diagnóstico de las lesiones cervicouterinas precancerosas (Singer y Monaghan, 2000). La sensibilidad de la colposcopia para diagnosticar la neoplasia cervical varía de un 87% a un 99%, pero su especificidad es inferior, se halla entre un 23% y un 87% (Mitchell et al., 1998; Belinson et al., 2001). La existencia de una sola característica anormal no constituye un indicador determinante de que exista una lesión; la coexistencia de características anormales en un área localizada de la zona de transformación aumenta la probabilidad de una lesión. Es obvio que se requiere una aptitud considerable para diferenciar entre las lesiones de bajo grado, la metaplasia escamosa inmadura y ciertas afecciones inflamatorias. Ante cualquier duda, se insta al principiante a obtener biopsias y a examinar los hallazgos histopatológicos con el anatomopatólogo. La estrecha colaboración con el patólogo es insoslayable y útil para acrecentar las propias aptitudes diagnósticas. Al final de este capítulo, se presenta un sistema que le permite al colposcopista calificar las anomalías. Este sistema es útil como base para seleccionar las zonas para la biopsia. Es esencial biopsiar las peores zonas, es decir, aquellas que presentan las características más graves en sus cambios.

Los hallazgos colposcópicos de una zona de transformación anormal o atípica pueden incluir la totalidad de la zona de transformación, pero por lo general solo afectan a una porción de ella y puede haber lesiones diferenciadas múltiples. Generalmente existe un límite neto entre el epitelio normal y el anormal.³⁰ Las características colposcópicas que permiten diferenciar una zona de transformación anormal de la normal son las siguientes: tonalidad de las zonas acetoblancas; patrón superficial de las zonas acetoblancas; límite

entre las zonas acetoblancas y el resto del epitelio; características vasculares y cambios cromáticos después de la lugolización.³⁰

Teniendo en cuenta la citología y utilizando la colposcopia como herramienta para diagnosticar lesiones a nivel del cuello uterino es posible llegar tempranamente a un diagnóstico certero como para tratar a tiempo dichas lesiones y de esa manera lograr prevenir correctamente el cáncer de cuello uterino.

METODOLOGÍA

➤ **Diseño de estudio**

Estudio observacional, descriptivo, prospectivo y de corte transversal

➤ **Población de estudio**

Pacientes que acudieron al departamento de patología cervical en el servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Nacional de Itaugua de mayo 2017 a mayo 2018.

➤ **Criterios de Inclusión:**

1. Pacientes sin test previo para HPV
2. Pacientes de 30 a 65 años de edad
3. Pacientes sin cirugía previa cervical

➤ **Criterios de exclusión:**

1. Pacientes gestantes
2. Pacientes que se negaron a realizar el test.

➤ **Muestreo**

Muestreo no probabilístico de casos consecutivos.

➤ **Reclutamiento**

Las pacientes fueron reclutadas considerando los criterios de inclusión, mediante entrevistas y previa autorización de las mismas, bajo un consentimiento informado, y también previa autorización del Departamento de Ginecología y Obstetricia del Hospital Nacional de Itaugua.

➤ **Variables**

Variable de interés: Presencia de imágenes colposcópica positivas en pacientes quienes se diagnosticó el virus HPV diferente a los tipos 16 y 18.: variable cualitativa nominal.

Otras variables:

- Edad: variable cuantitativa discreta.
- Procedencia: cualitativa nominal.
- Edad de inicio de relaciones sexuales
- Número de parejas sexuales
- Tabaquista o no.

DEFINICIÓN OPERACIONAL DE LAS VARIABLES:

Imágenes colposcópicas positivas

- 1) Epitelio Aceto blanco: El epitelio acetoblanco es una zona anormal en la mucosa del cuello del útero que se identifica con la aplicación de una solución de ácido acético (por ello se llama epitelio acetoblanco), señala la necesidad de tomar una muestra de la zona para su análisis histológico (biopsia), pero en ningún caso realiza por sí solo un diagnóstico.
- 2) Base o puntillado fino: Su nombre es debido a la observación con el colposcopio de una zona constituida por pequeños puntos rojos en el cuello uterino. La terminología “base” se originó cuando los primeros investigadores encontraban este puntillado después de desprender del cuello algunas manchas blancas (leucoplasias). De ahí surgió el nombre “base de leucoplasia” que se sintetizó en “BASE”.
- 3) Mosaico: Alteración en la distribución de los vasos sanguíneos que se distribuyen en forma de 'mosaico o empedrado'. Estas imágenes pueden asociarse a lesiones epiteliales de bajo grado en caso de mosaicos finos o de alto grado cuando los vasos tienen un calibre grueso.
- 4) Vasos Atípicos: Los vasos estromales aparecen irregulares, dilatados, de curso abrupto en forma de sacacorchos, horquilla, tirabuzón o espiral, con interrupciones bruscas o áreas lacunares. Constituyen un signo de agravamiento de las lesiones intraepiteliales, pues la progresión a cáncer microinvasivo requiere la expresión de factores angiogénicos.³¹

INSTRUMENTO DE MEDICIÓN:

- 1) Historia clínica (cuestionario de de autorización)
- 2) Resultados del test de Cobas HPV (PCR viral)
- 3) Colposcopia realizadas a las pacientes.

ASUNTOS ESTADISTICOS

-**Tamaño de muestra:** para una proporción esperada de infección por el VPH de un 25%, una amplitud total del intervalo de confianza de 0.15 y un nivel de confianza del 95% el tamaño de muestra es de 149 pacientes.

-**Gestión de datos:** se registraron en una ficha técnica de recolección de datos, transcritas en una base de datos en Excel, se utilizará la estadística descriptiva para el estudio de las variables. Los resultados se expresaran en porcentaje para las variables cualitativas y cuantitativas.

➤ **Asuntos Éticos**

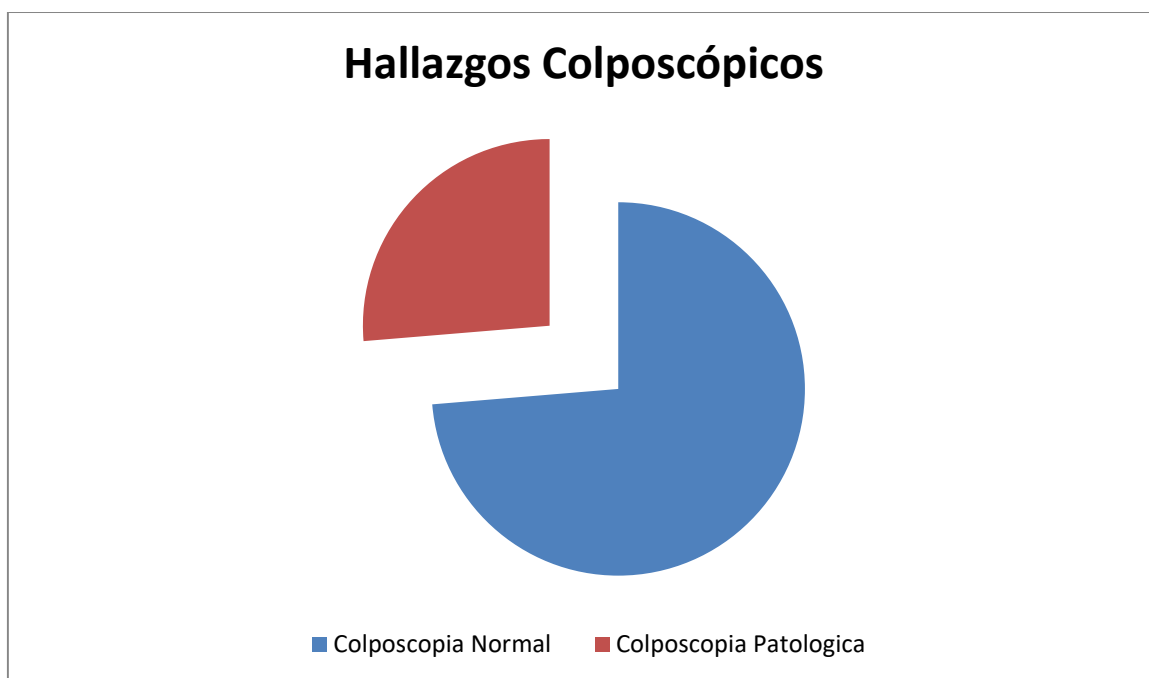
Se respetaran los 3 principios de bioética: confidencialidad, respeto y justicia.

RESULTADOS DE LA INVESTIGACION

Se estudiaron pacientes que consultaron en el departamento de patología cervical del servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Nacional Itaugua, durante un periodo desde mayo de 2017 hasta mayo de 2018, a las cuales se les practicó el test para determinar la presencia del virus del papiloma humano, mediante la prueba "Cobas VPH".

Los hallazgos colposcópicos en pacientes que dieron positivo para el virus del papiloma humano para tipos diferentes del 16 y 18, se constató que 14 pacientes (74%) presentaron colposcopias normales, mientras que en 5 pacientes (26%) la colposcopia demostró imágenes patológicas.

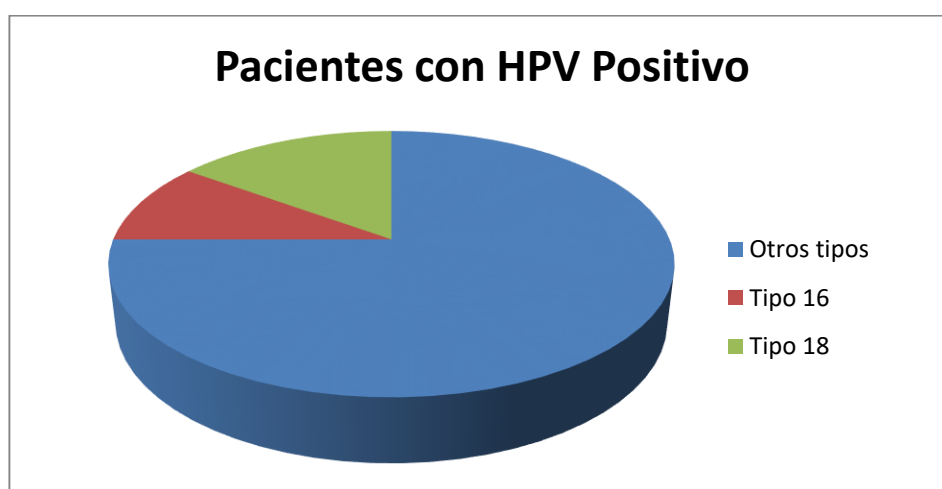
Grafico 1. Colposcopias en pacientes con VPH positivo a otros tipos (n=19)



La población total, o sea la cantidad de pacientes que fueron estudiadas en dicho servicio durante ese periodo fue de 149 pacientes, la prevalencia del virus fue de 19,46 por ciento, lo que corresponde a 29 pacientes.

Del total de pacientes diagnosticadas con el virus del papiloma humano, 4 de ellas (13,8%) dieron positivas para el tipo 16; 6 pacientes (20.7%) corresponden a virus del tipo 18, mientras que las demás pacientes, 19 (65.5%), dieron positivo para virus de tipos diferentes a los del 16 y 18.

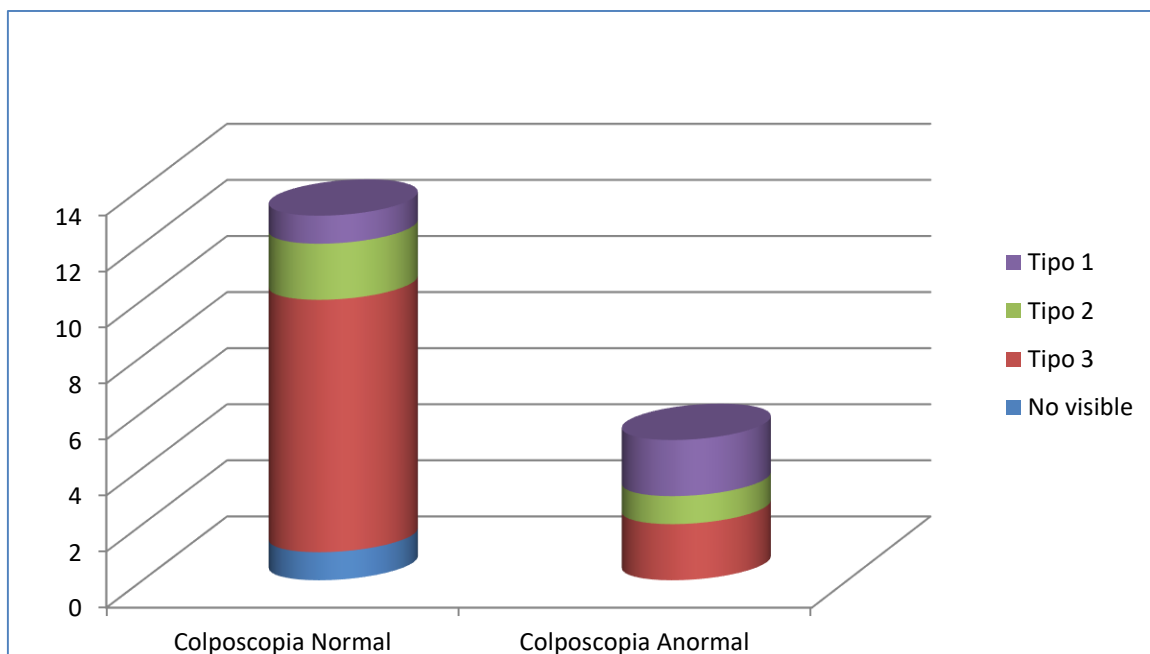
Grafico 2. Tipos de virus del HPV (n=149)



Entre las pacientes que presentaron colposcopia normal (14 pacientes) se constato que la zona de transformación fue del tipo 3 en diez de ellas, en dos pacientes la zona de transformacion fue de tipo 2 y en una paciente fue del tipo 1. Además en una paciente, la zona de transformación fue no visible.

Mientras tanto, entre las pacientes donde se constató hallazgos colposcópicos anormales, en dos pacientes la zona de transformación fue del tipo 1, en otras dos pacientes fue del tipo 3 y en una paciente fue del tipo 1.

Gráfico 3. Relación entre la zona de transformación y las colposcopias normales y anormales



Con respecto a las imágenes colposcópica anormales que se hallaron (5 pacientes) cabe destacar que fueron hallazgos menores, entre los que se describen el epitelio aceto-blanco (EAB) tenue y el puntillado fino. El EAB se observó en 4 pacientes como así también el puntillado, ambas imágenes se observaron juntas en tres colposcopias, mientras que en una paciente se presentó aisladamente el EAB y en otra el puntillado.

Tabla 1. Hallazgos de imágenes colposcópicas anormales.

| | Epitelio Acetoblanco | Puntillado fino |
|------------|----------------------|-----------------|
| Paciente 1 | X | X |
| Paciente 2 | X | X |
| Paciente 3 | X | X |
| Paciente 4 | X | |
| Paciente 5 | | X |

En cuanto a las características de dichos hallazgos anormales, podemos determinar que en 4 pacientes (80%) las imágenes se encontraban ubicadas

dentro de la zona de transformación abarcando entre 5 y el 10% del cérvix (3 de las cuales presentaron juntas el puntillado y el EAB) y solo 1 (20%) por fuera.

Se encontró que la imagen anormal ocupó solo 1 cuadrante en 3 pacientes (60%), en 1 paciente (20%) la imagen ocupó dos cuadrantes y en 1 paciente (20%) ocupó tres cuadrantes del cérvix.

Tabla 2. Características de las imágenes colposcópicas anormales.

| Pacientes | ZT | % del cérvix | Cuadrantes |
|-----------|--------|--------------|------------|
| 1 | Dentro | 5-10 | 1 |
| 2 | Dentro | 5-10 | 1 |
| 3 | Dentro | 5-10 | 1 |
| 4 | Dentro | 20 | 2 |
| 5 | Fuera | 60 | 3 |

Se les realizó un legrado endo cervical a 14 pacientes estudiadas, de las cuales se registró un resultado negativo en 12 pacientes; 1 de ellas presentó una lesión intraepitelial de bajo grado y las 1 restantes presentaron lesión intraepitelial grado 2.

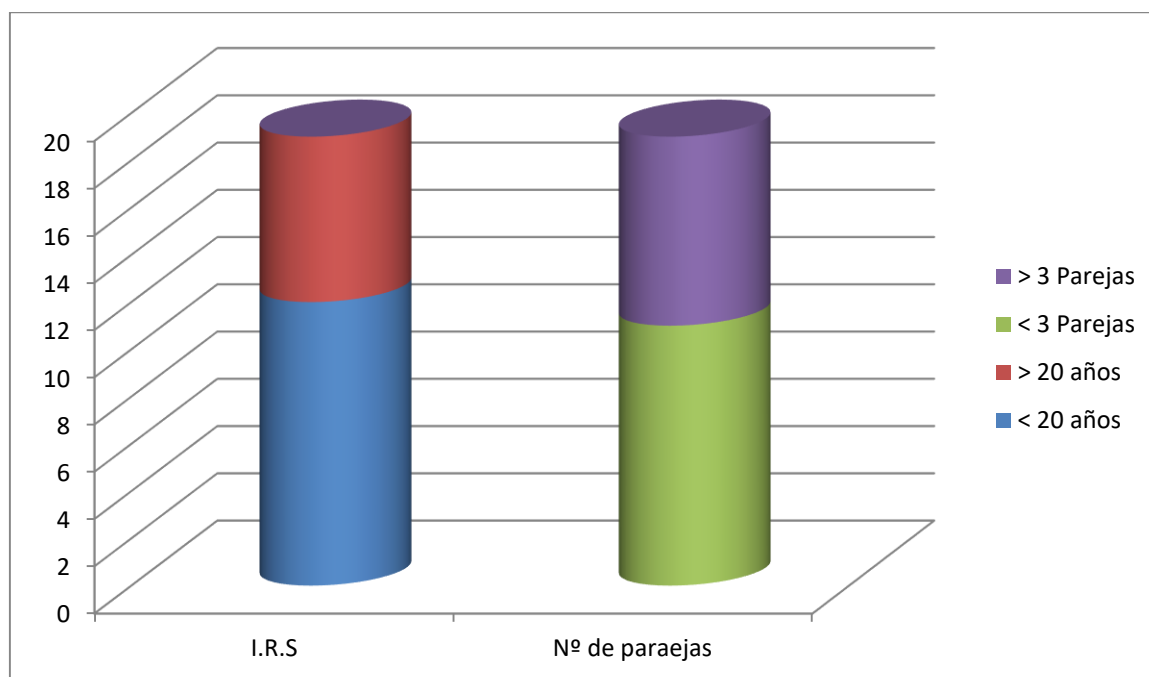
En cuanto a la edad de las pacientes encontramos que 7 (36,8%) de ellas se encuentran entre 30-35 años, 3 (15,8%) pacientes tienen de 36-40 años; entre 41 a 45 años se encuentran 6 pacientes (31,6%) y otras 3 pacientes están en rango de 46 a 50 años. Observamos que la procedencia más prevalente entre las pacientes estudiadas es el interior del país, 11 pacientes (57,9%) y 8 (42,1%) pacientes acudieron del departamento central.

Tabla 3. Franja etaria de las pacientes estudiadas.

| Edad en años | 30-35 | 36-40 | 41-45 | 45 o más |
|--------------|-------|-------|-------|----------|
| Pacientes | 7 | 3 | 6 | 3 |

Según la edad del inicio de las relaciones sexuales hemos encontrado que 12 pacientes las iniciaron antes de los 20 años (63,2%) mientras que 7 pacientes lo hicieron después de cumplida esa edad. Teniendo en cuenta el número de parejas sexuales que han tenido las pacientes, observamos que 11 (58%) de ellas tuvieron menos de 3 parejas y 8 pacientes (42%) tuvieron 3 o más, además se observó que solo un paciente es tabaquista.

Gráfico 4. Inicio de relaciones sexuales y número de parejas en las pacientes estudiadas.



DISCUSION

El Paraguay es un país con alta incidencia de lesiones pre-neoplásicas y cancer de cuello uterino, por lo que constituye un problema de salud pública.

En un esfuerzo por aumentar las capacidades de detección/diagnóstico de VPH a nivel nacional, se implemento el uso del sistema *Cobas 4800 HPV Test* (Roche Diagnostics, Alemania).

En un trabajo realizado en Ushuaia Argentina en 2006 por Sijvarger y col³¹ se encontró una prevalencia del 26%, aproximada a la registrada en nuestro trabajo, en el cual se analizaron 149 pacientes y la prevalencia del 19,46%.

La mayoría de las pacientes estudiadas presentaron una colposcopia normal y solo 5 de las 19 pacientes estudiadas, fueron en las que se encontró una colposcopia alterada y en esas colposcopias alteradas lo que se hallo fueron hallazgos menores, Epitelio aceto blanco (EAB) y Puntillado Fino.

En estudios realizado por Correnti y col.³³ en diciembre del 2002, del ministerio de salud pública de Venezuela, se encontró también que fue el epitelio acetoblanco la imagen colposcopia anormal que se hallo con mayor frecuencia.

Se realizó legrado endocervicales a 14 pacientes, de los cuales dieron negativo a 12 pacientes, una dio positivo a una lesión intraepitelial de bajo grado y otra dio positivo a lesión intraepitelial de alto grado, en comparación realizado por Araujo E y col.³⁴ en junio de 2010 cuyo resultado en controversia al nuestro por ser un porcentaje superior a alto riesgo.³⁴

En cuanto a la edad en mayor porcentaje de infección en mujeres en menores de 40 años de edad, que se relaciona con el inicio de relaciones sexuales a temprana edad. Dato similar se encontró en estudio realizado por Araujo E y col.³⁴ donde también la edad en porcentaje es menores a 40 años.

CONCLUSIONES

1. Las imágenes colposcópicas anormales mas prevalentes halladas en este estudio fueron el epitelio aceto blanco tenue y puntillado fino.
2. La prevalencia del VPH de alto riesgo diferentes a los tipos 16 y 18, fue de 65,5%, 19 pacientes.
3. La prevalencia de infección del virus del papiloma humano de alto riesgo en pacientes durante el periodo de estudio fue de 19,46 %, 29 pacientes de un total de 149 estudiadas.
4. Existen mayor numero de colposcopias normales (14 pacientes) que aquellas en donde se observo imágenes anormales de cambios menores (5 pacientes).
5. Pacientes del interior del país, menores a 40 años y con inicio de vida sexual menor a 20 años fueron las de mayor prevalencia a la infección.
6. En cuanto al tabaquismo como factor de riesgo, se observo en solo 1 paciente estudiada.

BIBLIOGRAFIA

1. Carlos H. Pérez MD, Miryam P. de Amaya, Astrid C. López MD, Adriana Delgado MD, Silvia M. Plata MD. Frecuencia del virus del papiloma humano en atipia de células escamosas de significado indeterminado. *Repertorio de Medicina y Cirugía*. Vol 23 N° 4 • 2014
2. Bobadilla ML, Zorrilla ME, Villagra V, Olmedo G, Roscher G, Franco F, Riveros MC, Gómez ME, Llamosas F. Detección molecular del virus papiloma humano de alto riesgo oncogénico en muestras cervicales. Laboratorio Central de Salud Pública. Primeros Resultados. *Memorias del Instituto de Investigación de Ciencias de la Salud*. Vol.13 no.1 Asunción abr. 2015.
[http://dx.doi.org/10.18004/Mem.iics/1812-9528/2015.013\(01\)17-023](http://dx.doi.org/10.18004/Mem.iics/1812-9528/2015.013(01)17-023)
3. Carlos Panzeri. *Patologías del tracto genital inferior. Prevención, diagnóstico y tratamientos*. 1ra Edición. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Ascune Hnos. 2014.
4. Dailard C. HPV in the United States and Developing Nations: A Problem Of Public Health or Politics? *The Guttmacher Report on public policy*. 2003 Aug; 6(3):Disponibile en: <http://www.guttmacher.org/pubs/tgr/06/3/gr060304.html>
5. Syrjanen S, Shabalova I, Petrovichev N, Podistov J, Ivanchenko O, Zakharenko S, Nerovjna R, et al. Age-specific incidence and clearance of high-risk human papillomavirus infections in women in the former Soviet Union. *Int J STD AIDS*. 2005 Mar;16(3):217-23. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15835076>

6. Winer RL, Kiviat NB, Hughes JP, Adam DE, Lee SK, Kuypers JM, Koutsky LA. Development and duration of human papillomavirus lesions, after initial infection. *J Infect Dis.* 2005 Mar 1; 191(5):731-8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15688287>
7. Denis F, Hanz S, Alain S. Clearance, persistence and recurrence of HPV infection. *Gynecol Obstet Fertil.* 2008 Apr; 36(4):430-40. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18417407>
8. Nalo Martínez, MD. Estado actual del cáncer cervical en América Latina. *Revista El Hospital.* Setiembre 2010. www.elhospital.com/.../Estado-actual-del-cancer-cervical-en-America-Latina+807946...
9. Luis G. Capote Negrin. Epidemiología del Cáncer de Cuello Uterino en América Latina. <https://ecancer.org/.../9/.../577-es-epidemiology-of-cervical-cancer-in-latin-america>
10. Red Española de Registros de Cáncer. http://www.iacr.com.fr/index.php?option=com_content&view=article&id=101&Itemid=578.
11. Marcela Concha R. Diagnóstico y terapia del virus papiloma humano. *Rev. chil. infectol.* v.24 n.3 Santiago jun. 2007. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182007000300006>
12. Gerardo Santos-López, a Luis Márquez-Domínguez, a Julio Reyes-Leyva, a Verónica Vallejo-Ruiza. Aspectos generales de la estructura, la clasificación y la replicación del virus del papiloma humano. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2015;53 Supl 2:S166
13. Virus del Papiloma Humano. Diagnóstico, prevención e información completa para hombres y mujeres. www.papiloma.org

14. Taylor & Francis Group. The European Consortium for cervical cancer education. The Health's Professional's HPV HAND-BOOK/ Human Papiloma and cervical cancer. 2004.
15. L Squiguera. Virus de papiloma humano. Revisión e indicaciones terapéuticas. Rev. argent. dermatol. v.87 n.1 Ciudad Autónoma de Buenos Aires ene./mar. 2006
16. Consuegra Mayor C; Campo D; Egea E; Garavito G. El virus del papiloma humano (HPV), agente viral importante precursor de la mayoría de las displasias o cáncer cervical. Salud Uninorte. Barranquilla Colombia, 19 edición: 3-13, 2004
17. Kenneth A A. Diagnosis and management of human papillomavirus infections. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24: 1007-8.
18. Frazer I H, Cox J T, Mayeaux E J Jr, Franco E L, Moscicki A B, Palefsky J M, et al. Advances in prevention of cervical cancer and other human papillomavirus-related diseases. *Pediatric Infect Dis J* 2006; 25: S65-S81.
19. Pacheco A., Hernández M., Hernández T., Zárate A. Terapéutica en infección por virus del papiloma humano. *Ginecol Obstet Mex* 2012;80(11):712-719
20. Maguire NC. Current use of the Papanicolaou system in gynecologic cytology. *Diagn Cytopathol* 1988; 4: 169-76.

21. Reagan. The cellular morphology of carcinoma in situ, dysplasia and atypical hyperplasia of the uterine cervix. Cancer, Philad 6th, 224. 1953.
22. Richart RM. Cervical Intraepithelial Neoplasia: a review. En: Sommers SL (ed). Pathology Annual. Appleton-Century- Croft. East Morwalk: 301-28, 1973.
23. NCI. National Cancer Institute Workshop: the 1998 Bethesda system for reporting cervical vaginal cytologic diagnosis. JAMA 1989; 262: 931-4.
24. Tatti SA. Colposcopia y patologías del tracto genital inferior. 1ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2008.
25. The Bethesda Committee: The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Diagnosis. New York: Springer-Verlag NY Inc.; 1994.
26. DeMay RM. The Art & Science of Cytopathology. Chicago: ASCP Press: 1996. Ch 6. The Pao smear. Pp. 61-205.
27. Rodríguez J, Sáez de Santamaría J, Vázquez D. Cuadernos de Citopatología. España: Editorial Diaz de Santos; 2006.
28. GINECOLASER - Colposcopia. ginecolaser.com/old/colposcopia.html. 2011

29. J.W. Sellors & R. Sankaranarayanan. La colposcopia y el tratamiento de la neoplasia intraepitelial cervical: Manual para principiantes. International Agency for Research of Cáncer. World Health Organization. Washington, D.C.: OPS, © 2003.
30. Díaz M. Colposcopia, lo que todo ginecólogo debería ser capaz de ver. Servicio de Obstetricia y Ginecología Hospital Universitario Virgen de las Nieves Granada. 2011
31. C. C. Sijvarger, J. V. González, A. Prieto, A. G. Messmer, M. C. Mallimaci, V. L. Alonio, A. R. Teyssié, M. A. Picconi. Epidemiología de la infección cervical por virus Papiloma humano en Ushuaia, Argentina. Rev. argent. microbiol. v.38 n.1 Ciudad Autónoma de Buenos Aires ene./mar. 2006
32. Correnti M, Cavazza ME, Lozada C, Alfonso B. La infección por el VPH: Un Problema de Salud Pública en Venezuela. VITAE N° 13. p 1–10. Octubre – diciembre, 2002. <http://caibco.ucv.ve/Vitae/VitaeTrece/Portada/homevitae>
33. Araujo E, Barroso S, Cendon A, Muñoz M, Ortunio M, Cardozo R, Guevara H. Infección por virus de papiloma humano en mujeres: hallazgos paraclínicos. Revista Obstetrica Ginecologica Venezuela v 70 n 2 Caracas junio. 2010