

Infección por virus papiloma humano en pacientes con células escamosas atípicas de un programa de pesquisa de cáncer cervical

Drs. Mercedes López de Sánchez*, Guillén Ferraro Morella*, Militza Quintero Vega**, Jhon Cruz Gómez**, Juan Puig Pons**, Morelva Toro de Méndez*

*Grupo de Investigaciones Citológicas, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida. Venezuela. **LABIOMEX. Facultad de Medicina. Universidad de Los Andes, Mérida. Venezuela.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la frecuencia de la infección por virus del papiloma humano en pacientes con células escamosas atípicas de un programa de pesquisa de cáncer de cuello uterino.

Ambiente: Laboratorio Asistencial "Lic. Celina Sánchez Rincón y Laboratorio de Biología y Medicina Experimental LABIOMEX. Universidad de Los Andes. Mérida, Estado Mérida.

Métodos: Estudio prospectivo y descriptivo que incluyó las pacientes vistas entre marzo de 2006 y diciembre de 2009. Se tomaron muestras para evaluación citológica y detección del virus papiloma humano, mediante la metodología molecular PCR-RFLP a pacientes de pesquisa de cáncer cervical.

Resultados: Se estudiaron 2 805 pacientes seleccionándose las que presentaron informe citológico de células escamosas con atipias de significado indeterminado y con atipias que no excluyen lesión intraepitelial escamosa de alto grado. Del total de mujeres evaluadas por citología, 121 (4,31 %) tenían informe de anomalías en células epiteliales. Las células escamosas atípicas se encontraron en 58 (2,06 %) citologías, 52 (1,85 %) eran células escamosas con atipias de significado indeterminado y 6 (0,21 %) eran células escamosas con atipias que no excluyen lesión intraepitelial de alto grado. La prevalencia general de la infección por virus del papiloma humano fue de 32/58 (53,4 %). Los virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico se encontraron en 10/58 (17,2 %) de los casos, la mayoría en el grupo etario de 21-30 años. No se pudo determinar el tipo viral en un 16/58(27,5 %) de las muestras.

Conclusiones: Se observó una elevada prevalencia de virus del papiloma humano en pacientes con informe citológico de células escamosas atípicas.

Palabras clave: Células escamosas atípicas. Células escamosas con atipias de significado indeterminado. Células escamosas con atipias que no excluyen lesión intraepitelial de alto grado. PCR-RFLP. Citología cervical. Virus papiloma humano.

SUMMARY

Objective: To evaluate the frequency of human papillomavirus infection in patients with atypical squamous cells of a cervical cancer detection program.

Method: Between March 2006 to December 2009, specimens for cervical smears and human papillomavirus molecular detection by PCR-RFLP were taken from the patients attended at the cervical cancer clinic prevention.

Setting: Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Laboratorio Asistencial "Lic. Celina Sánchez Rincón y Facultad de Ciencias, Laboratorio de Biología y Medicina Experimental LABIOMEX. Universidad de Los Andes. Mérida, Estado Mérida, Venezuela.

Results: A total of 2 805 patients were evaluated, those with atypical squamous cells of undetermined significance and atypical squamous cells that cannot exclude a high intraepithelial lesion were chosen. Abnormalities in epithelial cells were found in 4,31 %. Atypical squamous cells were found in 58 (2,06 %) of the cases, 1,85 % were atypical squamous cells of undetermined significance and 0,21 % were atypical squamous cells that cannot exclude a high intraepithelial lesion. The overall prevalence of human

Financiamiento.

Este proyecto fue financiado parcialmente por el FONACIT (proyecto N° 2005000180)

papillomavirus infection was 32/58 (53,4 %). High risk human papillomavirus was found in 10/58 (17,2 %) of the patients, most of them between 21 and 30 years old. Human papillomavirus could not be determined in 16/58 (27,5 %) of the cases.

Conclusions: It was observed a high frequency of human papillomavirus in patients with atypical squamous cells in their cervical smears.

Key words: Cytology. Atypical squamous cells. Atypical squamous cells of undetermined significance. Atypical squamous cells that cannot exclude a high intraepithelial lesion. PCR-RFLP. Cervical smear. Human papillomavirus.

INTRODUCCIÓN

Las células escamosas atípicas (ASC) son las anomalías celulares más comúnmente reportadas en la citología del cuello uterino, con una frecuencia que varía entre el 1 % y el 9 % entre laboratorios (1-6).

El sistema Bethesda 2001 ha subdividido las células con atipias en dos categorías: células escamosas con atipias de significado a determinar y células escamosas con atipias que no excluyen una lesión intraepitelial escamosa de alto grado (ASC-US y ASC-H, respectivamente). *Las células escamosas con atipias de significado indeterminado* muestran alteraciones morfológicas sugestivas de una lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (LIEBG) pero que cualitativa y/o cualitativamente son insuficientes para una interpretación definitiva, mientras que *las células escamosas con atipias que no excluyen una lesión intraepitelial de alto grado* engloban aquellos casos con algunas pero no todas las características citológicas de una lesión intraepitelial escamosa de alto grado (LIEAG) (4,7,8).

Las alteraciones celulares correspondientes a las ASC-US se aprecian en células epiteliales maduras, de tipo intermedio o superficial y en una buena proporción podrían estar asociadas a la infección por virus papiloma humano (VPH) (7,9).

En las ASC-H las alteraciones celulares se describen en células profundas e inmaduras de tipo metaplásicas y tienen un elevado valor predictivo positivo para lesión intraepitelial de alto grado (4,7,10-12). El término citológico de células escamosas atípicas fue establecido para incluir las muestras que definitivamente no pueden ser categorizadas como dentro de los límites normales ni tampoco dentro de las lesiones intraepiteliales escamosas (13,14).

El frotis citológico de cuello uterino o Papanicolaou es una herramienta utilizada para el diagnóstico precoz de las alteraciones citológicas que pudieran evolucionar a cáncer y ha sido considerado el método de pesquisa estándar a nivel mundial, por su sencillez y bajo costo. No obstante, este procedimiento tiene

sus limitaciones y es por ello que se han implementado técnicas complementarias para mejorar las estrategias de pesquisa de las lesiones premalignas y malignas cervicales (5).

Aproximadamente 50 millones de mujeres se realizan una prueba de Papanicolaou anualmente en el mundo y el 7 % de estas pacientes tienen informes citológicos de una anomalía en cuello uterino (5,15).

El VPH es el agente causal de casi todos los casos de cáncer cervical, la segunda causa más prevalente entre las neoplasias malignas de las mujeres a nivel mundial. Quince tipos de VPH de alto riesgo (VPHAR) se han implicado en la carcinogénesis cervical, de los cuales los tipos VPH 16 y VPH 18 son los más frecuentemente detectados, tanto en el cáncer invasor como en las (LIEAG) (16,17).

La prevalencia de la infección por HPV a nivel mundial se estima en un rango que oscila entre el 2 % y 44 %. La amplia variación geográfica podría deberse a diversos factores, pero los más citados se le atribuyen a las diferentes características de la población estudiada y a la sensibilidad del método de detección viral (15,18).

En Sur América se estima que alrededor del 13,2 % de las mujeres albergan infección por VPH y el 67,7 % de los cánceres son atribuidos a los tipos VPH 16 y 18 (19). Los datos de prevalencia de infección por VPH en Venezuela muestran un amplio rango, que abarca desde el 23 % hasta el 98 %. Estos estudios se llevaron a cabo en pacientes con diferentes características epidemiológicas, lesiones cervicales heterogéneas y diversas metodologías para la detección del HPV, tanto morfológicas como moleculares (20-25).

En la actualidad, las técnicas de biología molecular permiten realizar el diagnóstico de la infección por VPH, basándose en el análisis de secuencias de ADN viral mediante diferentes metodologías, que incluyen la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la captura de híbridos, entre otras. Las pruebas

moleculares informan que la prevalencia de los HR-HPV aumenta con la severidad de las anomalías en células epiteliales, observándose 10,9 % en pacientes con citologías normales, 30,8 % en ASC, 63,2 % en LSIL y 83,0 % en HSIL (5,24). En pacientes con células escamosas atípicas, la detección del ADN del VPH varía del 31 % al 75 % (15,25,26).

El objetivo de este estudio fue evaluar la frecuencia de la infección por HPV en pacientes con células escamosas atípicas de un programa de pesquisa de cáncer de cuello uterino, en el Laboratorio Asistencial "Dra. Celina Sánchez Rincón y Laboratorio de Biología y Medicina Experimental LABIOMEX. ULA, Mérida.

MÉTODOS

Estudio prospectivo, descriptivo y epidemiológico. Durante el período comprendido entre marzo de 2006 y diciembre de 2009 se evaluaron las citologías provenientes de las pacientes que acudieron a la consulta de pesquisa de cáncer de cuello uterino atendidas por el programa Misión Barrio Adentro en la población rural de Tabay, Estado Mérida. Para este estudio se eligieron las pacientes con informe citológico de células escamosas con atipias de significado indeterminado (ASC-US) y con atipias que no excluyen lesión intraepitelial escamosa de alto grado (ASC-H). A toda la población estudiada se le realizó la detección molecular de VPH.

Procedimiento

Las muestras de cuello uterino para pesquisa de cáncer fueron tomadas de forma convencional utilizando espátula de Ayre y cepillo endocervical, luego fijadas con cytofix y posteriormente coloreadas con la técnica de Papanicolaou. El análisis e informe citológico se llevó a cabo considerando los criterios establecidos por el sistema Bethesda 2001. Los criterios morfológicos de ASC-US considerados fueron: células escamosas maduras con núcleo aumentado de tamaño de 2,5 a 3 veces el tamaño del núcleo de una célula intermedia normal, relación núcleo/citoplasma ligeramente aumentada, hiperromasia nuclear, así como leve variación en la distribución de la cromatina y en la forma nuclear; células de paraqueratosis con anomalías nucleares. Para los casos con ASC-H, cuando las alteraciones fueron observadas en células pequeñas e inmaduras de tipo metaplásicas, dispuestas en forma aislada o en grupos, con núcleo de 1,5 a 2 veces el tamaño de una célula metaplásica normal, con un

incremento de la relación núcleo/citoplasma (28).

Para la detección y tipificación del VPH se tomaron muestras de cuello uterino con hisopo, las cuales se procesaron para extraer el ADN mediante el método clásico de precipitación con fenol-cloroformo (29) con algunas modificaciones. Brevemente, a los hisopados/cepillados, se les añadió solución salina al 0,8 % y se incubó por 2 horas a 37 °C y luego se retiró el hisopo o cepillo cervical. Después de centrifugar a alta velocidad, al paquete celular se le añadió 400 µL de tampón de extracción (Tris-HCl 0,2 M pH 8; EDTA 0,025 M; NaCl 0,1 M; y SDS 0,2 %), proteinasa K 0,2 mg (20 mg/mL) y 20 µL de SDS 10 %. Se incubó toda la noche a 55 °C. Posteriormente se añadió 100 µL de Chelex-100 al 5 % y se calentó por 10 minutos a 95 °C (30). A continuación se añadió un volumen de fenol-cloroformo-isoamilalcohol (24:23:1) y se agitó en vórtex, a la fase acuosa separada se le añadieron dos volúmenes de etanol absoluto y 0,2 volúmenes de acetato de amonio 10 M. Se dejó precipitar el ADN por 48 horas a -20 °C, y se procedió a centrifugar para bajar el precipitado. El ADN se resuspendió en 50 µL de tampón TE 10 mM pH 8. Las muestras de ADN fueron sometidas a una PCR que amplifica un fragmento del gen de la beta-globina, para determinar la calidad del ADN (31, 32). Para la PCR de detección de VPH, se utilizó el protocolo propuesto por Manos y col. (33) con algunas modificaciones. Se utilizaron 3 a 5 µL de la preparación de ADN. La mezcla de reacción consistió de tampón de PCR 1X, 5,5 mM de MgCl₂, 200 µM de dNTP's, 50 picomoles de cada uno de los iniciadores MY09/MY11 y 2,5 U de Taq Polimerasa (Invitrogen). La reacción se sometió a amplificación utilizando un termociclador PTC-100 MJ Researchs con el siguiente programa: 1 min a 94 °C, 30 s a 55 °C y 1 min a 72 °C. Los amplificados fueron sometidos a análisis de restricción con las enzimas endonucleasas DdeI, RsaI, PstI, y HindfI. La mezcla consistió de: 10 µL del amplificado, 2 unidades de enzima, tampón de reacción 1X y agua estéril para un volumen final de 20 µL. La mezcla se incubó por 1 hora a 37 °C y se inactivó la enzima por calentamiento a 65 °C por un minuto. Para visualizar el patrón de bandas digeridas, 5 µL del digerido se sometió a electroforesis en gel de agarosa 2,5 % en tampón TBE 1X. El patrón fue comparado contra patrones de digestión conocidos para su identificación (34).

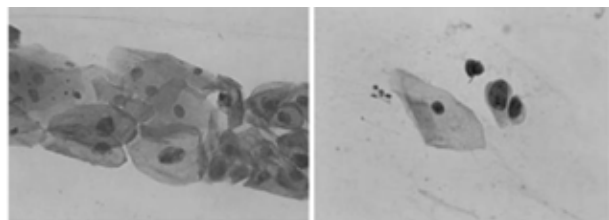
Los datos fueron analizados con el programa SPSS versión 17,0 para la determinación de proporciones absolutas y porcentuales.

RESULTADOS

Entre marzo de 2006 y diciembre de 2009 se procesaron 2 805 muestras citológicas del cuello uterino. Las pacientes se encontraban en el rango de edad comprendido entre 14 y 60 años, con una media de 34 años \pm 11,5.

Del total de citologías procesadas, 121(4,31 %) fueron categorizadas como anomalías en células epiteliales, de las cuales 58 (2,06 %) se clasificaron como células escamosas atípicas; 52 (1,85 %) eran ASC-US y 6 (0,21 %) ASC-H. La Figura 1 muestra algunos de los criterios morfológicos considerados en la interpretación de células con atipias.

En la Figura 2 se presenta la distribución de las pacientes con células atípicas por grupos etarios. Dos de los 58 casos no incluyeron el dato de la edad. La mayor proporción de pacientes con atipias citológicas se encontró en el grupo de 21 a 30 años, seguido del grupo de 41 a 50 años



A

B

Figura 1. Células escamosas atípicas: A. Células intermedias con atipias de origen a determinar (ASC-US). 40X. Coloración de Papanicolaou. B. Células escamosas inmaduras con atipias que no descartan lesión intraepitelial de alto grado (ASC-H). 40X. Coloración de Papanicolaou.

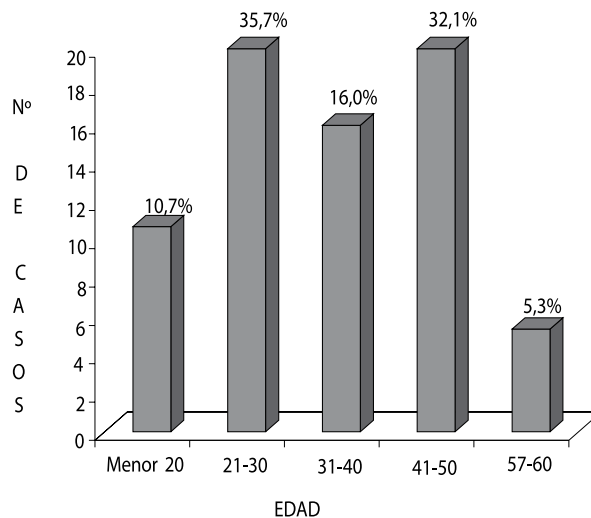


Figura 2. Distribución de las pacientes con células atípicas por grupos etarios.

En el Cuadro 1, se resumen los resultados de la detección molecular de VPH en las pacientes con citología atípica. La prevalencia general de la infección viral fue de 53,4 % (32/58). En los casos con ASC-US la prevalencia de ADN viral fue de 57,7 % (30/52) y en las ASC-H fue de 33,4 % (2/6). Del total de citologías con informe de células escamosas atípicas, el 17,2 % (10/58) contenía VPH-AR, en 27,5 % (16/58) de los casos no se pudo determinar el tipo de VPH. El 46,6 % de las pacientes con atipias celulares no tenía infección viral.

La detección de VPH en las pacientes con resultados citológicos atípicos distribuidas por grupos de edad se observa en el Cuadro 2. La mayor proporción de pacientes con infección por VPH y citología atípica se encontraba entre los 21 y 30 años (13/ 56) de los cuales, el 30 % eran HR-VPH.

Cuadro 1

Resultados de la detección molecular del VPH en las pacientes con citología atípica.

Citología	VPH-BR	VPH-AR	VPH no determinado	Negativo	Total
ASC-US	6(11,5 %)	9(17,3 %)	15(28,9 %)	22(42,3 %)	52
ASC-H	-	1(16,7 %)	1(16,7 %)	4(26,6 %)	6
Total	6 (10,3 %)	10 (17,2 %)	16 (27,5 %)	26 (46,6 %)	58

VPH-BR: virus papiloma humano de bajo riesgo. VPH-AR: virus papiloma humano de alto riesgo. ASC-US: células escamosas con atipias de significado indeterminado. ASC-H: células escamosas con atipias que no excluyen lesión intraepitelial de alto grado.

INFECCIÓN POR VIRUS PAPILOMA HUMANO

Cuadro 2

Detección molecular de HPV por grupos de edad en pacientes con células escamosas atípicas

Grupos de edad	VPH-BR	VPH-AR	VPH no determinado	Negativo	Total
< 20 años	-	1(16,7 %)	3(50 %)	2(33,3 %)	6
21-30 años	3(15 %)	6(30 %)	4(20 %)	7(35 %)	20
31-40 años	1(11,1 %)	2(22,2 %)	2(22,2 %)	4(44,4 %)	9
41-50 años	1(11,1 %)	1(5,6 %)	5(27,7 %)	11(61,1 %)	18
51-60 años	-	-	1(33,3 %)	2(33,3 %)	3

VPH-BR: virus papiloma humano de bajo riesgo. VPH-AR: virus papiloma humano de alto riesgo.

DISCUSIÓN

El cáncer de cuello uterino es una de las neoplasias malignas más común a nivel mundial; en Venezuela constituyó la primera causa de mortalidad femenina por cáncer, provocando la muerte de aproximadamente 1 300 pacientes cada año (35,36).

La infección por VPH de alto riesgo oncogénico es el principal factor de riesgo para el desarrollo de cáncer de cuello uterino y de sus lesiones precursoras (16,37). Es considerada la infección de transmisión sexual más común a nivel mundial y al menos el 50 % de los individuos sexualmente activos la adquieren en algún momento de sus vidas. La mayoría de los casos son de carácter transitorio; para la transformación maligna es necesaria la persistencia de la infección por VPH AR (38).

Un informe citológico de atipias en células escamosas del cuello uterino es sugestivo pero no concluyente de infección por VPH, de lesión intraepitelial escamosa alto grado y rara vez, de cáncer invasor. Por lo que, esta interpretación no representa una entidad definida, pero podría ser la única manifestación citológica de una lesión clínicamente significativa (15,39).

En un estudio realizado en Taiwan por Cheng y col. (40) se observó que las mujeres de mayor edad tienen un mayor riesgo de desarrollar cáncer invasor, cuando se compara con las más jóvenes de una población no pesquisada y coincide con lo hallado por Cheung y col. (13), en que las mujeres menores de 30 años con ASC-US no padecen cáncer invasor.

Aunque el riesgo de cáncer invasor en mujeres jóvenes con ASC es bajo, del 5 % al 17 % de las pacientes con ASC-US y 24 % a 94 % de aquellas con ASC-H tienen una lesión intraepitelial escamosa

en la biopsia (41). Es por ello que se enfatiza en la importancia de informar la presencia de las células escamosas atípicas y realizar estudios de seguimiento a estas pacientes (14).

Este estudio se llevó a cabo para evaluar la frecuencia de la infección por VPH en pacientes con células escamosas atípicas en un programa de pesquisa de cáncer de cuello uterino. La prevalencia general de células escamosas atípicas, así como de ASC-US y ASC-H varía entre los diferentes estudios realizados. En esta investigación se obtuvo un porcentaje igual a 2,06 %, 1,85 % y 0,21 %, respectivamente. Estos porcentajes son semejantes a los hallados en un programa de pesquisa en la India, en el que fueron incluidas 29 475 mujeres y cuyos hallazgos fueron de 3,6 %, 3,36 % y 0,22 %, respectivamente (42). Asimismo, en Turquía se evaluó la prevalencia de las anomalías cervicales por citología en 140 334 pacientes que acudieron a centros de salud, observando 1,8 %, 1,07 % y 0,07 % de estas anomalías (43). A pesar de las diferencias socioculturales, de las características de los programas de pesquisa implementados y de la prevalencia de VPH de estas regiones, no existen discrepancias significativas en la frecuencia de ASC y las sub categorías de atipias.

Otras investigaciones han reportado cifras de frecuencia general de ASC de 5,9 %, 6,2 % y 4,3 % (3,44,45) siendo más elevadas que las observadas en esta investigación, probablemente debido a que en su estudio incluyeron los casos de ASC-US a favor reactivo, como había sido contemplado por el sistema Bethesda 1991, cambios que en la actualidad son incluidos en la categoría de negativo para lesión intraepitelial o malignidad (7).

La detección de VPH sola o combinada con la citología ha sido evaluada en el estudio de pacientes

con informe citológico de células escamosas atípicas; varios autores han informado que el porcentaje de positividad para VPH en citologías interpretadas como ASC podría mostrar una variación de 31 % a 66 % (6,15,46,47). En esta investigación se detectó ADN de VPH en el 53,4 % de las pacientes con este informe citológico, comparable a lo reportado en la literatura. Este valor se inclina hacia el rango más alto, indicando una elevada prevalencia, lo que a su vez coincide con la alta tasa de incidencia de cáncer cervical en este medio.

En este estudio, el 55,7 % de las pacientes con ASC-US resultaron positivas para VPH. Otras investigaciones han informado presencia de HPV en el 40,8 % (48) y en el 56 % del estudio de Shiffman y Solomon (49), pudiendo influir en la variabilidad de frecuencias, el tipo de población estudiada y la metodología empleada para la detección del VPH.

El 46,6 % de los casos de ASC fueron negativos para VPH, por lo que es necesario evaluar y seguir a estas pacientes VPH negativas, para aclarar el origen de estas atipias celulares y determinar si se trata de una sobrevaloración de reacciones celulares asociadas a inflamación, reparación o deficiencias nutricionales en este medio rural o si son verdaderas atipias.

Como en la mayoría de las investigaciones, la mayor proporción de casos de citología atípica correspondió a las ASC-US, siendo una minoría las del tipo ASC-H: 6 (0,21 %) del total de frotis cervicales. La interpretación citológica de ASC-H constituye un hallazgo poco frecuente en la práctica diaria, no mayor al 1 % (50-53). La importancia clínica de este hallazgo citológico radica en que entre el 24 % y 94.% de las pacientes podrían tener una LIEAG en la biopsia de seguimiento (10,11,39,50,52,54).

En este estudio, solo 2/6 casos de ASC-H (33,4 %) resultaron VPH positivos. La detección de VPH en pacientes con ASC-H puede variar entre el 33,3 % y 83,6 % (8). Los casos VPH negativos, es probable se deban al tipo de población que se estudió, a que la técnica molecular utilizada no detecta el tipo viral involucrado o a que este se encuentra en un bajo número de copias. Se requiere de futuras investigaciones para determinar si estos casos son falsos negativos para VPH o hubo una sobreinterpretación citológica de ASC-H, siendo conveniente la inclusión de seguimiento histopatológico combinado con la detección del virus. Algunos investigadores señalan que una interpretación citológica de ASC-H y VPH negativo es considerado un excelente indicador de ausencia de LIEAG (55,56) lo que permitiría definir el manejo clínico de estas pacientes, especialmente

las menores de 40 años (53).

La distribución de los tipos de VPH de acuerdo a la edad de las pacientes en este estudio fue más común en el grupo de jóvenes menores de 30 años, comparada con las de mayor edad, lo cual coincide con lo reportado por Evans y col. (57). De igual manera en el mismo grupo etario se presentó un mayor número de VPH-AR al igual que lo encontrado por Levy y col. (58). Por otra parte, Nobre y col. (59), observaron que a medida que aumenta la edad de las pacientes, disminuye el número de casos con VPH-AR, similar a los hallazgos de este trabajo.

En el grupo etario de 41 a 50 años, se observó también un mayor número de casos que no presentaron ADN de VPH, coincidiendo con lo encontrado por Steinman y col. (60), cuyos resultados señalan que la edad media de las pacientes con citología atípica y VPH-AR es aproximadamente 11 años más jóvenes que el grupo VPH negativo.

En este estudio, en un elevado porcentaje de citologías atípicas (27,5 %) no se pudo determinar el tipo de VPH. Algunos investigadores resolvieron la interrogante del VPH involucrado aplicando otro método de tipificación como el análisis de secuenciación de nucleótidos, hibridación en tira (LiPA) o PCR con posterior hibridación dot-blot, PCR con cebadores específicos (59,61,62). En sucesivas investigaciones se determinará el tipo viral específico en la serie de pacientes de este estudio, a fin de que sean considerados para futuras estrategias tanto de prevención como de seguimiento.

En conclusión, la prevalencia de VPH en las pacientes con células escamosas atípicas es elevada y es por ello que los estudios de ADN de VPH juegan un papel importante en las pacientes con estos resultados citológicos, para identificar cuales tienen un mayor riesgo de desarrollar lesión intraepitelial escamosa y cáncer cervical.

Estos resultados aportan datos útiles que podrían contribuir en la prevención del cáncer de cuello uterino y sus lesiones precursoras. El alto porcentaje de VPH no determinado constituye una limitante que debe resolverse en futuros estudios. Se debe realizar control citológico y detección de VPH para observar la evolución de los casos con atipias celulares y aplicar una conducta clínica oportuna, especialmente en aquellas pacientes VPH-AR positivas. La incorporación de las pruebas moleculares en las pacientes con atipias celulares cervicales es urgente en este medio.

Agradecimientos

A los médicos que participaron en la toma de muestra, a todo el personal profesional, técnico y administrativo de la Cátedra de Citología y de LABIOMEX. A las pacientes que voluntariamente participaron en este estudio.

REFERENCIAS

1. Davey D, Naryshkin S, Nilsen M, Kline T. Atypical squamous cells of undetermined significance "interlaboratory comparison and quality assurance monitors". *Diagn Cytopathol.* 1994;1:390-396.
2. Morin C, Barati I, Bouchard C, Fortier M, Roy M, Moore L, et al. Cytologic predictors of cervical intraepithelial neoplasia in woman with an ASCUS Pap smear. *Acta Cytol.* 2000;44:576-580.
3. Sodhani P, Gupta S, Sehgal A, Singh V, Khan I, Mitra A. Atypical squamous cells of undetermined significance: Is it worthwhile to quality them further? *Indian J Cancer.* 2003;40:23-26.
4. Davey D. Cytopathology update on atypical squamous cells. *J Low Genit Tract Dis.* 2005;9:124-129.
5. Allan B, Marais D, Denny L, Hoffman M, Shapiro S, Williamson A. The agreement between cervical abnormalities identified by cytology and detection of high-risk types of human papillomavirus. *S Afr Med J.* 2006;96:1186-1190.
6. Chieng D, Chen J, Connolly K, Roberson J, Eltoun I. High risk HPV DNA detection rate in patients with atypical squamous cell and its relationship to the atypical squamous cell: Squamous intraepithelial lesion ratio. *Acta Cytol.* 2006;50:291-294.
7. Solomon D, Nayar R. *The Bethesda System For Reporting Cervical Cytology: Definitions, Criteria, And Explanatory Notes.* 2ª edición. Nueva York: Springer; 2004.
8. Bandyopadhyay S, Austi R, Dabb D, Zhao CH. Adjunctive human papillomavirus DNA testing is a useful option in some clinical settings for disease risk assessment and triage of females with ASC-H Papanicolaou test results. *Arch Pathol Lab Med.* 2008;132:1874-1881.
9. Méndez L, Meza A, López M, Toro M. Signos citológicos no clásicos asociados a la infección por virus de papiloma humano (HPV) en pacientes merideñas. *Rev Invest Clín.* 2011;52:161-168.
10. Alli PM, Ali SZ. Atypical squamous cells of undetermined significance-rule out high-grade squamous intraepithelial lesion: Cytopathologic characteristics and clinical correlates. *Diagn Cytopathol.* 2003;28:308-312.
11. Selvaggi SM. Reporting of atypical squamous cells, cannot exclude a high-grade squamous intraepithelial lesion (ASC-H) on cervical samples: Is it significant? *Diagn Cytopathol.* 2003;29:38-41.
12. Sherman ME, Castle PE, Solomon D (for The ASCUS LSIL Triage Group). Cervical cytology of atypical squamous cells-cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion (ASC-H). Characteristics and histologic outcomes. *Cancer Cytopathol.* 2006;108:298-305.
13. Cheung A, Szeto E, Ng K, Fong, Yeung A, Tsun O, et al. Atypical squamous cells of undetermined significance on cervical smears. Follow up study of an Asian Screening population. *Cancer Cytopathol.* 2004;102:74-80.
14. Kantathavorn N, Kietpeerakoo CH, Suprasert P, Srisomboon J, Khunamornpong S, Nimmanhaeminda K, et al. Clinical relevance of atypical squamous cells of undetermined significance by the 2001 Bethesda system: Experience from a cervical cancer high incidence region. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2008;9:785-788.
15. Solomon D, Schiffman M, Tarone R. Comparison of three management for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: Baseline results from a randomized trial. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93:293-299.
16. Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos M, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999;189:12-19.
17. Muñoz N, Bosch FX, de San José S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, et al; International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med.* 2003;348:518-527.
18. Bosch FX, de San José S. Chapter 1: Human papillomavirus and cervical cancer-burden and assessment of causality. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2003;31:3-13.
19. WHO/ICO Information Centre on HPV and Cervical Cancer. Human Papillomavirus and Related Cancers. September 2010. http://apps.who.int/HPVcentre/statistics/dynamic/ico/country_pdf/XXMX.pdf?CFID=4945222&CFTOKEN=20585782. Última visita: 4 de mayo de 2011.
20. Alfonzo B, Lozada E, Correnti M, Cavazza ME, Michelli P, Salma N. Detección del virus papiloma humano en muestras cervicales de una población de estudiantes de la Universidad Central de Venezuela. *Rev Fac Medicina.* 2003;26:120-126.
21. Graterol IJ, Finol HJ, Correnti M. Virus del papiloma humano en lesiones intraepiteliales escamosas (LIE) de cuello uterino. Tipificación y ultraestructura. *Rev Soc Venez Microbiol.* 2006;26:89-94.
22. Suárez CM, Mijares A, Castillo L, Briceño JM. Tipificación del HPV en cáncer de cuello uterino en la población venezolana. *Rev Venez Oncol.* 2006;18:221-225.
23. Salazar Rivero E. Detección del virus papiloma humano en pacientes con lesiones intraepiteliales escamosas de cuello uterino. *Rev Obstet Ginecol*

- Venez. 2007;67:47-54.
24. Quintero M, Cruz J, Bastidas M, Márquez LM, Puig J. Detección y tipificación de virus del papiloma humano (HPV) mediante PCR-RFLP. *Rev Obstet Ginecol Venez.* 2008;68:25-31.
 25. Correnti M, Cavazza ME, Herrera O, Rodríguez A. Presence of human papillomavirus infection determined by hibrid capture assay in cervical lesions in a venezuelan population. *Rev Inv Clin.* 2010;51:27-35.
 26. Toro M, LLombart A. Detection and genotyping of human papillomavirus DNA using polymerase chain reaction short PCR fragment 10-line probe assay in abnormal Papanicolaou-stained cervicovaginal smears. *Acta Cytol.* 2009;53:540-547.
 27. Musa J, Taiwo B, Goldsmith S, Sutton S, Berzins B, Murphi R. Predictors of atypical squamous cell of undetermined significance cervical cytology with high-risk human papilloma virus genotypes. *Arch Gynecol Obst.* 2010. En: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20229315>.
 28. McGrath C. ASCUS in Papanicolaou Smears Problems, Controversies, and Potential Future Directions. *Am J Clin Pathol.* 2002;117:62-75.
 29. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular cloning. A laboratory manual.* 2ª edición. Nueva York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1989.
 30. García L, Rodrio J, Sanchez P, Ramos S, Suárez C. Extracción de ADN con resina Chelex en el análisis de la amplificación oncogénica en carcinoma de cabeza y cuello. *Acta Otorrinolaringol Esp.* 2004;55:139-144.
 31. Bauer HM, Greer CE, Manos MM. Detection of genital human papillomavirus infection using PCR. En: Herrington CS, McGee J. O. D, editores. *Diagnostic molecular pathology: A practical approach.* Oxford: Oxford University Press; 1992.p.131-152.
 32. Saiki R, Scharf B, Faloona F, Mullis K, Horn G, Erlich H, et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science.* 1985;230:1350-1354.
 33. Manos M, Ting Y, Wright D, Lewis A, Broker T, Wolinsky S. Use of polymerase chain reaction amplification for the detection of genital human papillomavirus. *Cancer cells.* 1989;7:209-214.
 34. Bernard HU, Chan S, Manos M, Ong CH, Villa L, Delius H, et al. Identification and assessment of known and novel human papillomaviruses by polymerase chain reaction amplification, restriction fragment length polymorphisms, nucleotide sequence, and phylogenetic algorithms. *J Infect Dis.* 1994;170:1077-1085.
 35. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. *Cancer Statistics, 2010.* *CA Cancer J Clin.* 2010;60:277-300.
 36. Capote, LG. Aspectos epidemiológicos del cáncer en Venezuela. *Rev Venez Oncol.* 2006;18:269-281.
 37. Kjaer SK, van den Brule AJC, Paull G, Svare EI, Sherman ME, Thomsen BL, et al. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: Population based prospective follow up study. *BMJ.* 2002;325:572-579.
 38. Steenberg R, De Wilde J, Wilting S, Brink ATP, Sniderjs P, Meijer CJLM. HPV-mediated transformation of the anogenital tract. *J Clin Virol.* 2005;32(Suppl):7-15.
 39. Wright T Jr, Cox J, Massad L, Twigg L, Wilkinson E; ASCCP-Sponsored Consensus Conference. 2001 Consensus Guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. *JAMA.* 2002;287:2120-2129.
 40. Cheng W, Huang Ch, You S, Chen Ch. Clinical significance of cytologic atypical squamous cells of undetermined significance. *Obstet Gynecol.* 2009;113:888-894.
 41. Goodman A, Holschneider C. Cervical cytology: Evaluation of atypical squamous cells (ASC-US and ASC-H). Actualizado septiembre 27, 2009. En: <http://www.uptodate.com/patients/content/topic.do?topicKey=~sNpNmuKQ87zQqLN>.
 42. Gupta S, Sodhani P, Lal Chachra K, Singh V, Sehgal A. Outcome of atypical squamous cells in a cervical cytology screening program: Implications for follow up in resource limited settings. *Diagn Cytopathol.* 2007;35:677-680.
 43. Turkish cervical cancer and cervical cytology research group. Prevalence of cervical cytological abnormalities in Turkey. *Int J Gynaecol Obstet.* 2009;106:206-209.
 44. López M, Toro M, Omaña T, Altuve F. Células escamosas atípicas de origen a determinar. Estudio citohistológico. *Rev Fac Farmacia.* 2000;40:228-232.
 45. Toro M, López M, Omaña T, Altuve F. Control de calidad en el laboratorio de citología: Relación atípicas/lesión intraepitelial escamosa. *Rev Fac Farmacia.* 2000;40:246-249.
 46. Hong I, Cox J, Massod L, Carlson J Twigg L, Wilkinsons. Comparative analysis of a liquid-based Pap test and concurrent HPV DNA assay of residual samples: A study cases. *Acta Cytol.* 2001;46:828-834
 47. Pirog E, Errol M, Haigopal M, Centeno B. Comparison of human papillomavirus DNA prevalence in atypical squamous cells of undetermined significance subcategories as defined by the original Bethesda 1991 and the new Bethesda 2001 System. *Arch Pathol Lab Med.* 2004;128:527-532.
 48. Stany MP, Bidus MA, Reed EJ, Kaplan KJ, McHale MT, Rose GS, et al. The prevalence of HR-HPV DNA in ASC-US Pap smears: A military population study. *Gynecol Oncol.* 2006;101:82-85.
 49. Shiffman M, Solomon D. Findings to date from the ASCUS-LSIL triage study (ALTS). *Arch Pathol Lab Med.* 2003;127:946-949.
 50. Louro AP, Roberson J, Eltoum I, Chhieng DC. Atypical squamous cells, cannot exclude high-grade

INFECCIÓN POR VIRUS PAPILOMA HUMANO

- squamous intraepithelial lesion. A follow-up study of conventional and liquid-based preparations in a high-risk population. *Am J Clin Pathol.* 2003;120:392-397.
51. Davey DD, Neal MH, Wilbur D, Colgan TJ, Styer PE, Mody DR. Bethesda 2001 implementation and reporting rates. *Arch Pathol Lab Med.* 2004;128:1224-1229.
52. Barret D, Schepansky A, Capstick V, Johnson G, Steed H, Faught W. Atypical squamous cells-cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion (ASC-H): A result not to be ignored. *JOGC.* 2006;28:1095-1098.
53. Davey DD, Greenspan DL, Kurtycz DFI, Husain M, Austin M. Atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion: Review of ancillary testing modalities and implications for follow-up. *J Low Gen Tract Dis.* 2010;14:206-214.
54. Mokhtar GA, Roustan Delator NL, Assiri AH, Gilliatt MA, Senterman M, Islam S. Atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion. Cytohistologic correlation study with diagnostic pitfalls. *Act Cytol.* 2008;52:169-177.
55. Liman AK, Giampoli EJ, Bonfiglio TA. Should women with atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion, receive reflex human papillomavirus-DNA testing? *Cancer Cytopathol.* 2005;105:457-460.
56. Roa A, Pather S, Dalrymple C, Mackie A, Deans R, Carter J. The role of HPV in patients with possible high-grade cervical cytology. *J Obstet Gynaecol Res.* 2009;35:503-506.
57. Evans M, Adamson Ch, Papillo J, John T, Leiman G, Cooper K. Distribution of Human Papillomavirus Types in ThinPrep Papanicolaou Tests Classified According to the Bethesda 2001 Terminology and correlations with patient age and biopsy outcomes. *Cancer.* 2006;106:1054.
58. Levy AW, Kelly DP, Rosenthal DL, Ronnet BM. Atypical squamous cells of undetermined significance in liquid-based cytologic specimens. *Cancer Cytopathol.* 2003;99:191-197.
59. Nobre RJ, Cruz E, Real O, Pereira L, Martins TC. Characterization of common and rare human papillomaviruses in Portuguese women by the polymerase chain reaction, restriction fragment length polymorphism and sequencing. *J Medical Virol.* 2010;82:1024-1032.
60. Steiman S, Smith D, Chandler B, Filippo D, Scheiber P, Mody D. Morphologic, patient and interpreter of high risk human papillomavirus positive vs negative cases of atypical squamous cells of undetermined significance. *Acta Cytol.* 2008;52:279-285.
61. Aedo S, Melo A, García P, Guzmán P, Capurro I, Roa JC. Detección y tipificación del virus papiloma humano en lesiones preneoplásicas del cuello uterino mediante RFLP. *Rev Med Chile.* 2007;135:167-173.
62. Deluca GD, Lucer RH, Martin MT, Vicente L, Gorodner O, Schelover E, et al. Human papillomavirus genotypes in women with cervical cytological abnormalities from an area with high incidence of cervical cancer. *Rev Inst Med Trop S Paulo.* 2004;46:9-12.



FUNDASOG DE VENEZUELA

Brazo educativo e informativo de la Sociedad de Obstetricia y Ginecología de Venezuela

Informa a los Miembros Afiliados de la Sociedad de Obstetricia y Ginecología de Venezuela, que las próximas pruebas de conocimiento de la especialidad para optar a la categoría de Miembro Titular, se realizarán en el marco de la:

- **XXVI Jornada Nacional de Obstetricia y Ginecología**, que se llevará a cabo del 26 al 28 de septiembre de 2012, en el Hotel Villa Caribe Convention Center & Beach Club, Punto Fijo, Paraguaná, Estado Falcón

Características del examen:

1. Prueba escrita.
2. Un total de 100 preguntas de selección simple, 50 de Obstetricia y 50 de Ginecología.
3. Puntuación mínima para aprobación: 15/20 puntos.

Información:

**Sede de la SOGV y FUNDASOG de Venezuela, Maternidad Concepción Palacios, Avenida San Martín, Caracas.
Tele-Fax: +58-212-451.08.95**