



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA
Facultad de Medicina

**COMPARACIÓN DE LAS VARIABLES EPIDEMIOLÓGICAS Y BIOLÓGICAS
DE PACIENTES CON CÁNCER DE CÉRVIX PROCEDENTES DE LAS
CIUDADES DE MAPUTO (MOZAMBIQUE) Y BARCELONA (ESPAÑA)**

Tesis Doctoral

Flora Agostinho Mabota da Costa

BARCELONA, 2005

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA, OBSTETRÍCIA Y GINECOLOGÍA Y
MEDICINA PREVENTIVA

COMPARACIÓN DE LAS VARIABLES EPIDEMIOLÓGICAS Y BIOLÓGICAS
DE PACIENTES CON CÁNCER DE CÉRVIX PROCEDENTES DE LAS
CIUDADES DE MAPUTO (MOZAMBIQUE) Y BARCELONA (ESPAÑA)

Tesis Doctoral presentada por la licenciada
Flora Agostinho Mabota da Costa para optar al grado de Doctor
en Medicina y Cirugía

Director: Ramón Carreras Collado

BARCELONA, 2005

Dedico esta tesis

- ao meu esposo João Leopoldo

e

às minhas filhas

- Xiluwa e Ângela

AGRADECIMENTOS

A elaboração deste trabalho foi possível graças à colaboração de algumas pessoas e instituições a quem mui humilde e reconhecidamente, agradeço.

Sem querer excluir a ninguém, permito-me destacar os seguintes nomes:

Ao Prof. Dr. Ramón Carreras, ilustre Tutor e Director desta tese, pela sua orientação e apoio sob o ponto de vista metodológico durante a elaboração da presente trabalho.

Ao Dr. Pérez Fusté pela atenção dispensada na preparação dos instrumentos para a recolha de dados, seus comentários e importante contribuição na análise preliminar dos resultados obtidos.

Ao Prof. Dr. Francisco Alameda, do Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital del Mar, pela sua colaboração no processamento e análise laboratorial das peças biópsias que foram objecto deste estudo.

À Mercedes Sáez da Unidade de Bioestatística da Faculdade de Medicina da Universidade Autónoma de Barcelona pelo amável apoio dispensado na análise estatística dos resultados.

Ao Prof. Alfonso Rodriguez Baeza, pelo acolhimento e atenção dispensada tanto no âmbito académico como na minha integração social em Barcelona. Não é demais dizer que foi ele quem levou a Moçambique e em particular à minha Faculdade, a mensagem transmissora das boas condições de formação oferecidas pela Faculdade de Medicina da UAB, tendo sido este um dos, se não o principal factor que contribuiu para a minha decisão de fazer aqui o meu Doutoramento.

Ao Prof. Miguel Martín pelos valiosos conselhos que me deu com relação a análise estatística dos resultados do meu estudo bem como pela sua atenção e acolhimento no Departamento.

A María Inés Baeza pelo seu acolhimento e com quem partilhei vários momentos por que passei durante a minha estadia em Barcelona.

A todos os companheiros do Departamento de Pediatria, Obstetrícia y Ginecologia da Universidade Autónoma de Barcelona que directamente ou indirectamente contribuíram para que durante à minha estadia neste Departamento me sentisse confortável e com condições para realizar o meu trabalho graças a vós senti-me como que em minha própria casa.

Seria injustiça da minha parte não deixar registados os meus agradecimentos aos meus colegas e Mestres do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital Central de Maputo, pois sem a sua colaboração não teria sido possível ausentar-me do meu País por longos períodos de formação.

Sem pretender excluir aos demais, agradeço especialmente ao Prof. António Bugalho por todo o apoio que dispensou mia minha formação em Ginecologia e Obstetrícia.

À Reitoria da Universidade Eduardo Mondlane por me haver dado esta oportunidade de formação e pelo apoio financeiro dispensado.

Finalmente, aos meus colegas de Serviço de Histologia y Embriologia da Faculdade de Medicina da Universidade Eduardo que nas minhas ausências cuidam do trabalho que me compete fazer, facilitando deste modo a conciliar a minha formação com as múltiplas tarefas que me cabem neste Serviço.

Termino com muito obrigado a meu esposo e às minhas filhas pela força que sempre me deram para levar esta formação em frente.

**COMPARACIÓN DE LAS VARIABLES EPIDEMIOLÓGICAS Y BIOLÓGICAS
DE PACIENTES CON CÁNCER DE CÉRVIX PROCEDENTES DE LAS
CIUDADES DE MAPUTO (MOZAMBIQUE) Y BARCELONA (ESPAÑA)**

INDICE DE CONTENIDOS

Contenidos	Páginas
PRESENTACIÓN	1
I. INTRODUCCIÓN	8
II. EL ENTORNO SOCIOECONÓMICO Y SANITARIO DE LAS ÁREAS DE ESTUDIO	13
2.1. MOZAMBIQUE	13
2.1.1. Características socioeconómicas de la población de Mozambique	13
2.1.2. Características del sistema de salud de Mozambique	14
2.2. ESPAÑA	17
2.2.1. Características socioeconómicas de la población de España	17
2.2.2. Características del sistema de salud de España	18
III. ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA	24
3.1. RESEÑA HISTÓRICA SOBRE EL DESCUBRIMIENTO DEL CÁNCER CERVICAL UTERINO Y SUS MÉTODOS DE DETECCIÓN	24
3.2. EPIDEMIOLOGIA	30
3.2.1. Incidencia	30
3.2.2. Distribución por Edades	32
3.2.3. Mortalidad	33
3.2.4. Supervivencia	35
3.3. ETIO-PATOGENIA DEL CÁNCER DE CÉRVIX UTERINO	36
3.3.1 Génesis del cáncer	36
3.3.2- Historia natural de cáncer de cérvix uterino	38

3.4. EL PAPILOMAVIRUS HUMANO (HPV) Y SU RELACIÓN CON EL CÁNCER DE CÉRVIX UTERINO Y OTRAS ENFERMEDADES CERVICALES	42
3.4.1. Taxonomía del HPV	42
3.4.2. Virus del papiloma humano y cáncer de cérvix uterino	43
3.4.3. Otras enfermedades cervicales asociadas a HPV	46
3.4.4. Relación entre el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) el cáncer cervical y el virus del papiloma humano (HPV).	49
3.5. COFACTORES DE RIESGO ASOCIADOS AL CÁNCER DE CÉRVIX UTERINO	57
3.5.1. Conducta sexual	57
3.5.2. Infecciones	58
3.5.3. Anticoncepción hormonal (utilización prolongada de anticonceptivos orales)	59
3.5.4. Multiparidad	60
3.5.5. Tabaquismo	61
3.5.6. Inmunosupresión	62
3.6. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL CÁNCER DE CÉRVIX UTERINO	63
3.6.1. Característica macroscópica del cáncer de cérvix uterino	63
3.6.2. Característica microscópica del cáncer de cérvix uterino	67
3.6.3. Características clínicas del cáncer de cérvix uterino	68
3.7. PREVENCIÓN PRIMARIA DEL CÁNCER DE CÉRVIX UTERINO	71
IV. FACTORES PRONÓSTICOS DE LA EVOLUCIÓN DE LA PACIENTE CON CÁNCER DE CÉRVIX UTERINO	76
4.1. ASPECTOS GENERALES	76
4.2. CLASIFICACIÓN DE LOS FACTORES PRONÓSTICOS	77
a) Factores clínico-patológicos o de primera generación del cáncer de cérvix uterino	77
b) Factores Biológicos o de segunda generación del cáncer de cérvix uterino	78
4.3. CARACTERIZACIÓN DE LAS PROTEÍNAS QUE SON OBJETO DE ESTE ESTUDIO (p53, bcl-2, Ki-67, c-erbB-2 y la Ciclina-D1)	80
4.3.1. GEN p53	80
4.3.2. bcl-2	84
4.3.3. Ki-67	88
4.3.4. c-erbB-2 o HER-2/neu	91
4.3.5. Ciclina-D1	95

V OBJETIVOS	101
5.1. Objetivo general	101
5.2. Objetivos específicos	101
VI- MATERIAL Y MÉTODOS	103
6.1. Fuente Y Recogida De Datos	103
6.2. Variables Estudiadas	105
6.3. Análisis De Laboratorio	105
6.4. Técnica De Inmunohistoquímica Sistema Envisión	108
6.5. Evaluación De Los Portas	110
6.6. Aclaración De Algunas Variables	112
6.7. Análisis Estadístico	113
VII – RESULTADOS	115
7.1. DESCRIPTIVA UNIVARIANTE	115
7.1.1. Descripción del perfil clínico-epidemiológico	115
7.1.1.1 Edad y su recodificación	115
7.1.1.2 Antecedentes gineco-obstétricos, hábitos alcohólicos y tabáquicos	118
7.1.1.3 Pacientes con infección del Papiloma Virus Humano (HPV)	121
7.1.1.4 Antecedentes de Patología Cervical	121
7.1.1.5 Inmunosupresión	122
7.1.1.6. Estadio clínico según la clasificación internacional de FIGO	123
7.1.2. Características anatomohistológicas	126
7.1.2.1. Características Anatomohistopatológicas de los casos en general	126
7.1.2.2. Características Histopatológicas de los casos Operados	129
7.1.3. Tipo de tratamiento y evolución	131
7.1.4. Expresión de las proteínas biológicas del tumor	135
7.2. DESCRIPCIÓN DE LA ASOCIACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE EXPRESIÓN DE LAS ONCOPROTEÍNAS Y LAS VARIABLES CLÍNICO-PATOLÓGICAS	140
7.3. CARACTERIZACIÓN DEL PRONÓSTICO EVOLUTIVO EN FUNCIÓN DE LAS VARIABLES ANATOMOPATOLÓGICAS Y DE LAS ONCOPROTEÍNAS	151

7.4.	DESCRIPCIÓN DE LA CORRELACIÓN ENTRE LAS ONCOPROTEÍNAS ENTRE SI Y ENTRE ELLAS Y LAS VARIABLES ANATOMO-HISTOPATOLÓGICAS	158
7.5.	ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA	162
7.5.1.	Análisis de supervivencia de los casos del Hospital del mar	162
7.5.2.	Análisis de supervivencia de los casos del H.C.Maputo	167
7.6.	DESCRIPCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DE UN SUBGRUPO ESPECÍFICO DE PACIENTES HIV POSITIVAS DE MOZAMBIQUE	172
7.6.1.	Distribución de los casos sero-positivos en función de la edad de las pacientes	173
7.6.2.	Antecedentes gineco-obstétricos, hábitos alcohólicos y tabaquicos	174
7.6.3.	Pacientes con CACU asociado con HPV y HIV. Descripción de sus antecedentes de Patología Cervical y ETS	175
7.6.4.	Estadio clínico según la clasificación internacional de FIGO	176
7.6.5.	Características Histopatológicas de los casos Operados	178
7.6.6.	Expresión de las proteínas biológicas del tumor	180
7.6.7.	Caracterización del pronóstico evolutivo en función de las variables anatomopatológicas y de las oncoproteínas en las pacientes con CACU – HIV positivas y negativas	181
VIII	DISCUSIÓN	192
8.1.	Consideraciones metodológicas	192
8.2.	Discusión de los resultados	197
IX	CONCLUSIONES	220
X	CONSIDERACIONES FINALES	224
XI	REFERENCIAS	228

ÍNDICE DE LAS TABLAS (ANTECEDENTES)

Nº	Título	Página
Tabla 1 -	Tasa de incidencia de cáncer de cérvix uterino, ajustada por edad por 100.000 mujeres. Diferentes registros de la Unión Europea, periodo 1988-1992	31
Tabla 2 -	Tipos de HPV y su asociación con las principales enfermedades genitales	48
Tabla 3 -	Variedades histológicas del carcinoma del cérvix	67
Tabla 4 -	Anticuerpos específicos más utilizados en el diagnóstico de diversas neoplasias	78

ÍNDICE DE LAS TABLAS (RESULTADOS)

Nº	Título	Página
Tabla 1 -	Frecuencia de las pacientes con CACU en Hospital del Mar de Barcelona, por grupos de edad, Maputo 2005	116
Tabla 2 -	Frecuencia de las pacientes con CACU en Hospital Central de Maputo, por grupos de edad, Maputo 2005	117
Tabla 3 -	Antecedentes ginecológicos-obstétricos y hábitos alcohólicos y tabáquicos de las pacientes con CACU en el Hospital del Mar y Hospital Central de Maputo	118
Tabla 4 -	Pacientes del Hospital del Mar y de Hospital Central de Maputo con CACU y HPV	121
Tabla 5 -	Distribución de pacientes de Hospital del Mar de Barcelona y Hospital Central de Maputo por historia de patología previa cervical y ETS	122
Tabla 6 -	Casos de inmunosupresión registrados en las pacientes con CACU en Hospital del Mar de Barcelona y en Hospital Central de Maputo	123
Tabla 7 -	Características de las pacientes con CACU en Hospital del Mar de Barcelona y Hospital Central de Maputo por estadios de FIGO	124
Tabla 8 -	Caracterización anatomoclínica de las pacientes con CACU en Hospital del Mar de Barcelona y en el Hospital Central de Maputo	127
Tabla 9 -	Caracterización histopatológica de pacientes con cáncer de cervix uterino en Hospital del Mar de Barcelona y en el Hospital Central de Maputo	129

Tabla 10 – Tratamiento y estado actual de las pacientes con CACU en el Hospital del Mar de Barcelona y en el Hospital Central de Maputo	131
Tabla 11 – Tiempo de seguimiento de las pacientes con CACU en el Hospital del Mar de Barcelona y en el Hospital Central de Maputo	133
Tabla 12 – Nivel de expresión de las proteínas biológicas del tumor en las pacientes estudiadas	135
Tabla 13 – Grados de intensidad de la imuno-marcación de las proteínas biológicas del cáncer en las pacientes estudiadas	138
Tabla 14 – Distribución de las proteínas con base en SCORES resultantes de la evaluación de los porcentajes y de las intensidades.	139
Tabla 15 – Descripción de la asociación entre la proteína p53 y las variables anatómo-patológicas, en las enfermas del H.del Mar	140
Tabla 16 – Descripción de la asociación entre la proteína bcl-2y las variables anatómo-patológicas, en las enfermas del H.del Mar	141
Tabla 17 – Descripción de la asociación entre la proteína ki-67 y las variables anatómo-patológicas, en las enfermas del H.del Mar	142
Tabla 18 – Descripción de la asociación entre la proteína c-erbB-2 y las variables anatómo-patológicas, en las enfermas del H.del Mar	143
Tabla 19 – Descripción de la asociación entre la proteína Ciclina-D1 y las variables anatómo-patológicas, en las enfermas del H.del Mar	144
Tabla 20 – Descripción de la asociación entre la proteína p53 y las variables anatómo-patológicas, en las enfermas del H.C.M.	145
Tabla 21 – Descripción de la asociación entre la proteína bcl-2 y las variables anatómo-patológicas, en las enfermas del H.C.M.	146
Tabla 22 – Descripción de la asociación entre la proteína ki-67 y las variables anatómo-patológicas, en las enfermas del H.C.M	147
Tabla 23 – Descripción de la asociación entre la proteína c-erbB-2 y las variables anatómo-patológicas, en las enfermas del H.CM	148
Tabla 24 – Descripción de la asociación entre la proteína Ciclina-D1 y las variables anatómo-patológicas, en las enfermas del H.C.M.	149
Tabla 25 - Distribución de los ganglios extraídos de las enfermas operadas del Hospital del Mar, en función de los niveles de expresión de cada una de las proteínas	150
Tabla 26 - Tasas de incidencia de Recidiva al año, por paciente, en función de las características Anatomopatológicas y Histológicas	152
Tabla 27 - Tasas de incidencia de Recidiva al año por paciente, en función del nivel de Expresión de las Proteínas	155
Tabla 28 – Tasas de mortalidad al año, por paciente, en función de las características anatomopatológicas	156
Tabla 29 – Tasas de mortalidad al año por paciente, en función de los niveles de expresión de las proteínas	157

Tabla 30 –	Matriz de Correlaciones entre las proteínas marcadoras del tumor. Hospital del Mar, Barcelona	158
Tabla 31 –	Matriz de Correlaciones entre las proteínas marcadoras del tumor (casos positivos) y las variables relacionadas con las alteraciones anatómo-histopatológicas. Hospital del Mar, Barcelona	159
Tabla 32 –	Matriz de Correlaciones entre las proteínas marcadoras del tumor. Hospital Central de Maputo	160
Tabla 33 –	Matriz de Correlaciones entre las proteínas marcadoras del tumor y las variables relacionadas con las alteraciones anatomopatológicas. Hospital Central de Maputo	161
Tabla 34 -	Frecuencia de las pacientes del Hospital Central de Maputo con CACU/ HIV positivas y CACU/ HIV negativas, por grupos de edad, Maputo 2005	173
Tabla 35 –	Antecedentes ginecológicos-obstétricos y hábitos alcohólicos y tabaquicos de las pacientes con CACU/ HIV-positivas y negativas en el Hospital Central de Maputo	174
Tabla 36 –	Distribución de las Pacientes del Hospital Central de Maputo con CACU y otras infecciones en función de ser o no sero-positivas para el HIV	175
Tabla 37 –	Caracterización de las pacientes con CACU/ HIV positivo y negativo en Hospital Central de Maputo por estadios de FIGO	176
Tabla 38 –	Caracterización anatómo-patológica de las pacientes observadas en el Hospital Central de Maputo, en función de la infección por el HIV	177
Tabla 39 –	Caracterización histopatológica de pacientes operadas con CACU/HIV positivo o negativo en Hospital Central de Maputo	178
Tabla 40 –	Tratamiento y estado actual de las pacientes con CACU/ HIV positivo y negativo en Hospital Central de Maputo	179
Tabla 41 -	Nivel de expresión de las proteínas biológicas del tumor en las pacientes estudiadas de Mozambique con CACU/ HIV positivo y negativo	180
Tabla 42 -	Tasas de incidencia de Recidiva al año, por paciente, en función de las características Anatomopatológicas y Histológicas	181
Tabla 43 -	Tasas de incidencia de Recidiva al año por paciente, en función del nivel de Expresión de las Proteínas en pacientes HIV positivas y negativas del HCM	182
Tabla 44 -	Tasas de incidencia de Mortalidad al año, por paciente, en función de las características Anatomopatológicas y Histológicas en las pacientes HIV positivas y negativas del HCM	183
Tabla 45 -	Tasas de incidencia de Mortalidad al año por paciente, en función del nivel de Expresión de las Proteínas en pacientes HIV positivas y negativas del HCM	184

INDICE DE LAS FIGURAS

Nº	Título	Página
Fig.1 -	Aparato genital femenino indicando la localización de la unión escamo-columnar	38
Fig.2 -	Fases de evolución de una displasia incipiente hacia carcinoma invasivo	40
Fig.3 -	Durante el examen pélvico puede usarse un dispositivo especial llamado colposcopio	63
Fig.4 -	Carcinoma cervicouterino invasor incipiente	64
Fig.5 -	Carcinoma cervicouterino invasor: variedad exofítica	64
Fig.6 -	Carcinoma cervicouterino invasor: variedad endofítica	65
Fig.7 -	Carcinoma cervicouterino invasor avanzado, con crecimiento proliferativo ulcerante. Variedad combinada de exofítica con endofítica	65

INDICE DE IMÁGENES HISTOLÓGICAS DE LAS PROTEÍNAS ESTUDIADAS

Nº	Título	Página
Ilust. 1.	Inmuno-marcación de la proteína p53 en la muestra del H. del Mar. 40x	186
Ilust. 2.	Inmuno-marcación de la proteína p53 en la muestra del H. Central de Maputo. 40x	186
Ilust. 3.	Inmuno-marcación de la proteína bcl-2 en la muestra del H. del Mar. 40x	187
Ilust. 4.	Inmuno-marcación de la proteína bcl-2 en la muestra del H. Central de Maputo. 10x	187
Ilust. 5.	Inmuno-marcación de la proteína ki-67 en la muestra del H. del Mar. 20x	188
Ilust. 6.	Inmuno-marcación de la proteína Ki-67 en la muestra del H. Central de Maputo. 20x	188
Ilust. 7.	Inmuno-marcación de la proteína c-erbB.2 en la muestra del H. del Mar. 40x	189
Ilust. 8.	Inmuno-marcación de la proteína c-erbB-2 en la muestra del H. Central de Maputo. 20x	189
Ilust. 9.	Inmuno-marcación de la proteína Ciclina-D1 en la muestra del H. del Mar. 20x	190
Ilust. 10.	Inmuno-marcación de la proteína Ciclina-D1 en la muestra del H. Central de Maputo. 10x	190

ÍNDICE DE LOS GRÁFICOS

Nº	Título	Página
Gráf 1 -	Distribución de las dos muestras (del HCM y del H. del Mar) por grupos de edad	117
Gráf 2 –	Características de las pacientes con CACU en Hospital del Mar de Barcelona y Hospital Central de Maputo por estadios de FIGO predominantes.	125
Gráfi 3 -	Tiempo de seguimiento de los casos del Hospital del Mar (Barcelona) y del Hospital Central de Maputo (Maputo)	134
Gráf. 4 -	Curva de supervivencia conforme la expresión de la p53 en las pacientes del H. del Mar	162
Gráf. 5-	Curva de supervivencia conforme la expresión de la bcl-2 en las pacientes del H. del Mar	163
Gráf. 6 -	Curva de supervivencia conforme la marcación de la ki-67 en las pacientes del H. del Mar	164
Gráf. 7 -	Curva de supervivencia conforme la expresión de la c-erbB-2 en las pacientes del H. del Mar	165
Gráf. 8–	Curva de supervivencia conforme la expresión de la CiclinaD-1 en las pacientes del H. del Mar	166
Gráf. 9 -	Curva de supervivencia conforme la marcación de la p53 en las pacientes del H.C.M.	167
Gráf. 10 -	Curva de supervivencia conforme la marcación de la bcl-2 en las pacientes del H.C.M.	168
Gráf. 11 -	Curva de supervivencia conforme la marcación de la ki-67 en las pacientes del H.C.M.	169
Gráf. 12 -	Curva de supervivencia conforme la marcación de la c-erbB-2 de las pacientes del H.C.M.	170
Gráf.13 –	Curva de supervivencia conforme la marcación de la CiclinaD-1 en las pacientes del H.C.M.	171

COMPARACIÓN DE LAS VARIABLES EPIDEMIOLÓGICAS Y BIOLÓGICAS DE PACIENTES CON CÁNCER DE CÉRVIX PROCEDENTES DE LAS CIUDADES DE MAPUTO (MOZAMBIQUE) Y BARCELONA (ESPAÑA)

PRESENTACIÓN

El cáncer de cérvix uterino es uno de los principales problemas de salud tanto en los países en desarrollo como en los países desarrollados.

En de los países industrializados hay una tendencia a la reducción de la incidencia, debido a importantes medidas de prevención, con reducción de morbilidad y de la mortalidad por esta enfermedad, mientras que en los países en desarrollo sigue siendo un serio problema implicado en la mortalidad femenina y en las consecuentes implicaciones sociales.

En Maputo se han realizado pocos estudios sobre el tema, aunque esta patología sea una de las más frecuentes que afectan a la mujer en edad reproductiva.

En los países desarrollados, las tendencias temporales con relación a la incidencia, han sido decreciendo, aunque en los últimos 30 años se observe un incremento significativo en la incidencia y mortalidad por cáncer cervical en algunos de ellos. Los programas de despistaje, con uso de técnicas de citología exfoliativa cervico-vaginal, están en la base del éxito en las medidas de control adoptadas por muchos de estos países.

Sin embargo, estas técnicas son inaccesibles en la mayor de los países donde la enfermedad es muy frecuente. Por esto, a pesar del potencial teórico de prevención del carcinoma del cervix, aún está distante de ser concretizado en los países pobres.

Como forma de contribuir en el conocimiento de la magnitud del problema en Mozambique y participar en la investigación que hoy se realiza, en vista a identificar factores biológicos con valor pronóstico, la doctoranda escogió este tema de trabajo para su tesis.

En este contexto, se realiza este estudio comparando el perfil epidemiológico de las pacientes con cáncer del cérvix observadas en el Hospital del Mar y las observadas en el Hospital Central de Maputo para luego hacer la evaluación de la expresión de las proteínas oncológicas p53, bcl-2, c-erbB-2, ki-67 y Ciclina-D1 y poder estimar la importancia de estas proteínas en la predicción de la mortalidad y de las recidivas.

Se hace un breve análisis sobre la asociación entre el HPV y el HIV entre si y con el cáncer de cérvix uterino; Se resumen las características morfológicas del cáncer de cérvix, la clasificación de FIGO y las características de los estadios que la definen.

En este contexto fueran estudiadas 93 mujeres, siendo 46 del Hospital Central de Maputo y 47 del Hospital del Mar. Bloques de parafina conteniendo tejidos tumorales de estas pacientes fueran analizados en el Laboratorio de Anatomía Patológica del Hospital del Mar, usando técnicas de inmunohistoquímica. El

análisis estadístico fue realizado en el Unidad de Bioestadística de la Facultad de Medicina de la UAB con colaboración del Hospital del Mar.

Los resultados de estudio, en términos epidemiológicos, muestra que las mujeres con cáncer observadas en el Hospital Central de Maputo son más jóvenes (la mayoría tiene menos de 39 años) mientras que las del Hospital del Mar tienen más de 45 años.

Los factores de riesgo asociados al carcinoma cervical, más destacados en otros estudios, aunque con diferencias en la distribución de frecuencias, están también presentes en este estudio, tanto en las pacientes del Hospital del Mar como en el Hospital Central de Maputo. Por ejemplo, en la muestra perteneciente a Mozambique están en mayores proporciones mujeres grandes multíparas, primer parto en edad temprana, con historia de más de una pareja; mientras que en la muestra perteneciente a España predominan las mujeres con historia del uso de anticonceptivos orales y con historia de hábitos tabáquicos.

Con excepción del tipo histológico, fue evidente que en todas las variables clínico-patológicas estudiadas (tamaño del tumor, su extensión, invasión de parametrios, infiltración vascular y invasión de estroma) el parámetro que refleja las formas más complicadas fue siempre más frecuente en la muestra del Hospital Central de Maputo.

Del total de 18 pacientes infectadas por el HIV, 16 (88.8%) son del Hospital Central de Maputo, siendo esta la principal causa de inmunosupresión en la muestra de Mozambique.

Con relación a las **oncoproteínas**, de acuerdo con otros estudios previos, no se encontró asociación entre la p53 y las variables clínico-patológicas descritas. La c-erbB-2 es la que se observa asociación con todas las variables tanto en el Hospital Central de Maputo como en la muestra del Hospital del Mar. La Ki-67 y la Ciclina-D1 son las que no muestran asociación y sin valor pronóstico en las dos muestras.

Aunque el significado clínico de las alteraciones de la c-erbB-2 sea controvertido, en este estudio se encontró valor pronóstico importante en ambas muestras.

Este estudio también sugiere que la expresión de la bcl-2 no parece útil para prever las recidivas, pero puede ser un indicador pronóstico para la progresión de la enfermedad una vez que en las fases precoces se presenta en mayor concentración para después disminuir en las fases avanzadas.

Las diferencias encontradas de las asociaciones entre los niveles de expresión de las proteínas y las diversas variables clínico-patológicas, así como con relación a las probabilidades de muerte y/o de recidiva, pueden ser debidas más a las diferencias que existen entre las fases evolutivas en que se encuentran las pacientes cuando llegan al Hospital, o debidas a las condiciones

de servicio ofrecidas por el Hospital del Mar frente a los del Hospital Central de Maputo, y no parece que sea resultado de diferencias biológicas entre las muestras.

En términos generales se puede concluir que los resultados globales de la asistencia al cáncer del cérvix uterino en Maputo está en un nivel inferior al que se practica en el Hospital del Mar y que esta diferencia puede estar asociada a la menor fracción de casos de cáncer diagnosticados en fase precoz así como a las mayores tasas de mortalidad registradas en la muestra del Hospital Central de Maputo.

PARTE I

▶ INTRODUCCIÓN

▶ EL ENTORNO SOCIOECONÓMICO Y SANITARIO DE LAS ÁREAS DE ESTUDIO

Resumen

En este apartado se hace una breve introducción sobre la importancia del estudio del cáncer cervical tanto en los países desarrollados como en los países en desarrollo, con especial énfasis en las ciudades de Maputo y de Barcelona.

Se comenta el papel del cribado para el diagnóstico precoz y su impacto en la reducción de la tasa de mortalidad por el cáncer de cérvix uterino.

Para conocer el entorno donde se realizó el estudio, se describen las características sociodemográficas y de los sistemas de salud de Mozambique y de Barcelona, respectivamente. En Mozambique es evidente la ausencia de sistemas de cribado que ayudarían a diagnosticar precozmente el cáncer, así como la incidencia de casos en mujeres muy jóvenes (35 a 39 años) contra la incidencia en mujeres de mayor edad en Barcelona.

COMPARACIÓN DE LAS VARIABLES EPIDEMIOLÓGICAS Y BIOLÓGICAS DE PACIENTES CON CÁNCER DE CÉRVIX PROCEDENTES DE LAS CIUDADES DE MAPUTO (MOZAMBIQUE) Y BARCELONA (ESPAÑA)

I. INTRODUCCIÓN

El cáncer de cérvix uterino constituye uno de los principales problemas de salud del mundo siendo la segunda causa de muerte por cáncer en las mujeres, después del cáncer de mama. Mundialmente se registran cada año cerca de 500.000 nuevos casos, de los cuales el 80% aparecen en los países en desarrollo (*Connie P.M y cols, 2000; OMS, 2002; Franceshi S, 2005*).

La mortalidad por esta patología es mayor en los países en desarrollo donde el sistema de cribado y de tratamiento es deficiente (*Borrás JM y col, 1994*).

Datos recientes estiman que durante el año 2002 murieron más de 550.000 mujeres en todo el mundo por ésta enfermedad (*Ailhaud AP, 2003*), siendo la mayoría de las mujeres, oriundas de los países en desarrollo (*Alonso-de Ruiz P y col 2000*). En los países desarrollados, como por ejemplo España y Canadá, la mortalidad por este tumor disminuyó en las últimas décadas.

En los países latinoamericanos más de 30 mil mujeres mueren anualmente por el cáncer del cérvix (*Arrosi S y cols, 2003; Isla V, 2002*). Los registros de cáncer obtenidos por la Organización Panamericana de la Salud, OPS, muestran que hay una incidencia relativamente alta en Brasil, Paraguay y Perú; las más bajas se encuentran en Cuba y Puerto Rico. En Cali, Colombia, este tipo de cáncer es la segunda causa de muerte femenina; en esta ciudad Colombiana, cada año se

presentan entre seis a diez veces más casos nuevos de cáncer de cérvix que en España. Canadá tiene, a escala mundial, la mortalidad más baja por esta enfermedad (*Eliane DF y cols, 2004*).

En Mozambique, en los últimos 10 años, el número de casos de cáncer del cérvix alcanza cifras muy altas afectando también a mujeres muy jóvenes en edad fértil por lo que nos parece importante hacer un estudio sobre la magnitud de este problema de salud. Además, lo más preocupante es que la gran mayoría de los casos de cáncer llegan tarde, en estadios muy avanzados y con pronóstico desfavorable.

Su etiología no está todavía clarificada, pero se admite que haya agentes que actúen sobre las células de reserva o sobre el epitelio metaplásico de la zona de transformación. La gran mayoría de los casos es causada por el virus de papilloma humano (HPV), un virus de transmisión sexual que infecta las células del cuello uterino y lentamente provocan alteraciones celulares que pueden evolucionar hacia cáncer. En los últimos estudios se establece con mayor claridad la implicación de los virus del papiloma de alto riesgo como agentes causales en la transformación tumoral de los carcinomas cervicales. Estudios realizados en varios países detectaron asociación positiva con varios tipos de HPV, siendo los tipos 16 y 18 los más frecuentemente encontrados con alto potencial oncogénico y los biológicamente más activos. Se piensa que los dos tipos de HPV son capaces de transformar los fibroblastos humanos provocando una alteración en la diferenciación del epitelio cervical e induciendo así la replicación desordenada del DNA en los fibroblastos. Los anticuerpos de productos de genes de HPV, E4 y E7

son los más encontrados en pacientes con CIN o carcinoma invasor de cérvix uterino.

Aunque en la mayoría de las situaciones es asintomático, en la fase pre-invasiva se trata de una enfermedad que, cuando está avanzada, se caracteriza por dispareunia, secreciones vaginales con olor fétido, hemorragia entre los periodos menstruales, durante el coito o después de la menopausia. La despistaje precoz por medio de examen pélvico, citología exfoliativa cervical (test de Papanicolaou), histología y colposcopia, se puede prevenir y bajar la tasa de incidencia de esta patología.

Con la aparición del HIV/SIDA, el número de casos del cáncer cervical ha aumentado progresivamente en los países en desarrollo. Varios estudios demuestran una mayor prevalencia de la infección por el HPV en las mujeres HIV-positivas frente a las HIV negativas. Desde 1993 se considera el cáncer cervical como una enfermedad que define el SIDA en las mujeres infectadas con el virus de HIV. La supresión de la respuesta inmunológica aparece como un factor de riesgo importante para adquirir la infección por HPV genital así como para explicar la recurrencia y dificultad de extirpación. En los países en desarrollo, incluyendo Mozambique, donde la promiscuidad es elevada, la asociación cáncer y SIDA es frecuente. En los países desarrollados, la presencia simultanea del HPV y HIV, fue demostrada en la población homosexual masculina.

Las tasas más altas de mortalidad se presentan en América central, en África subsahariana y en Melanesia (*Parkin DM, 2000; PATH, 2000*).

Los porcentajes de supervivencia dependen en gran medida del estadio clínico de la enfermedad, siguiendo la clasificación adoptada por la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia (FIGO). En función de la estadificación clínica (además de otros factores) se planifica el esquema terapéutico, que en general conlleva cirugía pélvica radical para estadios precoces y pautas de radioquimioterapia en régimen concomitante para los estadios avanzados.

Al contrario de otros tipos de cáncer, el de cérvix uterino puede prevenirse utilizando tecnologías de detección y tratamientos poco costoso, con el objetivo de detectar tejido anormal en el cuello uterino antes de que se transforme en cáncer invasor. En algunos países desarrollados, donde existen programas de detección de alta calidad y amplia cobertura, la reducción de los casos de cáncer alcanza un 90% (*Gustafsson y col, 1997*).

No se puede decir lo mismo de los países en desarrollo donde la alta incidencia de cáncer cervical puede ser debida a la falta de programas enfocados al diagnóstico precoz de condiciones precancerosas (displasias). Se estima que en estos países solamente un 5% de las mujeres han tenido acceso a exámenes para detectar una displasia cervical, mientras que en los países desarrollados un 40 - 50% de las mujeres se beneficiaron de estos exámenes. Sin embargo, hay múltiples cofactores implicados en la alta incidencia de cáncer de cérvix, siendo ejemplo de estas la actividad sexual precoz, múltiples parejas, la inmunodepresión, tabaquismo (*Rostad B, Schay B, da Costa F, 2001*), la deficiencia hormonal y de vitamina A (*French AL y col, 2000*).

Muchos de los factores biológicos presumiblemente implicados en la carcinogénesis cervical pueden ser identificados mediante distintos procedimientos (técnicas inmunohistoquímicas, FISH, PCR, etc.). Entre estos factores se hallan proteínas vinculadas tanto a la vía de la proliferación celular como la apoptosis, proteínas virales de ciertos tipos de HPV considerados de alto riesgo (HPV-16 y HPV-18, entre otros).

Así, ante la importancia de esta patología que causa alta tasa de mortalidad en mujeres y considerando que en Mozambique, así como en otros países en desarrollo, donde los rastreos para el despiste precoz del cáncer constituyen una práctica ya establecida en los servicios de salud, la doctoranda se propone realizar un estudio que contribuya al pronóstico de la evolución clínica de las enfermas que llegan al hospital con el cáncer de cérvix uterino invasor.

También se propone analizar la expresión de distintas variables biológicas mediante estudio inmunohistoquímico e hibridación in situ, en muestras tisulares de cáncer de cérvix uterino de dos poblaciones distintas (observadas en el Hospital Central de Maputo y en el Hospital del Mar en Barcelona). La descripción del nivel de expresión de dichas proteínas confrontada con las características clínico-epidemiológicas puede dar indicaciones sobre el valor pronóstico del nivel de expresión de las proteínas.

II. EL ENTORNO SOCIOECONÓMICO Y SANITARIO DE LAS ÁREAS DE ESTUDIO

2.1. MOZAMBIQUE

2.1.1. CARACTERÍSTICAS SOCIOECONÓMICAS DE LA POBLACIÓN DE MOZAMBIQUE

Mozambique es un país vasto con una superficie de 799.380 km², situado en la región sur de la costa oriental del continente africano. Se trata de un país con cerca de 18,6 millones de habitantes distribuidos en 11 provincias, limitada al norte por Tanzania, al este por el Océano Índico, al oeste por Zambia, Malawi y Zimbabwe; al sur por Sudáfrica y Suazilandia.

La distribución de habitantes es notoriamente desigual, siendo la capital, Maputo, la que aporta mayor densidad poblacional, debido a la gran afluencia de gente joven en busca de trabajo y de mejores condiciones económicas.

De acuerdo con el censo general, realizado en 1997, la mayoría de la población es gente joven con edad comprendida entre los 15-45 años que constituye cerca del 48%, seguida de individuos con menos de 15 años, constituyendo cerca del 43%. El restante es compuesto de un grupo de individuos entre los 45-64 años. La esperanza de vida al nacer, es de 47.5 para el sexo femenino y de 44.5 para el sexo masculino (INE, 1997).

La tasa de analfabetización es todavía grande y cerca de 48% de la población femenina nunca han frecuentado una escuela.

A pesar de los inmensos recursos naturales, es considerado uno de los países más pobres del mundo y según datos recogidos en 1997 por el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (*PNUD, 1997*), la pobreza absoluta ha alcanzado cerca del 60% de la población. Esta situación muestra que es un país que necesita mejorar bastante su sistema socioeconómico y financiero en todos los aspectos.

Datos del Instituto Nacional de Estadística de Mozambique indican que la población es mayoritariamente rural (73%) asociado con el bajo nivel socioeconómico y solamente el 20% de la población tiene agua canalizada.

2.1.2. CARACTERÍSTICAS DEL SISTEMA DE SALUD DE MOZAMBIQUE

Después de la Independencia Nacional en 1975, Mozambique ha sufrido las consecuencias de la migración brusca de la gran mayoría de los técnicos de salud en los más diversos niveles. Así fue urgente crearse un Servicio Nacional de Salud estructurado para mejorar el uso de los escasos recursos humanos y materiales existentes, y facilitar una buena cobertura asistencial de bajo coste. En 1977, se estableció un Sistema Nacional de Salud, constituido por cuatro niveles de asistencia clínica, los cuales se articulan entre sí de acuerdo con una jerarquía, bien definida y teniendo como base la Atención Primaria en Salud.

Cada nivel de atención tiene sus competencias en términos de asistencia médica y los de niveles III y IV son los más desarrollados en términos de especialidades, recursos humanos y materiales en comparación con los niveles I y II. Los niveles I y II son compuestos por centros y hospitales rurales pero solamente algunos tienen

maternidades y sector de enfermedades de transmisión sexual. En los niveles III y IV están los hospitales provinciales y centrales, con servicio de Ginecología y Obstetricia mejor equipado así como otras especialidades.

El Servicio Nacional de Salud cubre solamente el 50% ó 60% de la población existiendo muchas zonas en el país donde la gente tiene de caminar 10 o más kilómetros para encontrar un centro de salud. Además, aún es evidente la falta de medicamentos, de personal cualificado y de otros recursos financieros. Esta situación fue agravada con la guerra pos.-independencia que duró 16 años y que destruyó gran parte de las infraestructuras socioeconómicas preexistentes en el país. Hoy el sistema de salud en Mozambique es débil y dependiente de donadores externos y de las organizaciones no gubernamentales que ofrecen programas, como es el caso del programa de prevención del HIV/SIDA.

El Servicio Nacional de Salud es casi gratuito, las personas pagan un precio simbólico para su asistencia, pero la medicina tradicional sigue siendo importante y es donde se hace más gastos monetarios. Recientemente se está intentando la cooperación y encuadramiento de la medicina tradicional dentro del Ministerio de Salud para facilitar y mejorar el intercambio con la comunidad y con la calidad de atención sanitaria, pero los resultados aún son sombríos.

En Mozambique aún no se han creado unidades y programas de detección precoz del cáncer de cérvix uterino, con amplia cobertura en la población de mujeres fértiles. Además, las pautas terapéuticas para el cáncer invasor todavía no son las más apropiadas, pues la radioterapia hace más de 5 años que no se emplea y tampoco hay programas eficaces enfocados a diagnosticar condiciones

precancerosas (displasias) y tratarlas antes de que evolucionen en un cáncer invasor. La calidad y cobertura del examen de Papanicolaou son bajas y el nivel de supervivencia en estos pacientes está también agravado por los escasos recursos humanos y materiales disponibles en los hospitales. Algunos casos de pacientes con cáncer que tienen la oportunidad de apoyo familiar o de otras fuentes, procuran la asistencia fuera del país, pero muchas veces no lo terminan debido a los elevados costes de internamiento y tratamiento.

En todo el país solamente hay dos laboratorios de Anatomía Patológica (uno en el Centro de país y otro en el Sur) que sirven de referencia nacional para los exámenes de carácter ginecológico como el caso de Papanicolaou y otros. Los laboratorios no disponen de equipos modernos de diagnóstico y el país no tiene más que cinco Anatomopatólogos. Además, existen técnicos de nivel medio con formación técnica y profesional que apenas los habilita a trabajos de procesamiento histológico de los frotis.

Con el objetivo de prevenir y crear condiciones de tratamiento a nivel de la atención primaria, fue establecido en 1987 un programa nacional de prevención y control de las enfermedades de transmisión sexual (ETS). A pesar del hecho de que el tratamiento es gratuito y de las insistentes actividades de educación sexual, aún se verifican algunos casos de automedicación y de transmisión asociada al hecho de no usarse el preservativo. El número de casos de cáncer de cérvix en mujeres jóvenes menores de 30 años así como las enfermedades de transmisión sexual incluso el SIDA, han aumentado en los últimos años (*DNS, 2001*).

2.2. ESPAÑA

2.2.1. CARACTERÍSTICAS SOCIOECONÓMICAS DE LA POBLACIÓN DE ESPAÑA

España es un país vasto situado en el sur del continente europeo. Actualmente tiene más de 40 millones de habitantes distribuidos en 17 Comunidades Autónomas. Cada autonomía tiene provincias que varían entre 1 y nueve.

Está situada en una zona templada y tiene un total de 580.825 km² ocupando así, cuatro quintos de la península. Limita al norte con el mar Cantábrico, Francia y Andorra; al este con el mar Mediterráneo; al sur con el mar Mediterráneo y el Océano Atlántico; y al oeste con el Océano Atlántico y Portugal.

La superficie de Cataluña es de 31.895 km² y está situada en el extremo nordeste de Península Ibérica, limitando con Francia y el mar Mediterráneo. Está formada por cuatro provincias: Barcelona, Girona, Lleida y Tarragona, contando con 41 comarcas que se distribuyen a lo largo de su territorio.

Según los informes del Índice de Desarrollo Humano (IDH), España ocupa el 21º lugar en el informe sobre el desarrollo humano 2002. La esperanza de vida al nacer es 78.5 años siendo 75 años para los hombres y 82 años para las mujeres. La tasa de alfabetización de adultos es de 97.6% siendo la tasa bruta combinada de matriculación primaria, secundaria y terciaria de 95%.

Los últimos censos ponen de manifiesto las bajas tasas de natalidad y mortalidad y los resultados del último censo de población revelan que la población experimenta un envejecimiento, es decir, el porcentaje de participación del grupo de 65 y más

años de edad aumenta y el número de mujeres supera al de varones con diferencias absolutas que aumentan a lo largo del tiempo (*INE instituto nacional de estadística*).

De acuerdo con la información disponible, en el año 2000, España se sitúa entre los seis países más envejecidos de los quince que forman la Unión Europea, detrás de Italia, Suecia y Grecia que presentan los mayores porcentajes de población de 65 o más años (*Cantalapiedra M, 2002*).

2.2.2. CARACTERÍSTICAS DEL SISTEMA DE SALUD DE ESPAÑA

España es un país en progreso científico de la medicina y con un servicio de salud bien desarrollado. El sistema sanitario en España ha permitido que la población se beneficie de un nivel de salud bueno y el Gobierno ha desarrollado un importante dispositivo asistencial. La infraestructura sanitaria está extendida a grandes sectores de la población, tanto urbana como rural, que permite una adecuada asistencia sanitaria en todos los aspectos de salud.

La normativa referente a la salud pública está atribuida al Ministerio de Sanidad y Consumo, que dispone de una amplia red de centros hospitalarios, dispensarios, laboratorios de salud y de control. Además de definir la política de salud, el Ministerio realiza luchas y campañas sanitarias, atendiendo en sus centros enfermedades no contagiosas (cardiopatías, reumatismo, diabetes, etc.) o enfermedades transmisibles (tuberculosis, lepra, infecciones en general). En estos centros también se dedica preferentemente a la educación sanitaria y a los grupos

con riesgos específicos – infancia, gestantes y también realiza el control de alimentos, medicamentos y productos biológicos.

En la gestión de la salud pública participan igualmente los organismos autonómicos y la administración local (Diputaciones provinciales y ayuntamientos), que asumen responsabilidades concretas, incluido el mantenimiento de un hospital general, una maternidad, un psiquiátrico, equipos quirúrgicos y centros de urgencia.

La asistencia médica de la población está ejercida mayoritariamente por la Seguridad Social, que desarrolla programas de protección social de los enfermos, ancianos y minusválidos.

Uno de los mayores problemas a los que tiene que enfrentarse la Seguridad Social en España es el constante incremento del costo de las prestaciones sanitarias. Estos importantes aumentos del costo de la asistencia sanitaria (médica y farmacéutica) influyen decisivamente en la inflación y otros indicadores económicos del país. En la asistencia médica participa con un colectivo importante: el seguro libre, compuesto por una serie de organizaciones comerciales, mutuales, cooperativas, etc., que ortogan este tipo de prestaciones a los colectivos que voluntariamente suscriben el oportuno contrato o póliza.

En los últimos 20 años, se ha realizado una amplia reforma del sistema de salud con:

- ◆ Potenciación de la asistencia primaria
- ◆ Coordinación de los distintos niveles de prestaciones
- ◆ Adecuación de la estructura del dispositivo a las necesidades reales de la población
- ◆ Participación descentralizada en la gestión de los Organismos Autonómicos, tratando de obtener la mejor relación posible entre los factores costo-eficacia.

En suma, en el campo de la salud, y especialmente en el de la asistencia médica – Medicina preventiva, curativa y de rehabilitación, la Seguridad Social ha realizado una extraordinaria y eficaz labor, creando centros hospitalarios y policlínicos, estableciendo dispositivos regionalizados de asistencia y fomentando la formación de recursos humanos y aplicación y difusión de nuevas técnicas de diagnóstico y de tratamiento.

En España, como en todos los países desarrollados la incidencia y prevalencia del cáncer cervical han descendido bastante desde el conocimiento de los avances en las técnicas de cribado y de educación sanitaria, hecho que aún no se observa en Mozambique ni en otros países no desarrollados. Se trata de un país que tiene una infraestructura organizada en varios niveles, donde los servicios de Anatomía patológica soportan la responsabilidad del diagnóstico.

Los programas de cribado del cáncer de cérvix se extendieron progresivamente desde hace más de 30 años. En la actualidad los programas están integrados dentro del «Plan integral de atención a la mujer» que ofrece cobertura gratuita a las mujeres con edad entre los 35-64 años con atención especial al grupo considerado del alto riesgo con enfermedades de transmisión sexual, promiscuidad etc. (*Ministerio de Sanidad y Consumo, 1998*). Sin embargo, hay un estudio realizado en el año 2000 que indica que sólo un 31,2% de la población diana fue controlada pero el cumplimiento de este programa sigue aumentando ya que la población está respondiendo progresivamente a la oferta y hubo un incremento en relación al anterior año de 1999 (*Dirección General INSALUD. Memoria 2000*).

La mayor parte de los casos del cáncer de cérvix se presentan en la quinta y sexta década de la vida y las lesiones precursoras aparecen preferentemente antes, alrededor de los 35 años, lo que evidencia un prolongado periodo de latencia en la mayoría de los casos.

Según el autor, José AGM y col, (2002), España puede ser considerada área de bajo riesgo de cáncer de cérvix y la probabilidad de que una mujer española desarrolle un cáncer de cérvix antes de los 75 años es de 0,5 a 1%, es decir, una de cada 100 ó 200 mujeres. Por ello la expectativa de encontrar casos por esta enfermedad es pequeña.

PARTE II

▶ **ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA**

▶ **EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER DE CÉRVIX**

▶ **ETIO-PATOGENIA DEL CÁNCER DE CÉRVIX
UTERINO**

▶ **FACTORES DE RIESGO**

Resumen

En este apartado se describe, en reseña histórica, los antecedentes que culminaran con el descubrimiento del cáncer de cérvix uterino, donde se destaca la contribución de William, en 1886, en las primeras descripciones de las características de esta enfermedad; de Schiller (1927) en la descripción de los cambios epiteliales del carcinoma preinvasivo, George N. Papanicolau y Herbert F. Traut, en 1941, con la publicación sobre la importancia de la citología cervico-vaginal en el diagnóstico precoz del cáncer cervical, utilizando una técnica de recolección que después fue perfeccionada por Ayre en 1949 (con el uso de una espátula de madera).

Finalmente se describen los avances más recientes desde la colposcopia, el descubrimiento del HPV hasta los estudios de las oncoproteínas.

A continuación se discute la epidemiología del cáncer de cérvix donde se comenta la incidencia, la edad, las tasas de mortalidad y de supervivencia, en los países industrializados frente a los países en desarrollo. Cuando se considera adecuado se confrontan los datos de Barcelona y de Maputo.

Se discute sobre la etio-patogenia del cáncer de cérvix a través del papel del Virus del Papiloma Humano (HPV) y de otros factores de riesgo como la conducta sexual, los hábitos del consumo de tabaco, infecciones genitales como las ETS, entre otros.

Se hace un breve análisis sobre la asociación entre el HPV y el HIV entre si y con el cáncer de cérvix uterino; Se resumen las características morfológicas del cáncer de cervix, la clasificación de FIGO y las características de los estadios que la definen.

III. ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA

3.1. RESEÑA HISTÓRICA SOBRE EL DESCUBRIMIENTO DEL CÁNCER CERVICAL UTERINO Y SUS METODOS DE DETECCIÓN

La primera descripción e ilustración de un cáncer que crecía sólo en la superficie de cérvix fue demostrado por J. Williams en 1886. Las ilustraciones histológicas en sus investigaciones demostraban un carcinoma in situ creciendo en las glándulas cervicales. Ello enfatizó que los cambios fueron encontrados accidentalmente y permanecían asintomáticos por largos periodos de tiempo (*Kern G, 1968*).

Posteriormente, estudios similares describiendo los estadios iniciales de carcinoma cervical continuaron siendo investigados por Cullen en 1900, Schauenstein en 1908, Pronai en 1909 y Schottlander en 1907. En sus investigaciones, usaron el término «carcinoma superficial» para designar los cambios que observaban en el epitelio adyacente al carcinoma cervical invasor.

En 1910 Rubin clasificó a esta infección de *cáncer incipiente* para nominar el concepto de transformación neoplásica confinada al espesor del epitelio y interpretó esas alteraciones histológicas iniciales del epitelio cervical como lesiones precursoras de carcinoma epidermoide (*Pelea CL, 2003*).

La designación de cáncer, postulado por Virchow, fue primeramente rechazado por otros científicos porque según ellos, no había el crecimiento infiltrativo. Más tarde, en 1923, Robert Mayer clasificó el epitelio maligno de acuerdo con su estructura y grado de maduración.

El número de diagnóstico e interés por esta patología fue creciendo considerablemente en Alemania, después de la introducción de la colposcopia por Hinselmann en 1925 (*Kern G, 1968*).

Walter Schiller en 1927 intentó, a partir de métodos clínicos, reconocer los cambios epiteliales en especímenes operativos por lo cual llamó al carcinoma superficial de preinvasivo. En el año siguiente, 1928, investigó *in vivo* que el epitelio cervical anómalo y carcinomatoso no tenía glucógeno y por lo tanto no se coloreaba con la solución de Lugol: *Test de Shiller*. Esta prueba de Yodo enunciada por Schiller permitió destacar mejor el epitelio anormal facilitando así el diagnóstico de cáncer cervical por la colposcopia (*Sosa MB, 2002*).

En 1932 Broders, basándose en su experiencia en dermatopatología, introdujo el término «*carcinoma in situ*» al describir el cuadro histopatológico de lesiones no infiltrantes adyacentes a zonas de carcinoma invasor y estudió la relación topográfica entre ambas entidades (*Ewing J, 1948; Sosa MB, 2002; Pelea CL, 2003*).

Hasta el momento, la designación de «*carcinoma in situ*», es la que ha permanecido y aceptado internacionalmente para designar estas lesiones caracterizadas por la completa sustitución del epitelio por células anómalas semejantes a las células del carcinoma invasivo.

Con los avances de la ciencia, fue generalmente asumido que el espectro de anomalías del epitelio cervical era mucho más amplio, siendo frecuentes otros cambios epiteliales menos severos que el *carcinoma in situ*.

El diagnóstico de dichas lesiones preneoplásicas de carcinoma cervical tomó nuevo ímpetu con la introducción por George N. Papanicolaou y Herbert F. Traut, en 1940 de nuevos hallazgos citológicos (*Bristow RE y col, 2000*). En 1941, ellos publicaron sus resultados sobre la importancia de la citología cervico-vaginal en el diagnóstico precoz del cáncer cervical (*Broso PR y col, 1993; Vilos GA, 1998*), utilizando una técnica de recolección que después fue perfeccionada por Ayre en 1949 (con el uso de una espátula de madera) y después por Wied en 1959 (con la técnica de triple toma cervicovaginal) (*Viguer JM, 1998*).

La clasificación numérica utilizada por Papanicolaou para identificar hallazgos sobre la evolución del cáncer uterino, permitió a profesionales de distintas especialidades poder practicar la citología y se convirtió en el factor que impulsaría la difusión del método en la década de los cincuenta.

El método fue largamente aceptado en América pero la aceptación en algunos países de Europa (ejemplo en Francia), se retardó algunos años probablemente debido a un miedo de que la citología pudiera substituir la cirugía (*Sicard A. 1996*) y también porque la clasificación Papanicolaou empleaba una terminología no equivalente a la usada en anatomía patológica, imposibilitando así la correlación directa con los hallazgos histopatológicos (*Koprowska I, 1985; Viguer JM, 1998*).

Posteriormente, Reagan en 1953, consagró el término *displasia* ya introducido por Papanicolaou, para denominar las anomalías epiteliales menos severas que el CIS y las clasificó según el grado de compromiso de la capa epitelial por las células atípicas en tres categorías: leve, moderada y grave. Reagan también señaló que la mayoría de estas lesiones, dejadas a su evolución, regresan o permanecen estacionarios por largos periodos de tiempo (*Pelea CL, 2003*).

En 1961, en el Primer Congreso Internacional de Citología celebrado en Viena, se definió mejor el carcinoma in situ y dentro de las displasias se habría que añadir el CIS ya definido (*González MJ y col, 2003*).

Richart y Barron en 1968, basados en sus resultados de un estudio sobre las tasas de progresión de las displasias de leves a grave, propusieron una nueva terminología de las lesiones precursoras con el término de Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC o CIN) para englobar todas estas lesiones con una capacidad de progresión hasta la enfermedad invasora (*Barron BA y col, 1968; Richart RM y col, 1969*).

Esta clasificación ha sido considerada bastante adecuada durante más de 20 años que ha terminado por imponerse en la actualidad.

Ante estas investigaciones, la citología comenzó pronto a utilizarse como medio de detección precoz del cáncer cervical en grandes poblaciones, siendo la más paradigmática la campaña llevada a cabo en la Columbia Británica (Canadá), cuyos resultados permitieron afirmar a Boyes DA, (1969); Boyes DA y col, (1977),

que los programas de detección masiva del cáncer cervical determinan en primer lugar un aumento notable en el diagnóstico de los cánceres invasores en sus estadios iniciales y de sus lesiones precursoras llevando a una disminución en la frecuencia del cáncer invasor. Estos hallazgos han sido confirmados por *Cristopherson WM, (1970)*, en el programa de selección del Condado Shelby (USA) y en otros programas de detección masiva realizados en Europa, especialmente en los países nórdicos (*Kauraniemi T, 1969; Timonen S y col, 1974; Laara F y col 1987*).

En la segunda mitad de los años 70, hubo un nuevo conocimiento sobre la descripción de los efectos citopáticos de la infección por el virus del papiloma humano (HPV) por *Meisels A y cols, (1976), (1977)*. Por otro lado, el esquema clásico de CIN, como no incluía en su espectro las lesiones con cambios secundarios a la infección por HPV, tampoco podría mantenerse con el estado actual de clasificación. Todo ello llevó, en 1988, a la denominada clasificación de Bethesda, en que el término «alto grado» incluye el CIN II y CIN III de la clasificación de Richart; y el término «bajo grado» incluye el CIN I y las alteraciones celulares producidas por HPV. No obstante, esta clasificación fue mínimamente modificada en 1991 (*Editorial Commite of Acta Cytol, 1993; Kurman RJ y col, 1991; Apgar BS y col, 2003*) y actualizada recientemente en 2001 (*Solomon D y col, 2002; Berek JS, 2003; Bergeron C, 2003; Fidra N y col, 2004*).

Aunque esta última clasificación es universal y ampliamente utilizada, no ha sido adoptada en todos los países, como por ejemplo en Inglaterra, dónde utilizan la

nomenclatura «B.S.C.C»; en Alemana dónde utilizan el «sistema Munich»; o en Australia dónde utilizan una modificación del sistema Bethesda (*Pelea CL, 2002*).

Hasta el momento el interés por investigar los problemas de lesiones intraepiteliales y cáncer invasivo sigue teniendo un impacto muy grande en el mundo. Actualmente el problema que se plantea es la educación de las poblaciones y la ejecución de los programas de *screening* que envuelve largas masas para la detección precoz del cáncer de cérvix, particularmente en países en vías de desarrollo donde los recursos socioeconómicos son todavía escasos y limitados, sin olvidar también los tratamientos que aún son controvertidos.

Los avances obtenidos en las dos últimas décadas en la bioquímica, la biología molecular y celular permitirán importantes progresos en la comprensión de los mecanismos involucrados en el desarrollo y progresión del cáncer.

Hoy se dispone de técnicas avanzadas para la identificación de las alteraciones genéticas, epigenéticas y moleculares presentes en diversas neoplasias, de entre ellas la posibilidad de identificación de marcadores biológicos útiles para pronosticar la evolución de las enfermas y aplicar de forma más adecuada la modalidad terapéutica de cada paciente.

Algunos marcadores moleculares de pronóstico ya están siendo incorporados en el manejo clínico para identificar aquellos pacientes con mayor riesgo a la recurrencia y que se beneficiarían con una terapia adicional o más agresiva.

3.2. EPIDEMIOLOGIA

3.2.1. Incidencia

La incidencia del cáncer de cérvix invasor ha disminuido notoriamente en los países o estados en los que se ha realizado detección masiva, mediante citología, en toda la población femenina con riesgo de padecer de esta enfermedad (*De Sanjosé S y col, 2002; Sigurdsson K y col, 1999; Pereira R y col, 1998*).

Al contrario de lo que ocurre en los países desarrollados, la incidencia por esta patología sigue siendo alta en países en desarrollo y en zonas con niveles socio economicos bajos, ocupando así, el primer lugar entre los cánceres ginecológicos en algunos países (*Poccard PMB y col, 2005*). Datos recientes indican que cada año se diagnostican cerca de 500.000 casos nuevos en el mundo (lo que representa el 15% de todos los cánceres de la mujer); el 80 por ciento se registran en países en desarrollo (*Neto AA, 1991; Ferlay J y col, 2001; ACCP, 2000; RHO, 2002*).

España es uno de los países donde la incidencia y mortalidad por cáncer cervical, ha descendido de manera importante en las últimas décadas. Actualmente exhibe una incidencia y mortalidad muy bajas en relación a otros países industrializados (*Sánchez-Seco PH, 2002*). Conforme se ilustra en la tabla 1 la tasa de incidencia de cáncer de cérvix uterino en diversos países de la Unión Europea, durante el periodo 1988-1992, España es uno de los países con las tasas de incidencia más bajas (*Parkin DM y col, 1997*).

Tabla 1 – Tasa de incidencia de cáncer de cérvix uterino, ajustada por edad por 100.000 mujeres.

Diferentes registros de la Unión Europea, periodo 1988-1992

Países	Tasa	ET
Austria, Tirol	17.7	0.96
Belarus	11.2	0.19
Dinamarca	15.2	0.31
Estonia	14.1	0.52
Finlandia	3.6	0.13
Francia	10.3	0.73
Alemania	16.3	0.45
Iceland	6.6	0.90
Irlanda	6.5	0.68
Italia	7.1	0.71
Malta	6.4	1.20
The Netherlands	7.0	0.38
Norway	12.7	0.32
Poland	18.3	0.66
Slovenia	12.4	0.44
España	7.3	0.65
Suecia	8.0	0.17
Switzerland	7.4	0.86
Reino Unido	12.1	0.32

Fuente: Parkin, D.M., Whelan, S.L., Ferlay, J., Raymond, L., and Young, J., eds (1997) Cancer Incidence in Five Continents, Vol. VII (IARC Scientific Publications No. 143) Lyon, IARC, 1997.

Mientras en los países en desarrollo, las tasas de incidencia ajustadas por edad, es cerca de 10 por 100.000 mujeres (*Parkin DM, 1992*), la incidencia de este tumor en España se sitúa entre el 5,7 y el 7,4 por 100.000 mujeres al año (tasas ajustadas a la población mundial). Estas tasas sólo son superadas por Israel (3 a 5,1) y Finlandia (3,6). La máxima incidencia mundial fue registrada en áreas de Sudamérica, como Cali (Colombia) con 48,2 y São Paulo (Brasil) con 35,1 (*Sánchez-Seco PH, 2002*), sureste de Asia, África y este de Europa con tasas de hasta 54.6 en Trujillo Peru, 47.1 en Asunción Paraguay.

Respecto a África, algunos estudios recientes, realizados en Zimbabwe (país vecino con Moçambique) y otro en Guinea Conacry, verificaron que las tasas de incidencia de cáncer de cérvix uterino, fueran altas, con 54 por 100.000 y 46 por 100.000 respectivamente (*Chokunonga E y col, 2000; Koulibaly M y col, 1997*). De acuerdo con Wabinga HR y col, (2000), hay indicios de que las tasas de incidencia están aumentando en algunas regiones de África Subsahariana.

En las ultimas décadas, la incidencia de cáncer invasivo en los países industrializados ha disminuido pero las lesiones preinvasivas han aumentado proporcionalmente. Este fenómeno puede ser explicado en parte por el establecimiento de un programa de detección masivo eficaz y por el uso de nuevas técnicas diagnósticas, tales como test de HPV y cervicografía (*Quinn M y col, 1999; Serrano RO y col, 2004*)

3.2.2. Distribución por Edades

La incidencia de cáncer cervical invasivo es mayor a medida que aumenta la edad de la mujer desde los 35 años, con pico máximo entre los 50 y 60 años (*Giménez JA y col, 2002*). Las lesiones intra epiteliales aparecen antes, de manera que el carcinoma in situ alcanza su máxima incidencia entre los 25 y 35 años (*González MJ y col, 2003*). Sin embargo, en los países en desarrollo donde los programas de cribado son insuficientes y con escasos recursos humanos y materiales, han tenido casos de cáncer invasor con edad inferior a 30 años.

Un estudio de 10.000 frotis de Papanicolaou obtenidos en las clínicas de Ginecología y Obstetricia de Ka-Ngwane, Pretoria y Transkey en Sudáfrica, reveló

que un considerable porcentaje de los casos de cáncer cervical se presentaba en mujeres menores de 40 años (*Lancaster EJ y col., 1999*).

Algunos estudios demostraron diferencias regionales en cuanto a la edad en que existe un mayor riesgo de desarrollar cáncer cervical (*Kaidanek TV y col, 2004; Rahariso CR y col, 2003*); pero en general, este riesgo alcanza su punto más alto alrededor de los 50 años, y en cuanto a la displasia grave el mayor riesgo se presenta alrededor de los 35 años (*Ponten J, 1995*).

3.2.3. Mortalidad

En lo que respecta a la **mortalidad**, es evidente que el cáncer de cérvix alcanza cifras devastadoras, causando muchas víctimas, en especial para las mujeres de los países en desarrollo. La tasa de mortalidad en estos países es de 9,6 por 100.000, dos veces la tasa de los países desarrollados (*Pisani P y col, 1999*). Según Parkin DM, (2000), casi el 40% de las muertes en estos países en desarrollo ocurre en Asia centromeridional, incluyendo Bangladesh, la India, el Pakistán Melanesia; América Central, y en África Subsahariana.

En 1994, la tasa en España era de 2,6 por 100.000 mujeres frente la tasa bruta de 8,4 por 100.000 mujeres en la población mundial lo que representa el 1% de las muertes por tumores malignos y un 0,3% de todas las muertes en las mujeres (*Parkin DM y col, 1992; AETS, 1996*). Actualmente la tasa de mortalidad, entre 25 y 34 años, es de 0,6 por 100.000 mujeres.

Según Sanchez-Seco PH, (2002), la mortalidad por estratos de edad revela que ésta es creciente con la misma, no habiendo casos en edades inferiores a los 25 años. Al grupo etario de 30-34 años le corresponde unas tasas de 1,12 por 100.000 y al de 35-39 de 2,12 per 100.000.

Las Comunidades Autónomas, a principios de la última década de los noventa, la Rioja y Cantabria eran las que presentaban las tasas ajustadas más bajas (2,8 casos por 100.000 mujeres); Asturias (3 casos por 100.000) y Baleares (3,6 casos por 100.000) con las tasa más altas (*Gimeno OA y col, 1993*).

Sin embargo, la tendencia de la mortalidad por este tipo de tumor aumentó ligeramente entre 1975 y 1990 en algunas zonas de Cataluña (*Borrás JM y col, 1994*) pero quizás una de las causas probables de este hecho es resultado de una recalificación de los tumores de útero hecha en estas comunidades, a partir de la cual se produjo dicho incremento. En el resto de España permanece estable.

Las tasas altas de mortalidad por esta patología constituyen un indicador más revelador de su repercusión en las mujeres, sus familias y sus comunidades. En los países donde los programas de cribado son deficientes o el tratamiento muy limitado, casi siempre es mortal si no es detectado en fases precoces. Según Pisani P y col, (1999), en África, Asia y las Islas de pacífico las tasas de mortalidad por cáncer de cérvix uterino se reducirían en al menos un 30% si las mujeres tuvieran acceso a la detección temprana y al tratamiento apropiado igual al de los países desarrollados.

3.2.4. Supervivencia

La tasa de supervivencia con tratamiento adecuado será mejor cuanto más tempranamente se haga el diagnóstico de la enfermedad. Los porcentajes de curación en el carcinoma *in situ* a los cinco años oscilan entre el 95% - 100%; en el estadio I son de 80%, en el estadio II del 60%, en el III del 30-40% y en el estadio IV los porcentajes son muy bajos (*Beral V y col, 1994*). El porcentaje de supervivencia global a los 5 años para todos los estadios es del 65%.

De acuerdo con Sankaranarayanan R y col, (1998) la tasa de supervivencia relativa (estandarizada por edad) más elevada se reveló en los Estados Unidos (65,7%); Europa (61.5%); Tailandia (60.2%) y Cuba (54,4%). Sin embargo, la supervivencia de las pacientes está fuertemente influenciada por el factor socioeconómico, lo que reflejaría la posibilidad de acceso a programas organizados de detección precoz y tratamiento (*Gorey KM y col, 1997; Serman F, 2002*). La menor supervivencia en los países en desarrollo se debe en parte a que la enfermedad, al momento de diagnóstico esté avanzada (*Lewis MJ, 2004*); otro factor relacionado con la baja supervivencia es la alta tasa de abandono de las visitas de seguimiento y los limitados recursos para el tratamiento (*Rogo KO y col, 1990*).

El cáncer cervical se desarrolla lentamente, y su estado precursor es la displasia cervical grave. La displasia cervical de grado inferior casi siempre experimenta un retroceso de manera espontánea o no progresa; asimismo sucede con la displasia moderada, cuando es tratada y seguida (*Holowaty P y col, 1999; Cristchlow CW y col, 1999; Path, 2000*). Estos conocimientos recientes indican que el pronóstico de cáncer de cérvix uterino depende de numerosos factores, siendo el más relevante

el estadio clínico en el momento del diagnóstico; si la enfermedad ya es invasiva, la eficacia del tratamiento declina; si está en fase temprana, el pronóstico es muy favorable.

3.3. ETIO-PATOGENIA DEL CÁNCER DE CÉRVIX UTERINO

3.3.1 Génesis del cáncer

La etiología y la patogenia del cáncer de cérvix uterino, al igual que sucede con otros cánceres, es algo compleja. De una manera general, varios estudios y observaciones hechas en humanos y animales indican que la etiología del cáncer es multifactorial y que la neoplasia es resultado de varias etapas consecutivas:

(i) La primera etapa del carcinogénesis corresponde a la fase de inducción que se caracteriza por la **iniciación** que puede ser debida a diferentes agentes causales como radiaciones, sustancias químicas, virus, etc. que producen alteraciones permanentes y generalmente irreversibles, en cierto número de células del organismo; (ii) La segunda etapa corresponde a la **promoción**, un fenómeno reversible que ocurre consecuentemente a la iniciación del proceso neoplásico complementado por la exposición crónica a diferentes factores promotores y posiblemente se presenta como consecuencia de la alteración de la expresión genética (iii) después sigue la fase de **progresión de la enfermedad**, con crecimiento y multiplicación decontrolada de la masa celular y eventual infiltración de las estructuras donde asienta el tumor y diseminación metastásica del mismo (Américo J 1987; Fagundes H y cols, 1992; Martínez JF y col, 1998).

Además de los factores externos como, por ejemplo, los productos químicos, radiaciones y virus pueden estar implicados factores internos como, por ejemplo, las hormonas, condiciones inmunes y mutaciones genéticas. Estos factores pueden actuar simultáneamente o en secuencia para iniciar o promover la carcinogénesis. Por lo tanto se han planteado tres hipótesis causales para el cáncer: una da preferencia a los factores ambientales; otra considera como principales los factores constitucionales, y la tercera contempla ambos factores.

En los últimos años se ha implicado a los virus del papiloma humano de alto riesgo, en la etiología de las lesiones pre-cancerosas y cáncer cervical (*Hidalgo A y col 2003*). Los virus del papiloma humano más frecuentemente implicados son los tipos 16, 18, 31 y 45, como agentes causales en la transformación tumoral de casi la totalidad de los carcinomas cervicales (*Bosch FX y cols, 1995*).

El virus del papiloma humano (HPV) es probablemente la causa de la mayoría de los casos de cáncer cervical en todo el mundo (*Pisani S y col, 2004; Hernandez - Avila y cols, 1997; Bosch y cols, 1995; Schiffman MH, 1995;*). Un estudio reciente estima que, a nivel mundial, la prevalencia del HPV en los carcinomas cervicales es de un 97,7% (*Walboomers JM y col, 1999*). Aún así, los resultados del estudio longitudinal más prolongado sobre nuevos casos de infecciones por HPV indicaron que en el 90% de las mujeres jóvenes, la infección desaparecía dentro de un período de 36 meses luego de haberla contraído (*Moscicki AB y col, 2001*). Los estudios también sugieren que la persistencia de la infección por HPV de alto riesgo está relacionada con el desarrollo y progresión de las lesiones

intraepiteliales (CIN) y desarrollo de cáncer cervical (*Berkhof J col, 2005; Moscicki AB y col, 2001; Meijer CJ y col, 2000; Burk RD, 1999*).

3.3.2- Historia natural de cáncer de cérvix uterino

En general el carcinoma cervical se inicia en la zona de transición del epitelio escamoso y cilíndrico (círculo escamosocilíndrico), que puede estar situado próximo al orificio cervical externo, pero en otras ocasiones, el carcinoma se inicia en el conducto endocervical, pudiendo pasar desapercibido en la exploración macroscópica con espéculo

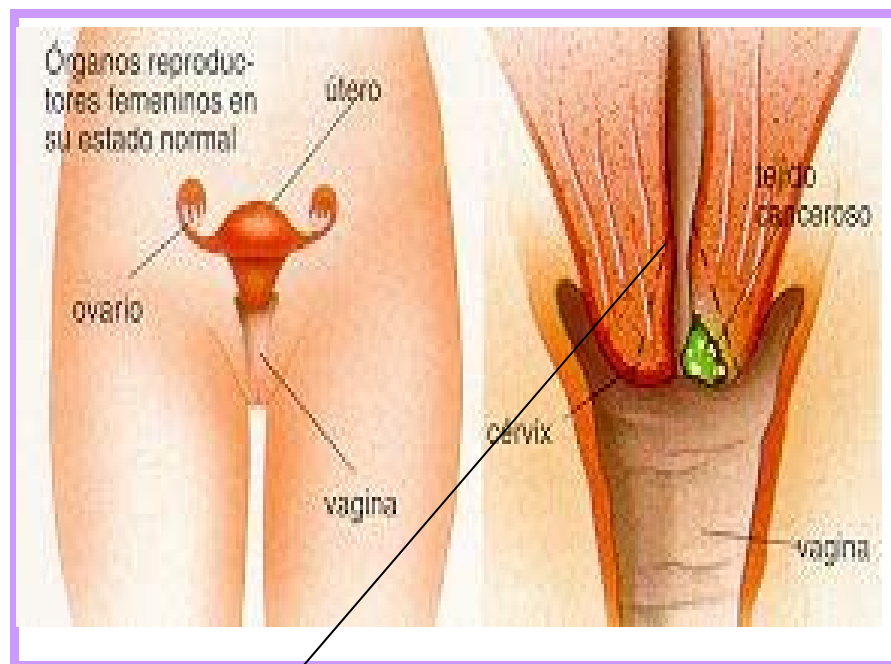
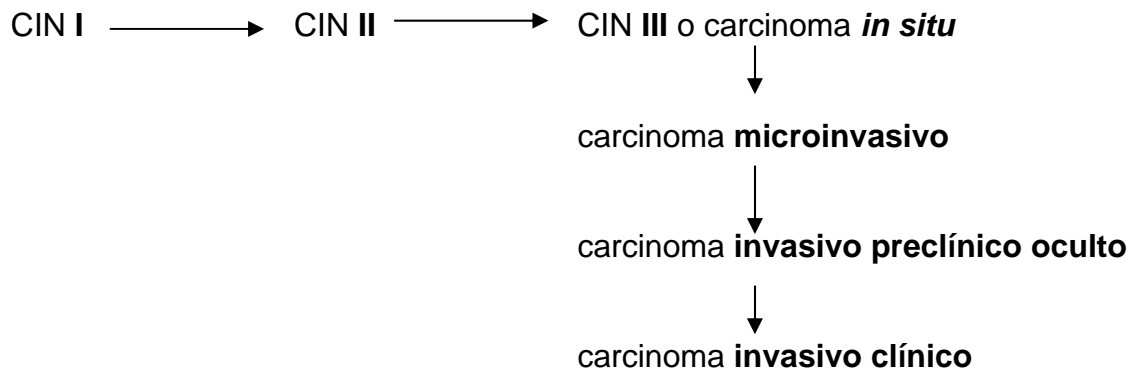


Fig 1: Aparato genital femenino indicando la localización de la unión escamo-columnar

Fuente: S.E.G.O. 2000

Esta enfermedad se inicia con ciertas lesiones del cuello denominadas neoplasia cervical intra-epitelial (CIN/Displasias) que gradualmente se van acentuando hasta que se transforman en carcinoma invasor (*Morales MRC, 2003*).

La secuencia de transformaciones en el cuello uterino, de una forma esquemática, sería la siguiente:



De acuerdo al grosor del epitelio cervical comprometido, el CIN se clasifica en tres grados:

- ▶ CIN grado I (sinónimo de displasia leve). Las alteraciones afectan al tercio inferior del grosor total del epitelio.
- ▶ CIN grado II (sinónimo de displasia moderada). Las alteraciones afectan entre uno y dos tercios del grosor total del epitelio.
- ▶ CIN grado III (sinónimo de displasia grave. Carcinoma *in situ*). Las alteraciones se extienden a todo el grosor del epitelio.

En la última clasificación de Bethesda se considera al CIN I, como CIN de «bajo grado» y el CIN II y CIN III, como CIN de «alto grado».

El tiempo medio que transcurre entre estas transformaciones y el porcentaje de casos que progresará o regresarán es todavía discutible debido a las diferencias en los criterios de admisión, el tiempo de control y métodos de seguimiento y valoración estadística.

Se piensa que la evolución de una displasia incipiente a carcinoma in situ transcurre en tiempo promedio de siete años. La evolución a carcinoma invasivo puede ser alrededor de 10-15 años como se ilustra en la figura 2 (Sánchez-Seco PH, 2002; Bosch FX y col, 2002).

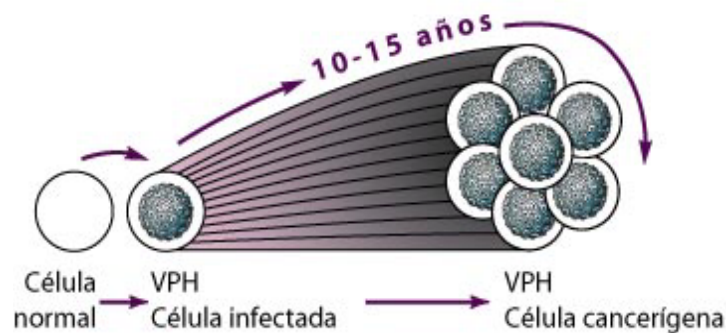


Fig 2: Fases de evolución de una displasia incipiente hacia carcinoma invasivo
Fuente: ECCCE (European Consortium for cervical cancer education. 2004)

De todas formas, distintos estudios prospectivos (Ostor AG, 1993; Baldauf JJ y cols, 1998; Serman F, 2002) consideran que la CIN I regresa a la normalidad en cerca del 60-70% de los casos; mientras que en la CIN III se encontró una tasa de progresión hacia la invasión de aproximadamente 70% y una tasa de regresión de 32%. La CIN II muestra tasas de progresión a carcinoma in situ de 25%, siendo su riesgo relativo de progresión a *carcinoma in situ* de 4,2% (Holowaty P y col, 1999). En general, cuanto mayor es el grado de una lesión, más probable es su progresión (Martín J y col 1995).

La progresión de un tipo de lesión a otro no ocurre de forma rápida ni en la misma proporción. Sin embargo, en ciertas ocasiones, el paso de un estado a otro puede ser mucho más rápido, de forma que en la práctica puede considerarse que desde CIN I se pasa de manera directa a carcinoma invasivo sin pasar por las fases CIN II y CIN III.

Es obvio que la morfología celular per se no es suficiente para determinar la progresión o regresión de las lesiones pre-cancerosas. Actualmente se sabe que la infección por HPV interviene de forma importante en la progresión de las lesiones pre-malignas a cánceres invasores. En una serie de estudios (*Wright TC y col, 1995; Kjaer SK y cols, 2002; Schlecht NF y cols, 2003; Moscicki AB y col, 2004*) se detalló la influencia de HPV sobre la capacidad evolutiva de la neoplasia cervical intraepitelial. Según estos estudios, las lesiones cervicales pre-cancerosas progresan más rápidamente en mujeres con infección persistente de HPV oncogénica que en las mujeres HPV negativas. El estado negativo de HPV fue asociado a la regresión. Estos datos sugieren que la prueba de HPV puede ser útil en la supervisión de lesiones escamosas intraepiteliales de bajo grado (LoSIL).

También se acepta actualmente que el carcinoma invasivo de cérvix uterino puede originarse a partir del epitelio escamoso normal, por proliferación de las células de la capa basal. Se supone que esto ocurre en un 10% de los carcinomas cervicales. Esta forma de transformación ha sido denominada "spray carcinoma de Schiller" y "carcinoma monofásico" (*González MJ, 2003*); aparece en edades más avanzadas y progresa rápidamente.

El adenocarcinoma cervical se origina a partir de las células cilíndricas endocervicales, pero probablemente las células de reserva o células subcolumnares pueden también ser el origen de esta neoplasia. En favor de esta última teoría fue la identificación de células de reserva por debajo del epitelio columnar atípico (*Burghardt, 1973*).

3.4. EL PAPILOMAVIRUS HUMANO (HPV) Y SU RELACIÓN CON EL CÁNCER DE CÉRVIX UTERINO Y OTRAS ENFERMEDADES CERVICALES

3.4.1. TAXONOMIA DEL HPV

Los virus papilomatosos son pequeños con cerca de 55 nanómetros de diámetro, constituidos por una doble hebra circular de ADN (*Viguer JM, 1998*) que debido a las similitudes superficiales en la microscopia electrónica y las propiedades biológicas con el virus de la polio, inicialmente fueron clasificados como siendo de la misma familia.

Sin embargo, los virus papilomatosos (genus A) poseen un cromosoma mayor (7900 en contra de 5200 pares), una mayor cápsula viral (55 versus 44 micrones), y una organización genómica completamente diferente, por lo que se pasó a considerarlos virus como una familia distinta y única.

Todos los virus papilomatosos presentan un molde común de organización genética, en lo que los diferentes tipos han mostrado áreas equivalentes de potencial de codificación de proteínas conocidos como marcos de lectura abierta o "ORFs". La secuencia real de los nucleótidos en estos ORFs o genes virales es muy diferente. Así, los virus papilomatosos se nombran de acuerdo a las especies y se agrupan en tipos de acuerdo con la secuencia de los nucleótidos. En la misma especie, cada nuevo virus que muestra menos de 50% de su secuencia de los nucleótidos igual a otro HPV conocido, se designa como un tipo nuevo y se numera en el orden de su descubrimiento. Los virus papilomatosos humanos son el grupo más grande y asumiendo que el proceso de identificación de un nuevo HPV es continuo, actualmente se han logrado diferenciar alrededor de 130 tipos. El virus es

específico de huésped y cada tipo está relacionado con diferentes procesos morbosos. Así dentro del grupo de los 130, existen 15 a 20 tipos considerados de alto riesgo pero de entre los que causan la transformación tumoral de casi todos los carcinomas cervicales los más frecuentes son: 16, 18, 31, 33, 39, 45, 52 y 58 (*Walboomers JM y col 1999; Goodman A y col, 2000; Ledger WJ y col, 2000*).

3.4.2. VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO Y CÁNCER DE CÉRVIX UTERINO

La infección por HPV es la infección de transmisión sexual vírica más frecuente en la actualidad. Se estima que un 50% de los adultos sexualmente activos, pueden estar infectados por este virus (*IARC, 1995; Palacio V. 2001*). En varios países se ha demostrado que los virus HPV16 y HPV18 son los considerados de alto riesgo, siendo el HPV16 más frecuente en las neoplasias intraepiteliales de alto grado y cáncer invasor (*Bosch FX y col, 1995; Allan H y col, 2001*); mientras que el HPV18 se asocia, con más frecuencia con el adenocarcinoma (*Bosch FX y col, 1995; Stoler MH, 1996; Altekruise SF y col, 2003*).

Más recientemente se ha demostrado que el ADN del HPV 16 es detectado también en mayor proporción en las lesiones cervicales de bajo grado, (cerca de un 30%) y en lesiones subclínicas hasta un 40% inducida por HPV en la vulva y pene y en 10% de los condilomas acuminados, principalmente los recurrentes (*Ailhaud AP, 2003*).

Sin embargo, hay otros tipos de virus, de moderado y alto riesgo, también relacionados con el cáncer de cérvix y otras lesiones anogenitales, que son; HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 70, 73, 82 (*Franceschi S, 2005*).

Se puede resumir la nueva clasificación de HPV oncogénicos en la región genital de la siguiente forma:

Los tipos HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82 son los considerados de **alto riesgo** y con una predilección por las células escamosas del cérvix y vagina (*Stewart WB y col, 2003; Muñoz N y col, 2003; Chen MJ y col, 2005*).

Los tipos HPV 26, 53 y 66 son de **probable alto riesgo**. El tipo de enfermedad asociado con estos tipos de HPV aún no está completamente definido, pero de momento se suele agrupar a estos tipos, al grupo de riesgo intermedio (*Stewart WB y col, 2003; Muñoz N y col, 2003; Lobatón TA y col, 2004*).

Los tipos HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 y CPG 108, son los considerados de **bajo riesgo** y se detectan en lesiones menores de la zona de transformación, o en la Neoplasia Cervical Intraepitelial de bajo grado (*He D y col, 1998; Bachtary B y col, 2002; Stewart WB y col, 2003; Muñoz N y col, 2003*).

La asociación sólida y consistente entre la infección persistente por HPV y el cáncer cervico uterino, constituye en la actualidad uno de los avances trascendentes para comprender la etiología del cáncer (*Erik CT y col, 2000; Bosch*

FX y col, 2002; Stoler MH y col, 2003). En estudios donde se aplicaron técnicas de amplificación de secuencias de ADN, la prevalencia de DNA de HPV en muestras de cáncer cervical invasor fue sistemáticamente superior a 90% (*Walboomers JM y col 1999*). Por lo tanto no hay dudas en cuánto a la implicación del virus del papiloma humano, en la génesis del cáncer de cérvix uterino y lesiones cervicales intra-epiteliales. Varios estudios indican que las lesiones neoplásicas precancerosas y invasoras del tracto genital femenino contienen secuencias de ADN de HPV (*Wallin KL y col, 1999; Luque AE y col, 1999*). Actualmente está establecido que ciertos tipos específicos de HPV juegan un papel esencial en la etiología del cáncer cervical y la persistencia continua al ADN viral y el hecho de que se transcribe activamente en las células pre-malignas y malignas, es altamente sugestivo de su papel en la mantención de la neoplasia (*Ho G F y col 1995; Wallin KL y col 1999; Erik CT y col, 2000*).

Sin embargo, estimaciones recientes sugieren que el tipo viral, la persistencia y/o la recurrencia de la infección por HPV y probablemente la carga viral por unidad celular, constituyen un factor determinante y necesario para la progresión y mantenimiento de la lesión neoplásica de alto grado (*Ylitalo N y col, 2000;; Moscicki AB y col, 2001; Burk RD, 1999*)

3.4.3. OTRAS ENFERMEDADES CERVICALES ASOCIADAS A HPV

Hasta 1995 se conocían al menos trece tipos de HPV que infectan la piel y la mucosa del área anogenital. Estos virus están asociados con modelos específicos de enfermedad.

Los HPV tipo 6 y 11 son fundamentalmente responsables de dos tipos de enfermedad:

- Condiloma acuminado exofítico del tracto genital, benigno, en ambos sexos, particularmente en los genitales externos, el tercio inferior de la vagina, la región perianal y el canal anal
- Papilomas del tracto respiratorio superior en niños

El condiloma es la enfermedad de transmisión sexual (ETS) viral más comúnmente diagnosticada en los Estados Unidos y más fácilmente diagnosticada en todo el mundo, incluso en Mozambique y otros países en vías de desarrollo. Esta infección genital, en Mozambique así como España no es de registro obligatorio como otras enfermedades transmitidas sexualmente y existen pocos estudios poblacionales usando métodos sensitivos de diagnóstico. De los pocos estudios realizados se sabe que el HPV de tipo 6 y 11 son los más importantes agentes etiológicos en esta patología.

Por estar fuera del ámbito de este trabajo, no describiremos la papilomatosis laríngea, un tumor benigno de vías respiratorias, frecuente en niños menores de 7 años, pero merece destacar el hecho de que muchos de los niños que padecen

esta enfermedad, son hijos de madres con historia de infecciones de los órganos genitales (*Manjarrez ME y col, 2003*).

El avance de la tecnología para detectar marcadores de exposición al HPV y la descripción de nuevas familias de HPV, han permitido estudiar la presencia viral en muestras de tejido neoplásico de localizaciones múltiples. En algunas de estas localizaciones se han realizado incluso pequeños estudios de casos y controles. La presencia de DNA viral en los tejidos fuertemente asociados a cáncer de cérvix uterino es muy importante en los tumores del canal anal. Esta localización anatómica incluye una región de transición epitelial semejante a la observada en el cérvix uterino. Algunas comparaciones basadas en registros de tumores han estimado que la incidencia de cáncer de canal anal en varones homosexuales es semejante a la incidencia estimada de cáncer de cérvix en poblaciones no protegidas por programas de cribado.

El cáncer de la vulva de la mujer menor de 50 años está etiológicamente ligado al HPV y presenta morfología basaloide o verrucosa, cursa con lesiones coexistentes de neoplasia intraepitelial vulvar de grado III (VIN III) y presenta los factores de riesgo característicos del cáncer cervical: promiscuidad sexual, edad joven de inicio sexual, antecedente de otras ETS. La histología de estos casos correspondería predominantemente al carcinoma escamoso queratinizante.

El cáncer de pene muestra marcadores virales de HPV en un 70-80% de los casos y el cáncer vaginal en un 40-50% de los casos. Estas estimaciones están en

general basadas en pocos casos, con tecnología de detección viral variable y en la mayor parte de los casos en ausencia de controles adecuados.

Por lo tanto, hay evidencias de la asociación entre las infecciones persistentes por HPV y el cáncer de cérvix uterino y otros órganos genitales como el cáncer de la vagina, de la vulva, canal anal y el cáncer de pene (*Rosemberg SK, 1991; Melbye M y col, 2002*). Gran parte de las investigaciones recientes la acepta como una relación de tipo causal y no casual, responsable de la gran mayoría de los cánceres de cérvix uterino y quizás de la mitad del resto de las localizaciones tumorales (*Schiffman MH y col, 2003; Bosch FX, 2003*).

De forma resumida, se ilustra en la tabla 2 los tipos de HPV y su asociación con las principales enfermedades genitales.

Tabla 2 - Tipos de HPV y su asociación con las principales enfermedades genitales

ENFERMEDAD	Tipos de HPV más frecuentes	Tipos de HPV menos frecuentes
Cáncer de cérvix	16,18	31,33,35,39,45,51,52
Cáncer de la vulva, vagina, pene y anos	16,18	31,33,35,39,45,51,52
Neoplasia intraepitelial del tracto genital	30,34,39,40,53,57,59,62,64,66,67,69	
▶ Bajo grado	6,11	16,18,31,33,35,42,44,45,51
▶ Alto grado	16,18	6,11,31,33,35,39,42,44,45,51
Papulosis Bowenoide	16	31,34,39,42
Verrugas		
Verruga plantar	1,2	4,6,3
Verruga Común	1,2,7,10	3,4,26,27,28,29,41
Verruga Plana	3,10	27,38,41
Condilomas	6,11	30,42,44,45,51,54

3.4.4. Relación entre el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) el cáncer cervical y el virus del papiloma humano (HPV).

Estudios en las mujeres infectadas con el virus de la inmunodeficiencia humana, muestran una alta frecuencia de lesiones intraepiteliales en el cérvix, vagina y vulva, donde probablemente intervienen los virus del papiloma humano (*De Sanjose S y cols, 2000*).

En hombres homosexuales la incidencia de HPV es alta, independientemente de ser HIV positivos (*Silvia S y col, 2002*). En un estudio control realizado en México, donde se estudiaron 40 mujeres HIV positivas y 30 controles, Carrillo A y cols muestran que la infección por HIV aumentaba la expresión de HPV asociado al grado de inmunosupresión.

La asociación entre el cáncer cervical invasor y el HIV es todavía inconsistente debido a la falta de correlación entre el incremento de SIDA y la incidencia de cáncer cervical invasor, observado en algunos estudios anteriormente realizados.

En 1993 a través del Centro de Control de Enfermedad fue incluido el cáncer de cérvix invasor como una forma de SIDA. Desde entonces el porcentaje de casos del SIDA que tenían cáncer de cérvix versus SIDA fue estimado en un 2.3% en la Europa del este, mientras la proporción en países en vías de desarrollo tiende a ser más alta (*Dal Maso L y col, 2001; Serraino D y col 2002*).

Estudios recientes indican que en el año 2001, 23 millones de mujeres en el mundo vivían con HIV y SIDA; la incidencia sigue siendo alta en algunos lugares del

mundo como por ejemplo en parte del Sur y Centro Africano. Parkin DM y col, (2001), hicieron la estimativa diciendo que si el porcentaje de mujeres infectadas por HIV que desarrollan el cáncer de cérvix uterino es de 2,3%, entonces habrá unos 529.000 casos de cáncer cervical entre las personas infectadas por HIV.

Clarke B y col, (2002), hicieron un estudio genético de la asociación entre la infección por HIV y HPV con respecto a la génesis del cáncer cervical. Otros estudios fueron realizados mediante factores inmunes sistémicos y locales así como integraciones virales para explicar este mecanismo (*Dolei A y col, 1999; Southern SA y col 2000; Toy EP y col, 2000*)

De igual modo la prevalencia de infección cervical por HPV es más elevada en mujeres con HIV positivo. Uno de los más amplios estudios de HIV fue realizado por la «Women´s Interagency» (WIHS) en 6 lugares diferentes de cinco ciudades de US donde encontraron una asociación positiva entre las mujeres con HIV positivo y la incidencia de los diferentes tipos de HPV. La incidencia de infecciones de HPV fue mayor entre las mujeres con recuento de células de CD4 bajas. Los tipos de HPV de alto riesgo fueron tres veces más común en las mujeres con CD4 baja, es decir, menor que 200 por mm³ en comparación con las mujeres con CD4 500 por mm³. Mujeres con HIV positivo con CD4 menor que 200 mm³ tienen alto riesgo de desarrollar infecciones por HPV (*Palefsky JM y col, 1999*).

Hay otros estudios similares, como por ejemplo los del Ahdieh L y col, (2000), y Ellerbrock TV y col, (2000), que estudiaron mujeres HIV positivos y HIV negativos comparando con la infección por HPV. En estos estudios los hallazgos fueron los mismos encontrados en estudios anteriores dónde las mujeres HIV positivas tenían

mayor probabilidad de adquirir infección cervical por HPV en comparación con las mujeres HIV negativas.

Sin embargo queda en incógnita saber si en los individuos infectados con el HIV, habrá o no otro factor adicional para la adquisición, reactivación y/o persistencia de infección de HPV.

La IARC evaluó en varios estudios, la asociación HIV con las neoplasias intra-epiteliales cervicales y ha concluido que la relación entre el estado avanzado de infección por HIV con CIN es consistente y no hay dudas que la prevalencia del CIN aumenta en mujeres portadoras de HIV positivo (*Sun XW y col, 1997; Mandelblatt y col, 1999*). Estos autores también realizaron estudios similares y obtuvieron los mismos resultados, habiendo además, concluido que las mujeres infectadas con HIV y HPV muestran disminución de la regresión de lesiones intra-epiteliales de bajo grado y muestran un aumento de progresión de la infección para el CIN.

Las CIN y su asociación con HIV positivo también fueron estudiadas por WIHS y Massad LS y col, (1999), en que encontraron citologías anómalas en el 38.3% de las mujeres HIV positivas comparadas con 16.2% de las mujeres HIV negativas. La lesión de alto grado, bajo grado y células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASCUS) fueron todas significativas en las mujeres infectadas con HIV.

Selik RM y col, (1998), en un estudio realizado en los E.U.A. reportaron mayor riesgo de cáncer de cérvix entre las mujeres HIV positivas. Recientemente Frisch M y col, (2000), en un estudio de cohorte, de 1978 hasta 1996, mostraron un aumento de riesgo para el cáncer de cervix en mujeres HIV positivas cuando comparadas con la población en general. Igual aumento en la magnitud fue observado para el carcinoma *in situ* de cervix (OR = 4.6), vagina, vulva (OR=5.8) y cáncer anal (OR=6.8).

Levi JE y col, (2002), realizaron un estudio en Brasil donde participó un grupo de 208 mujeres seropositivas, usando técnicas de PCR y hibridización, para comparar si había alguna relación con la infección múltiple de diferentes tipos de HPV (genotipos), donde se observó que 98% eran positivas al DNA de HPV. Este estudio también mostró que una alta proporción de mujeres seropositivas en Brasil es infectada con HPV y muchas veces son acompañadas de múltiples genotipos de HPV. Según revela el mismo estudio, un 78.9% de los casos tiene una alta prevalencia de múltiples genotipos de HPV, con una media de 3.1 genotipos por cada paciente. El HPV 6 fue el genotipo más común y observado en 80 mujeres (39.2%), seguida por el tipo 51 (31.9%), tipo 11 (26.0%), tipo 18 (24.0%) y tipo 16 (22.5%).

A pesar de que los autores anteriormente citados, describieron correlación entre el HPV y el HIV, algunos estudios siguen sin mostrar un aumento en la incidencia de cáncer de cérvix invasivo en asociación con el HIV. Por ejemplo, Thomas y col, (2001), han estudiado en Tailandia un grupo de 251 mujeres trabajadoras de sexo y no encontraron un aumento de riesgo por infección de HPV por tener HIV. El

riesgo de lesiones de alto grado fue el doble en mujeres infectadas con ambos virus HIV y HPV, comparadas con las mujeres no infectadas por el HIV negativo con HPV positivo y 20 veces más alto que en mujeres no infectadas por cualquiera de los dos (HIV y HPV).

De igual modo, en el año 2000, el grupo de la Colaboración Internacional en HIV y cáncer publicó datos de cáncer recogidos de 23 estudios prospectivos que incluían 47.936 mujeres de América de Norte, Europa y Australia, infectadas por HIV en el periodo de 1992-1999, donde no encontraron cambios significativos en la incidencia de cáncer de cérvix invasivo, durante ese periodo.

La evaluación del IARC, en 1996, con respecto a la asociación HIV con cáncer de cérvix invasor ha concluido que no hay evidencia de un aumento significativo en la incidencia de cáncer de cérvix invasor como una consecuencia de epidemia de HIV. La poca supervivencia de la población afectada o los avances de los programas de cribado activo entre las mujeres infectadas fueron las posibles explicaciones.

Sin embargo, la relación entre HIV y cáncer de cérvix uterino probablemente varía de país a país y depende de varios factores de riesgo preexistentes. Por ejemplo estudios realizados en algunos países Africanos (Ruanda, Sudáfrica y Uganda) también concluyeron que el cáncer de cérvix invasivo (ICC) no está relacionado con la infección por el HIV (*Newton R y col, 2001*), mientras recientes estudios en Sudáfrica identificaron 167 casos de ICC entre 1323 mujeres infectadas por HIV. De igual modo, otro estudio hecho sobre el HPV relacionado con el cáncer vulvar,

ha indicado un aumento de cáncer entre las pacientes infectadas, cuando fueron comparadas con el grupo de control hospitalario (*Sitas F y col, 2000*).

Gichangi P y col, (2002), han explorado la asociación entre la prevalencia del HIV con ICC en mujeres con lesión maligna en el tracto reproductor previamente diagnosticado en el hospital Nacional Kenyatta. Los autores no encontraron cambios en la proporción de mujeres con ICC durante el periodo de 1986 -1998 ni en la proporción de mujeres con lesión maligna que tenían HIV positivo. Además las mujeres HIV positivas que tenían cáncer cervical eran significativamente más jóvenes que las HIV negativas.

En la Europa del Sur se encontró una gran asociación entre ICC y SIDA, al contrario del Norte de Europa. Estudios hechos en Italia en los registros de SIDA en los años 1993 y 1995, la frecuencia de ICC como una forma de SIDA era aproximadamente tres veces mayor que entre mujeres infectadas por medio del contacto heterosexual. Según Franceschi S y col, (1998), los registros nacionales de SIDA y registros de la población del cáncer enseñaron un aumento significativo de 15 veces más el riesgo del cáncer de cérvix en mujeres con SIDA. En 1999, también fueron hechos estudios prospectivos de HIV positivo en conjunto con Italia y Francia, donde encontraron un aumento 13 veces más alto de riesgo del cáncer de cérvix entre las mujeres infectadas con SIDA (*Serraino D y col, 1999; Vall Mayans M y col, 2000*).

Las diferencias de la magnitud de riesgo de ICC en E.U.A y Sur de Europa se pueden explicar por las diferentes políticas de screening o selección de cáncer de

cérvix. En los Estados Unidos mujeres seropositivas con alto riesgo de desarrollar ICC son las que tienen acceso a cuidados médicos y que por lo menos han tenido oportunidad de participar en la citología cervical y en los programas de cribado. El riesgo relativo es alto en países como España donde no hay población de cáncer de cérvix basada en programas de cribado. Eso también debe ser notado que el riesgo relativo es influenciado por el conocimiento previo sobre el riesgo de la enfermedad en la población en general. Algunos casos de alto riesgo relativo asociado con la infección de HIV en España e Italia, comparado con los Estados Unidos pueden reflejar el alto conocimiento del riesgo de cáncer en el futuro (*De Sanjosé S y col, 2002*).

En suma, la asociación del HPV con lesiones malignas es alta en personas infectadas por HIV y el DNA viral de HPV es comúnmente detectado en mucosa genital de las mujeres seropositivas. La prevalencia de la infección es generalmente mucho más alta cuando es comparado con el grupo de mujeres seronegativas o con características sociodemográficas similares. Eso puede ser explicado por un sistema inmunológico fracasado de las personas con HIV que permite una alta carga viral de HPV y posterior persistencia de la infección, asociado con un aumento de riesgo de desarrollar la neoplasia cervical.

Individuos que practican actividad sexual no-protégido tienen un riesgo combinado de contraer la infección por HIV y HPV al mismo tiempo, visto que estos virus pueden tener un modo común de adquisición.

La supresión de la respuesta inmunológica aparece como un factor de riesgo importante para adquirir la infección por HPV genital así como para explicar la recurrencia y progresión para el cáncer de cérvix uterino u otro cáncer anogenital masculino como femenino.

En Mozambique las infecciones con el virus de inmunodeficiencia humana así como las manifestaciones del SIDA representan una de las infecciones de transmisión sexual más comunes y con tendencia a aumentar a lo largo de años. Existe una fracción considerablemente alta de mujeres infectadas por este virus donde el varón puede ser portador y vehículo de la infección. Es común, particularmente en las zonas rurales, que el varón joven vaya a trabajar a minas de Sudáfrica, lejos de la familia, donde permanece 2 ó 3 años como forma de organizarse económicamente. Durante su permanencia en ese lugar, entra en contacto con prostitutas u otra pareja transitoria. Ante esa promiscuidad, muchos jóvenes regresan al País infectados con el virus del HIV u otras enfermedades de transmisión sexual y que después transmiten a su pareja. Es sabido que los órganos genitales de la mujer constituyen un buen receptáculo o reservorio del semen que cuando es infectado difunde el virus a través de los vasos sanguíneos, linfáticos o por continuidad para el sistema periférico. Además, durante el coito son frecuentes las laceraciones en las áreas de vulva y vagina donde la diseminación puede ocurrir.

Algunos autores refieren que la alta incidencia de manifestaciones clínicas de HPV/HIV y consecuente cáncer de cérvix en la mujer puede ser explicado por la

historia natural del virus que tiene predilección por las mucosas (*Sanclemente G, 2003; Massad LS y col, 2004; Branca M y col, 2004; Strickler HD y col, 2005*).

3.5. COFACTORES DE RIESGO ASOCIADOS AL CÁNCER DE CÉRVIX UTERINO

Varios estudios demuestran que hay otros factores adicionales en la etiología del cáncer de cérvix, tales como: ciertos patrones de actividad sexual y el tabaquismo (*Brinton LA, 1992; Biswas LN y col, 1997; Prokopczyk B y col, 1997, Roteli-Martins y col, 1998; Kjellberg L y col, 2000; Moscicki AB y col, 2001*), anticoncepción hormonal (utilización prolongada de anticonceptivos orales), la paridad, la inmunosupresión, algunas infecciones de transmisión sexual como la *Chlamydia trachomatis*, el virus Herpes Simple y las *Trichomonas Vaginalis* también pueden estar relacionadas con el aumento del riesgo de desarrollar cáncer cervical (*Zhang ZF y col, 1995; Anttila T y col, 2001; Zenilman JM, 2001; Moscicki AB y col, 2001*).

Seguidamente se hacen algunos comentarios de cada uno de estos factores.

3.5.1. Conducta sexual

Desde hace tiempo, se sabe que el cáncer de cérvix uterino, así como las lesiones precancerosas que lo preceden, está asociado a las relaciones sexuales; es excepcional su aparición en mujeres vírgenes (*Buckley y col, 1981*) y máxima en prostitutas (*Thomas DB y col, 1996; Lobotón AT y col, 2004*). Hoy se sabe que son factores de riesgo de este tumor maligno, el inicio precoz de las relaciones sexuales y la presencia de múltiples compañeros sexuales (*Brinton LA y col, 1992; Biwas LN y col, 1997*). Se cree que la asociación con el número de hijos está ligada a un inicio más precoz de la actividad sexual.

Además, la actividad sexual del varón es un importante factor de riesgo, pues las mujeres cuyas parejas sexuales tienen múltiples compañeras tienen un mayor riesgo de desarrollar el cáncer de cérvix uterino (*Buckley y col, 1981; Zunzunegui MV y col 1986; Wang PD y col, 1996; De Sanjose S y col, 1997*).

La conexión con el varón está reforzada por los estudios que encuentran relación entre la incidencia de cáncer de pene y de cuello de útero, y un riesgo doble de cáncer cervical en mujeres casadas en segundas nupcias con varones cuya primera esposa había fallecido por esta enfermedad (*Brinton LA y col, 1992*).

Hace 2 años, la doctoranda participó en Maputo, en un estudio caso-control de base hospitalaria (*Rostad B, da Costa F, 2003*), donde se estudiaron 113 mujeres con cáncer cervical y 120 controles. El estudio demostró que mujeres con historia de múltiples compañeros sexuales tenían mayor riesgo de cáncer cervical en relación a las mujeres con solamente uno $OR=57$; {95%IC (2.1 – 15.6)}.

Las mujeres con historia de inicio de actividad sexual con edad igual o inferior a los 15 años, también presentaron mayor riesgo frente a las que las tenían más tarde {(OR=4.0; 95%IC (2,0 – 5.4)}.

3.5.2. Infecciones

La relación del cáncer de cérvix uterino con la conducta sexual hace que se busque un microorganismo transmisible que fuera el desencadenante del proceso neoplásico. En este sentido, diversos estudios han encontrado una mayor

frecuencia de infecciones de transmisión sexual como factor de riesgo, aunque se piensa que la asociación se debe a la exposición a factores comunes (*Li-Hui Q y col, 2000; Kjellberg y col, 2000; Wen y col, 1999*). De acuerdo a lo descrito en el capítulo anterior, entre los gérmenes que se han estudiado más intensamente y que se relacionan con el proceso neoplásico están los virus, en particular el HPV. En la actualidad, la infección por el virus de papiloma humano es considerada la enfermedad de transmisión sexual más común en ambos los sexos (*Bosch FX y col, 1997; Lazcano-Ponce E y col 2001*)

Sin embargo hay otras enfermedades de transmisión sexual (ETS), particularmente aquellas asociadas con cervicitis aguda como *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoea*, y aún *Gardnerella vaginalis* o *Trichomonas vaginalis*, que pueden aumentar la susceptibilidad para la infección por HPV genital (*Koskela P y col, 2000; Antila T y col, 2001; Zenilman JM, 2001; Molano M y col, 2003; Moscicki AB y col, 2001*). La asociación frecuente de patógenos normales comunes, como *Candida albicans* y la *Trichomonas vaginalis* pueden simplemente reflejar la supresión inmunológica en el epitelio genital que parece ser inducida por el HPV (*Viikki M y col, 2000; Ailhaud AP, 2002*).

3.5.3. Anticoncepción hormonal (utilización prolongada de anticonceptivos orales)

La relación entre la utilización prolongada de anticonceptivos orales y cáncer invasor de cérvix, es controvertida. De hecho, algunos estudios demostraron un aumento del riesgo (*Brinton LA y col, 1990-1991; Parazzini F y col, 1998; Ljuca D y col 2000; Moreno V y col, 2002*), otros refieren que solamente tuvieron un importante efecto de protección (*Moscicki AB y col, 2001*), mientras que otros no

encuentran ningún efecto sobre las mujeres de ese estudio (*Peters RK y col, 1986; Irwin KL y col, 1988; Coker AL y col, 1992; Kjellberg L y col, 2000*). Las pacientes que toman anticonceptivos orales tienen un mayor riesgo de carcinoma *in situ* que las personas que nunca los tomaron. El efecto es de difícil valoración y, si existe, es débil. Para estudiar el uso de la píldora anticonceptiva, es necesario ajustar el comportamiento sexual y poder controlar el riesgo de exposición al HPV, que es una tarea difícil de alcanzar.

3.5.4. Multiparidad

Hay varios estudios previos que han descartado la paridad como factor de riesgo de cáncer cervical. Estos, han demostrado que el riesgo aumenta con el número de partos por vía vaginal. Por ejemplo Frias M y col, (1999), en un estudio de casos y controles, encontró un riesgo relativo de 6.5 para las mujeres con embarazos en relación con las nuligestas y de 2.4 para las que tenían historia o no de partos. A pesar de no existir ninguna explicación definitiva para este fenómeno, se cree que la inmunosupresión del embarazo, los traumatismos obstétricos repetidos principalmente en el labio anterior del cérvix aumentan la susceptibilidad a la infección por HPV.

En el embarazo frecuentemente se ve un crecimiento rápido en el número y tamaño de los condilomas, lo que sugiere que el estrógeno materno permite la replicación viral. Se han detectado grandes cantidades de DNA viral en las muestras citológicas de mujeres embarazadas en comparación con las no embarazadas.

A pesar de haber algunos estudios contradictorios al respecto deste tema, varios autores son unánimes en considerar la multiparidad como factor de riesgo importante para contraer la enfermedad (*Kjellberg y col, 2000; Muñoz N y col, 2002; Lobatón TA y col, 2004*)

3.5.5. Tabaquismo



Varios autores han invocado el tabaquismo como un importante factor de riesgo para el desarrollo de neoplasia cervical (*Winkelstein W, 1990; Lee LH, y col, 2003; Coker AL, 2002*). Productos del cigarrillo, como la cotinina, nicotina y otros mutágenos vehiculados por el humo, pueden ser encontrados en altas cantidades en el moco cervical de las fumadoras (*Holly EA y col, 1986; Schiffman MH y col, 1987; Hakama M y col, 2000*) y que estos pueden dañar el ADN del tejido y inhibir la presencia de antígenos por parte de las células de Langerhans, evitando posiblemente el reconocimiento del HPV por el sistema inmune local (*Kjellberg L y col, 2000; Yepes HC, 2003*).

Algunos estudios de caso-control soportan claramente la asociación directa entre el fumar cigarrillos con a la progresión de infección genital inducida por el HPV (*Plummer M y col, 2003*) y otros sugieren una relación entre el riesgo de cáncer cervical y la duración e intensidad del hábito (*Grenberg ER y col, 1985*). Según Serrano RO, (2004), afirma que en promedio se considera que las fumadoras tienen el doble riesgo de lesión intraepitelial con respecto a las no fumadoras.

Sin embargo, (*Olsen AO y col, 1995; Schiff M y col, 2000*), no encontraron una asociación directa del cigarrillo con lesión intraepitelial cervical.

En resumen, la asociación entre tabaco y cáncer de cérvix uterino aún se cuestiona, aunque estudios recientes sugieren una relación, tanto para el carcinoma invasor como para el carcinoma *in situ*.

3.5.6. Inmunosupresión

La supresión de la respuesta inmunológica es considerada como un factor de riesgo crucial para adquirir la infección por HPV genital, así como para explicar las recurrencias o la persistencia del virus hasta el cáncer de cérvix uterino (*Launay O y col, 2003, Nobbenhuis MA y col, 1999; Remmink AJ y col, 1995*).

En los pacientes con inmunosupresión, tanto congénita como adquirida, se ha demostrado una mayor incidencia de cáncer de cérvix uterino, y lesiones precursoras. Igualmente, se ha comprobado que hay alteraciones de la inmunidad general y local en pacientes con lesiones intra epiteliales (*Ellerbrock y col, 2000; Ahdieh y col, 2000*). Se desconoce la naturaleza exacta de esta asociación, y si es causa o consecuencia de propio proceso neoplásico, si puede participar en la evolución de la lesión intraepitelial, o en el control del proceso invasor.

La supresión inmunológica sistémica en enfermos con patologías como el Hodgkins, la leucemia y enfermedades vasculares del colágeno, pueden estar asociadas con infección recurrente y persistente de HPV. La inmunosupresión

médica como en el caso de los pacientes con transplantes es un importante factor de riesgo.

Varios estudios (*Sobhain I y col, 2004; Einstein MM y col, 2004; Stadler RF y col, 2004; Ferenczy A y col, 2003; Klencke BJ y col 2003*) asocian la inmunosupresión de las pacientes HIV-seropositivas con la adquisición de infección por HPV y posterior progresión para el cáncer de cérvix, vulva, vagina o ano. También ha sido demostrada en la población homosexual masculina la alta incidencia de cáncer anal asociado a HIV (*Goldstone S y col 1999; Frisch M y col 2003; Wilkin TJ y col, 2004; Chin-Hong PV y col, 2004; Picketty y col, col 2004*).

3.6. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL CÁNCER DE CÉRVIX UTERINO

Las características morfológicas de cáncer de cérvix uterino, se puede abordar bajo su punto de vista macroscópico y microscópico.

3.6.1. Característica macroscópica del cáncer de cérvix uterino

El cáncer de cérvix uterino en sus fases iniciales puede no causar síntomas y no posee características macroscópicas específicas que permitan el diagnóstico a la simple inspección. En esta fase preclínica, el diagnóstico solamente se puede hacer mediante la citología exfoliativa, la colposcopia y la biopsia.



Fig.3- Durante el examen pélvico puede usarse un dispositivo especial llamado colposcopio
Fuente: S.E.GO. 2000

En su forma precoz puede aparecer como una eritroplasia, es decir, como una mancha roja de extensión variable, próxima al orificio cervical externo. La zona roja suele tener una superficie de aspecto granular o ulcerado, con gran vascularización y que sangra con facilidad al roce.



Fig.4- Carcinoma cervicouterino invasor incipiente

Fuente: S.E.GO. 2000

Los cánceres más avanzados pueden ser exofíticos, endofíticos o una combinación de ambos, conforme se ilustra en las figuras 5,6 y 7.



Fig.5- Carcinoma cervicouterino invasor: variedad exofítica

Fuente: S.E.GO. 2000

La **variedad exofítica** es la más frecuente (63%). En general invaden la superficie, y la mayor parte de su masa se proyecta hacia la luz vaginal, adoptando

un aspecto vegetante, similar a una coliflor, con excrecencias polipoideas o papilares. Estas masas son friables y con frecuencia se necrosan.



Fig.6- Carcinoma cervicouterino invasor: variedad endofítica

Fuente: S.E.GO. 2000

La **variedad endofítica** corresponde el 36% de los tumores de cérvix. Estos, infiltran profundamente el estroma, distorcionando el cuello uterino y forman zonas induradas o nódulos en la superficie. El aspecto de cuello se queda aumentado de tamaño, irregular y en forma de barril. Este tipo de cánceres pueden mantenerse asintomáticos durante mucho tiempo.



Fig.7- Carcinoma cervicouterino invasor avanzado, con crecimiento proliferativo ulcerante.

Variedad combinada de exofítica con endofítica. Fuente: S.E.GO. 2000

En la **variedad combinada de exofítica y endofítica** generalmente están ulcerados, con infiltración profunda del estroma subyacente.

En todos los tipos, suelen sangrar con facilidad al roce y con frecuencia se necrosan.

En lo que concierne a la localización, el carcinoma escamoso y adenocarcinoma suelen tener una localización mixta, es decir, ectocervical y endocervical. La localización solamente endocervical es más frecuente y característica del adenocarcinoma. Sin embargo, la edad de la mujer puede tener cierta influencia, pues, ya se sabe que el carcinoma inicia su crecimiento en la zona denominada *círculo escamosocilíndrico* y esta zona en la mujer sexualmente activa suele ser ectocervical, mientras que en la mujer posmenopáusica generalmente se sitúa dentro del conducto endocervical.

3.6.2. Característica microscópica del cancer de cérvix uterino

Existen diversas clasificaciones histológicas del carcinoma cervical pero en la actualidad se consideran tres tipos fundamentales conforme se ilustra en la tabla abajo.

Tabla. 3.- VARIEDADES HISTOLÓGICAS DEL CARCINOMA DEL CÉRVIX

- | | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS O EPIDERMOIDE (60-80 %) <ul style="list-style-type: none"> Queratinizante No queratinizante Verrugoso Condilomatoso Papilar Similar a linfoepitelioma | <ul style="list-style-type: none"> • ADENOCARCINOMA (15 %) <ul style="list-style-type: none"> Mucinoso De tipo endocervical De tipo intestinal Endometrioide De células claras Seroso Mesonéfrico |
| <ul style="list-style-type: none"> • CARCINOMA ADENOESCAMOSO (10.4 %) | |
| <ul style="list-style-type: none"> • OTROS (1.4 %) <ul style="list-style-type: none"> Carcinoma de células vítreas Carcinoma quístico adenoideo Carcinoma basal adenoideo Tumor carcinoide Carcinoma de células pequeñas Carcinoma indiferenciado Leiomioma Sarcoma botrioides (rabdomyosarcoma embrionario) Adenosarcoma Tumor mixto maligno de origen mülleriano Tumor de Wilms Melanoma maligno Linfomas y leucemias Tumores germinales Carcinoma secundario por extensión directa o metástasis | |

Fuente: R Bonfiglio T, Kurman R. Histological typing of female genital tract tumors Segunda edición 1994 Berlin, Springer-Verlag.

El carcinoma de células escamosas constituye la forma histológica más frecuente del tumor maligno del cuello, representando más del 75% en la mayoría de las

estadísticas. Sin embargo, en algunos estudios encontraron un número considerable de casos que alcanzan hasta el 78,9% (*Benedet JL y col, 2001*); 83,8% (*Shingleton HM y col, 1995*).

En los países en desarrollo, entre el 90 y 95% de los cánceres invasores originarios del cuello uterino, corresponden histológicamente a carcinoma de células escamosas y entre el 2 y 8% son adenocarcinomas (*IARC, 2005*).

En algunos países desarrollados, como por ejemplo: Estados Unidos, Canadá, Francia, en los últimos años hubo un número creciente de adenocarcinomas cervicales que afectan a mujeres jóvenes entre los 30 y los 40 años de edad (*González MJ y col, 2003; Berek JS y col, 1998*).

3.6.3. Características clínicas del cáncer de cérvix uterino

La primera manifestación del cáncer de cérvix invasor puede ser un manchado provocado por un coito, por un lavado vaginal o por una exploración ginecológica, con tendencia a incrementarse en forma de hemorragia intermenstrual si la mujer no es aún menopáusica. Posteriormente puede aparecer una hemorragia intermenstrual más abundante.

El flujo es el segundo síntoma en orden de frecuencia y habitualmente son pérdidas vaginales serosanguinolentas o amarillas particularmente en lesiones necróticas más avanzadas. Estas pérdidas pueden tener olor fétido y estar entremezcladas con una hemorragia profusa. En caso de hemorragia crónica las pacientes pueden quejarse de fatiga u otros síntomas relacionados con la anemia.

Otro signo que puede estar presente es el dolor, el cual se localiza normalmente en pelvis o hipogastrio. Suele deberse a necrosis del tumor o a enfermedad inflamatoria pélvica. Si la paciente refiere dolor en región lumbosacra hay que pensar en la posibilidad de que estén afectados los ganglios linfáticos peri-aórticos y raíces lumbosacras. Ocasionalmente puede existir dolor epigástrico debido a metástasis en ganglios linfáticos peri-aórticos altos. En estadios más avanzados pueden aparecer síntomas urinarios y rectales, como consecuencia de la invasión neoplásica en vejiga o recto. En esta situación puede haber tenesmo, mucorrea, hematuria o rectorragias, además de los síntomas generales, y caquexia.

ESTADIAMENTO

El uso de imágenes no invasivas en el estadiamento del cáncer de cérvix uterino es un tema aún controversial. La FIGO limita los métodos de imagen a RX de tórax; urografía endovenosa y a clister opaco. El estadiamento del cáncer de cérvix uterino se basa fundamentalmente en una evaluación clínica.

La clasificación adoptada desde 1994 por la FIGO es la siguiente:

Estadio 0	Carcinoma in situ o neoplasia intraepitelial cervical de grado III (CINIII)
Estadio I	Carcinoma limitado al cuello uterino (la extensión del cuerpo uterino no debe tenerse en cuenta)
IA	Carcinoma con invasión de la estroma que sólo puede ser diagnosticada con el microscopio. Toda invasión macroscópicamente visible (incluso con invasión superficial) será clasificada en el estadio Ib
IA1	Invasión de la estroma no superior a 3mm en profundidad y extensión horizontal no superior a 7mm
IA2	Invasión de la estroma mayor de 3mm y no superior a 5mm en profundidad. Extensión horizontal no superior a 7mm
IB	Lesión clínicamente visible limitada al cuello uterino o cáncer preclínico de dimensiones superiores al estadio IA
IB1	Lesión clínicamente visible no superior a 4cm
IB2	Lesión clínicamente visible superior a 4cm
Estadio II	Carcinoma cervical que se extiende fuera del útero, pero sin llegar a la pared pélvica ni al tracto inferior de la vagina
IIA	Extensión a la vagina sin llegar al tercio inferior. Parametrios libres de lesión
IIB	Parametrios invadidos sin llegar a la pared pélvica
Estadio III	Extensión del Carcinoma hasta la pared pélvica o atinge el tercio inferior de la vagina. Todos los casos con hidronefrosis o anulación funcional de un riñón debe incluirse en este estadio, a menos que se sepa que es debido a otras causas
IIIA	Extensión al tercio inferior de la vagina pero no a la pared pélvica
IIIB	Extensión a la pared pélvica. Si existe hidronefrosis y/o riñón no funcional debido al carcinoma, aunque por otros datos hubiera de incluirse en los estadios I o II, debe clasificarse como estadio IIIB
Estadio IV	Extensión fuera de la pelvis o invasión de mucosa vesical o rectal. El edema bulloso no permite, por si mismo, incluir el caso como estadio IV
IVA	Extensión a órganos adyacentes
IVB	Extensión a órganos distantes

La realización de un TAC y/ o RMN puede ayudar a plantear el tratamiento pero no es suficiente para el estadiamiento. Además la FIGO ha mantenido que el estadiamiento tiene como objetivo único la comparación de los resultados y no para la orientación terapéutica. Así, el estadiamiento FIGO es utilizado para a estratificación de las pacientes, siendo los hallazgos obtenidos por el TAC, RMN, laparotomía y/o laparoscopia utilizados para sub-estratificar opciones terapéuticas.

3.7. Prevención primaria del cáncer de cérvix uterino

Si bien la prevención primaria de la infección por HPV reduciría considerablemente los índices de mortalidad por cáncer cervical, prevenir su transmisión presenta más desafíos que la mayoría de las enfermedades de transmisión sexual. La infección por el HPV, por lo general, es asintomática y fácilmente transmisible. El virus puede existir en gran parte en el área anogenital (incluyendo las áreas que el preservativo masculino no cubre). Si bien existen estrategias para el tratamiento de las verrugas genitales ocasionadas a veces por el HPV, pero no existen terapias que eliminen la infección subyacente (*Koutsky e col, 1999*).

Aún no existe certeza de que los métodos de barrera para la protección contra las enfermedades de transmisión sexual sean efectivos para proteger a las mujeres del cáncer cervical. Varios estudios han demostrado que los métodos de barrera ofrecen protección (*Thomas DB y col, 1996, Grimes et al., 1995; Coker y col, 1992*). Uno de estos estudios concluyó que el uso del preservativo reduce de manera significativa el riesgo de verrugas genitales y otras enfermedades de transmisión sexual como las infecciones por clamidia, gonorrhoea, herpes simples,

sífilis (*Wen y col, 1999; Holmes KK y col, 2004*). Otros estudios no han encontrado ninguna relación entre el uso de métodos de barrera y la prevención del cáncer cervical (*Hildesheim y col, 1990*). También se ha detectado DNA del virus del papiloma humano en la punta de los dedos de las personas que padecen verrugas genitales, lo que sugiere la posibilidad de que el virus se transmita a través del contacto de las manos con la zona genital (*Sonnex y col, 1999*); sin embargo, esta vía de transmisión es poco probable (*Mindel y Tideman, 1999*).

Los investigadores han comenzado a centrar sus estudios en el posible papel de los hombres expuestos a infectarse con el HVP de alto riesgo a través del contacto frecuente con prostitutas y que, a su vez, podrían transmitir el virus a sus esposas (*Thomas DB y col, 2001*). Otras sugerencias, en cuanto a las estrategias de prevención primaria del cáncer cervical, se basan en estudios caso-control sobre factores de riesgo asociados. Entre estas estrategias se incluyen desincentivar el consumo de cigarrillos y fomentar una dieta alta en vitamina C (*Grimes y col, 1995*). Como parte de sus estrategias de prevención primaria, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y los Institutos Nacionales de Salud recomiendan fomentar la educación sexual y las actividades que ayuden a producir un cambio en las conductas sexuales (*NIH Consensus Statement, 1986; Grimes DA, 1997; Runowicz CD y col, 1999; Shepherd J y col, 2000*).

A pesar de la actual implicación del HPV en la etiología del cáncer, aún permanece la duda si el virus, *per se*, es suficiente para desencadenar todo un proceso de transformación celular con evolución para cáncer, ya que existe regresión espontánea de la infección en patologías de bajo grado como el CIN I o displasia

leve, o si existen otros cofactores que colaboran con el virus en el proceso de transformación tumoral.

Eso va de acuerdo a lo descrito anteriormente que la etiología del cáncer es multifactorial. Factores como la edad precoz de las primeras relaciones sexuales, la promiscuidad sexual, la multiparidad, antecedentes de enfermedad de transmisión sexual, tabaquismo (*Rostad B, Chai B, da Costa FA, 2003*), anticoncepción hormonal, inmunosupresión, etc, son frecuentemente descritos como factores facilitadores del desarrollo de la transformación de la CIN a carcinoma invasivo.

PARTE III

▶ DESCRIPCIÓN DE LAS ONCOPROTEÍNAS

Resumen

En este apartado se describen las características de los factores pronósticos (clínico-patológicos y biológicos) de la evolución de la paciente con cáncer de cérvix uterino.

En este contexto se describen las características de las 5 oncoproteínas en estudio en esta tesis (p53, bcl-2, ki-67, c-erbB-2 y la Ciclina-D1), y se discute la importancia de estas proteínas en la predicción de la muerte, de la supervivencia y de las recidivas.

Se describen los resultados de varios estudios que analizaron la correlación de las oncoproteínas entre ellas y entre éstas y las variables clínico-patológicas (el tamaño del tumor, los estadios FIGO, el tipo histológico, la infiltración del estroma, la invasión vascular, la invasión de los parametrios y de los ganglios pélvicos).

Se describe y se comenta sobre los resultados de estudios realizados en otros países sobre la asociación entre cada una de las proteínas y el pronóstico, así como los niveles de expresión de cada una de ellos y su asociación con la fase evolutiva del cáncer de acuerdo con la clasificación de FIGO.

IV. FACTORES PRONÓSTICOS DE LA EVOLUCIÓN DE LA PACIENTE CON CÁNCER DE CÉRVIX UTERINO

4.1 Aspectos generales

Los avances obtenidos en las últimas décadas en la bioquímica, en la biología celular y molecular, han permitido importantes progresos en la comprensión de los mecanismos involucrados en el proceso de desarrollo y progresión del cáncer. Hoy disponemos de técnicas avanzadas para la identificación de alteraciones genéticas, epigenéticas y moleculares presentes en diversas neoplasias.

Están descritos de un modo general varios factores clínicos e histopatológicos capaces de predecir la evolución del cáncer y la supervivencia de la paciente a largo plazo en función del tratamiento quirúrgico. Los factores pronósticos permiten, a partir de determinadas características biológicas y/ o clínicas, por si solas o combinadas entre si, hacer previsiones sobre la evolución clínica de las pacientes.

Para que un factor pronóstico sea de utilidad clínica debe obedecer a determinados requisitos tales como la cuantificación estandarizada y reproducible, fiabilidad, y debe de ser detectable en pequeñas cantidades de material histológico; es decir deben tener buena sensibilidad y especificidad.

4.2. Clasificación de los factores pronósticos

Hay marcadores biológicos y agentes terapéuticos que fueron identificados y contruídos específicamente a partir de estudios de las vías de señalización del metabolismo y muerte celular, expresión de moléculas de superficie y de otros factores relacionados a la supervivencia celular, tales como la vascularización y componentes del micro-ambiente tumoral.

En lo que respecta específicamente al cáncer de cérvix uterino, también existen varios factores clínico-patológicos claramente asociados al pronóstico de las pacientes; los principales y los más estudiados son:

a) Factores clínico-patológicos o de primera generación del cáncer de cérvix uterino

- Estadio clínico (FIGO)
- Tipo histológico
- Tamaño tumoral
- Afectación parametrial
- Invasión del estroma
- Propagación linfática
- Invasión vascular
- Afectación ganglionar
- Presencia de margenes afectadas post quirúrgico
- Grado de diferenciación del tumor

b) Factores Biológicos o de segunda generación del cáncer de cérvix uterino

Son factores biológicos basados en el contenido de ADN, proteínas celulares, factores de crecimiento, índice de proliferación, genes de supresión tumoral y oncogenes. En la tabla 4 se ilustran los diversos marcadores estudiados y su aplicación práctica.

Tabla 4 - Anticuerpos específicos más utilizados en el diagnóstico de diversas neoplasias

Aplicación	Anticuerpos más utilizados
Determinación del linaje histogenético de las neoplasias morfológicamente indiferenciadas	➤ CKs, LCA (CD 45), S-100, vimentina
Subclasificación de determinadas neoplasias, como por ejemplo, los linfomas no Hodgkin	➤ CD 10, CD 20, CD 5, CD 3, CD 15, CD 30, CD 23, Ki-67 (MIB-1)
Caracterización de posible origen de carcinomas metastáticos con sitio primario desconocido	➤ CKs, LCA (CD 45), S-100, vimentina
Discriminación de la naturaleza benigna o maligna de determinadas lesiones, como por ejemplo, la presencia de células basales en lesiones proliferativas benignas de la próstata y en el diferencial entre los linfomas foliculares y linfadenitis reaccionales	➤ Próstata – CK 34bE12 ➤ Linfomas x Linfadenitis reaccionales – bcl-2, CD 20, CD 3, CD 10
Evaluación pronóstica de neoplasias, como por ejemplo, los carcinomas de mama, a través de la detección de receptores hormonales, oncoproteínas, factores relacionados a la angiogénesis, ciclo celular y proliferación celular	➤ Receptores de estrógenos y progesterona ➤ p53, c-erbB-2, COX-2, CEA, MIB-1 (Ki-67), EGFR, ciclina-D1, fator VIII, CD 34, p21, timidilato sintase, c-kit, etc.
Evaluación de proteínas o marcadores para terapéutica con anticuerpos monoclonales específicos o otros agentes terapéuticos	➤ c-erbB-2 / HER-2 (Herceptina), CD 20, c-kit (STI 571 / Gleevec), timidilato-sintase (5-FU), COX-2 (anti-inflamatorios inhibidores de las prostaglandinas), etc.
Enfermedades infecciosas	➤ Paracoccidioides, Histoplasma, Candida, Citomegalovirus, Herpes, Hepatitis B, virus Epstein-Barr, adenovirus, etc.

De un modo general, estos factores solos o combinados, permiten estimar la probabilidad de recidivas, de cura, de persistencia o de muerte de una paciente en función del nivel de expresión de estas proteínas en las células cancerígenas. Las

proteínas más estudiadas en el cáncer de cérvix uterino son: p53, pRb, c-erbB-2, C-myc, Ki-67, bcl-2, Ciclina-D1 y D3, EGF.

Los niveles de la expresión de estas proteínas pueden tener alguna correlación con la infección por el HPV, con el cáncer cervical (*Nagai N, 1994*), sus estadios de FIGO, las metástasis para los nódulos linfáticos, el diámetro del tumor, el número de mitosis, y la invasión de los tejidos. La comprensión de todo este volumen de informaciones puede facilitar el trabajo de los oncólogos y demás profesionales involucrados en la búsqueda, prevención, diagnóstico y tratamiento del cáncer (*Ward LS, 2002*).

Entretanto, el acceso a las nuevas tecnologías es muy restringido, su costo inviabiliza su aplicación amplia en la práctica oncológica y los factores pronósticos "clásicos" – como la histología, citología e inmunohistoquímica – siguen siendo los más importantes en la práctica clínica e incluso son usados para facilitar el control de la adecuación de los tejidos sometidos a búsquedas biomoleculares y para la validación para las nuevas metodologías, nuevos marcadores y agentes terapéuticos desarrollados.

4.3. CARACTERIZACIÓN DE LAS PROTEÍNAS QUE SON OBJETO DE ESTE ESTUDIO (p53, bcl-2, Ki-67, c-erbB-2 y la Ciclina-D1)

A continuación pasamos a describir como cada una de ellas se comporta en las diferentes fases evolutivas del cáncer.

4.3.1. GEN p53

Localizado en el cromosoma 17, este gen codifica una fosfoproteína nuclear de peso molecular que regula la proliferación y la muerte celular programada, la apoptosis (*Tervel JL, 1996*). En condiciones normales, funciona como un gen supresor de tumores. Sin embargo cuando sufre mutaciones se convierte en un gen dominante aunque hay mutaciones que parecen recesivas.

Esta proteína está relacionada con la preservación de la integridad del código genético en cada célula o sea, la manutención de la misma secuencia de nucleótidos a lo largo de toda la molécula de ADN igualmente presente en cada célula del nuestro organismo.

Normalmente, el p53 funciona como un factor transcripcional y como «guardian del genoma» en el punto del control de daño del ADN en la fase G1 del ciclo celular (*Rodrigo CF y col, 1999*). De este modo cuando en una determinada célula se detecta una mutación o alteración en la secuencia del código genético debido a una duplicación defectuosa del ADN, la proteína p53 aumenta su producción y frena el sistema de replicación celular, dando tiempo a la reparación del ADN; si esto no es posible, conduce a la célula a la apoptosis.

La inactivación del p53 permite que se acumulen daños en el ADN que a lo largo del tiempo pueden derivar en una transformación maligna. Por ejercer esta función

de detección de alteraciones en el ADN y consecuente corrección o muerte celular, la proteína p53 es considerada como «*guardián del genoma*» y es un importante elemento en la prevención y desarrollo de tumores.

La relación entre la proteína p53 y la carcinogénesis ha sido ampliamente comprobada a través de elevados índices de mutaciones de su gen en tumores malignos de diferentes tejidos del organismo incluyendo los cánceres de cérvix uterino (*Yasuko K y col, 2003*); incluso en variantes raras como el caso de cáncer de cérvix de tipo papilar (*Ramin M y col, 2003*) y adenocarcinomas de células claras (*Waggoner SE y col, 1994*).

La p53 desencadena la apoptosis, al contrario del gen bcl-2. En un estudio experimental *in vitro* e *in vivo* hecho en ratones Miyashita T y col, (1994), demostraron una relación inversa entre p53 y bcl-2, es decir, los ratones deficientes en p53 exhibían un aumento de bcl-2. Las células mutantes, sin este gene p53, no sufren apoptosis (*Cotran y col, 1996*). Ellas viven más tiempo, facilitando la adquisición permanente de mutaciones y se multiplican descontroladamente, generando tumores. Por impedir ese fenómeno, contribuye en la protección del organismo del cáncer.

La alteración y ausencia de funcionalidad del gen p53 es uno de los defectos presentes más comunes en los cánceres humanos, ocurriendo en más del 50% de los mismos (*Harris CC & Hollstein M, 1993; Kirsch D.G. y col 1998*), incluyendo los tumores más frecuentes de mama (*Lera JM y col, 1997*), pulmón, carcinomas cervicales y colorectales (*Pinho MS y col, 2000*). Por ello, el gen p53 se clasifica como un gen supresor de tumores puesto que, cuando no se altera, induce la apoptosis y destrucción de las células cancerosas, pero al mutar, el gen deja de

ejercer el efecto protector, por lo que esas células, cuyo ADN suele estar dañado, en lugar de destruirse por apoptosis, se dividen sin control, mutan rápidamente sus genes y al final se malignizan.

La proteína mutada se caracteriza por una vida media más larga que la proteína normal, de lo que puede inferirse que su detección por inmunohistoquímica en los tumores, equivale a la existencia de una mutación. Esta proteína es capaz de unirse a lugares específicos del ADN del genoma, regulando la expresión de otros genes (entre ellos el p21) , que controlan ciertas funciones celulares esenciales y otros cuyos efectos participan en el comportamiento neoplásico (*Jian Yu y col, 1999*).

Hay evidencia de que la proteína E6 del virus del papiloma humano 16 y 18, que con frecuencia están implicados en la etiología del cáncer del cérvix, interaccionan con la proteína del p53, pudiendo inactivarla y de este modo obtener el mismo efecto que con las mutaciones (*Chen T.M y col, 1993; Antón M y col, 2000*). Las infecciones por HPV con alta carga viral son capaces de producir grandes cantidades de unidades de proteínas E6 y E7 capaces de bloquear la acción de la p53 y rb en el ciclo celular evitando la muerte de dichas células por apoptosis. La oncoproteína E6 del HPV se une a la proteína p53, estimulando su degradación (*Scheffner M y col, 1990; Werness BA y col 1999*). Esta degradación es dependiente de ATP, y utilizará el sistema de proteasas dependiente de ubiquitina (*Werness BA y col 1999*).

La integración de HPV al genoma humano ocurre frecuentemente en sitios genéticos frágiles, lo que también puede favorecer rupturas de ADN y mutaciones, que pueden influir en el desarrollo de neoplasia. En un estudio se demostró que la

presencia de determinados polimorfismos en el gen p53 (como arginina en vez de prolina en posición 72), constituye un factor de alto riesgo para el desarrollo de cánceres asociados a HPV (*Storey A y col, 1998; Madeleine MM y col, 2000*).

En un estudio realizado por Lakshmi S y col, (1997), demostró una buena correlación entre la expresión de la proteína p53 y el grado histológico de las lesiones. La expresión aumentada de p53 en las lesiones displásicas y malignas cuando se comparan con las lesiones no displásicas, sugiere que la acumulación de la proteína p53 puede ser un evento temprano (precoz) en la carcinogénesis.

Otros autores como Baker SJ y col, (1990); Bosari S y col, (1992), refieren que probablemente ocurre en la transición entre el crecimiento benigno y maligno.

Varios estudios han investigado la posible correlación entre las mutaciones del p53, el estadio tumoral y las metástasis ganglionares. Aunque el método de detección varió de unos estudios a otros, (secuenciación directa o inmunohistoquímica) los resultados fueron muy similares: no se encontró relación con el estadio tumoral ni con la presencia de metástasis ganglionares. Estos estudios, junto con otros que detectan mutaciones de p53 en carcinomas in situ y en lesiones displásicas adyacentes a tumores invasivos, sugieren que las anomalías en el p53 son un fenómeno de aparición temprana en la carcinogénesis del cérvix uterino y que no son un epifenómeno de la progresión de la enfermedad.

En algunos estudios del cáncer de cérvix, estas mutaciones p53 se asocian al pronóstico pobre (*Crowford RA y col, 1998*), progresión de la enfermedad (*Tang ZH y col, 2003*) y al fallo de tratamiento.

Es evidente que un mayor conocimiento sobre este gen ayudará al desarrollo de más eficaces medidas terapéuticas. Algunos estudios fueron realizados con el objetivo de analizar su potencial para utilización clínica en especial como elemento de valor pronóstico.

4.3.2. bcl-2

bcl-2 está localizado en el brazo largo de cromosoma 18 (18q21) y codifica una proteína del mismo nombre (bcl-2) cuya función es inhibir la muerte celular programada o apoptosis. Es por lo tanto un gen controlador del tiempo de vida celular (*Crawford RA y col, 1998*)

La apoptosis desempeña un papel crítico en una variedad de procesos fisiológicos durante la embriogénesis y en la vida del adulto. La ausencia de apoptosis produce acumulación progresiva y descontrolada de células provocando así el cáncer (*Lo Mozio L y col, 2003*).

La bcl-2 puede desempeñar un papel importante en el desarrollo del cáncer cervical. Sin embargo, la expresión de la bcl-2 se pierde durante la progresión del tumor y es un parámetro pronóstico fuerte, sugiriendo que la regulación de la apoptosis desempeña un papel importante en el comportamiento de carcinomas cervicales.

El mecanismo de acción de bcl-2 no se conoce completamente pero se sabe que esta proteína no actúa solo en la apoptosis sino que es el principal miembro de un conjunto de proteínas relacionadas que actúan en colaboración para controlar el tiempo de vida celular. Es ejemplo de esta, la bcl-x isoforma larga (bcl-x_L) estrechamente relacionada con la bcl-2 en la inhibición de la apoptosis; el bcl-x isoforma corta (bcl-x_S) con efecto antagónico de la bcl-2 y bcl-x_L, estimula la apoptosis. Tanto bcl-2 como bcl-x_L interactúan con otro miembro de la familia de bcl-2, el Bax que promueve la muerte celular (*Vicent T de Vita y col, 2000*). Se cree que el equilibrio entre Bax y bcl-2 es el factor determinante crítico del efecto neto de esta familia de proteínas (*White E, 1996*).

En los últimos años se ha descubierto un nuevo gen de la familia de bcl-2 denominada survivin, que también tiene una función anti-apoptótico (*Wang M y col, 2001*).

Estudios realizados para evaluar los niveles de expresión de bcl-2 y Bax en lesiones pre-invasivas y en el carcinoma cervical invasivo concluyeron que las alteraciones de estas proteínas están asociadas a fases más tempranas de evolución de cáncer cervical (*Aletra C y col 2000, Tjalma y col 1997*). La expresión de bcl-2 parece estar asociado con un comportamiento biológico menos agresivo en los diferentes grados de displasia y en los primeros estadios del carcinoma cervical (*Yao J y col 2000*).

Otros estudios incluyendo tumores como los de endometrio, colon, estómago (*Nakamura T y col, 1997*) y vejiga (*Nakopoulou L y col, 1998*) también encontraron resultados similares a los descritos anteriormente.

Se piensa que el gen bcl-2 puede contribuir en la oncogénesis al suprimir la apoptosis inducida por p53 o myc, aumentando la viabilidad de la célula y la resistencia a la quimioterapia. Fue demostrado que esta proteína puede bloquear la apoptosis inducida por una serie de señales, como la radiación, agentes quimioterápicos, retirada del factor de crecimiento, esteroides, choque térmico e infecciones por el HPV, principal causa del cáncer de cérvix uterino (*Craig RW, 1995; Horta MF y col, 1999*).

En el estudio realizado por Banuelos P y col, (2000), sobre la caracterización oncogénica de cuatro líneas del cáncer cervical observaron que en las líneas HPV positivas existía una relación inversa de bcl-2 con la proteína p53. La expresión alta de bcl-2 y baja expresión de p53 puede contribuir al fenotipo maligno en estas líneas celulares. Grace VM y col, (2003), en un estudio parecido, analizó la expresión de bcl-2 y p53 en el carcinoma escamoso de cérvix uterino con HPV y concluyó que además de la relación inversa, las dos proteínas pueden ser usadas como marcador de diagnóstico independiente para el cáncer cervical.

Otros estudios (*Dimitrakakis C y col 2000*) han sido unánimes en demostrar correlación inversa entre la expresión de la bcl-2 y la p53. La expresión de bcl-2 fue alta a medida que aumentan los grados de CIN, mientras que la proteína p53 no

fue detectada en tejidos normales ni en lesiones premalignas, (excepto en 3 de 20 casos de CIN III).

Ozalap SS y cols, (2002), también encontraron resultados similares en 50 casos de lesiones preinvasivas y 28 casos de cáncer cervical.

Hay una serie de estudios que son unánimes en afirmar que la expresión alta de bcl-2 puede ayudar a identificar los grupos de pacientes con cáncer cervical primario con un pronóstico favorable mientras que la pérdida de bcl-2 en los estudios de cáncer sugiere un pronóstico malo. Eso significa que los tumores en estadios avanzados manifiestan baja o nula expresión de bcl-2 y suelen tener una alta expresión de p53, ya que esta última es antagonista de bcl-2, es decir, mientras la p53 induce la apoptosis, la proteína bcl-2 la inhibe. La expresión de bcl-2, especialmente en lesiones preinvasivas, puede desempeñar un papel en el proceso apoptótico y ser usado como marcador para la progresión de la enfermedad.

En carcinomas cervicales invasores, la expresión bcl-2 no se ha demostrado eficaz en la previsión de la supervivencia.

4.3.3. Ki-67

El Ki-67 también conocido por MIB-1, promueve la proliferación celular que es un factor importante en la biología de muchos tumores, incluyendo las neoplasias cervicales.

Descubierto por Gerdes J en 1983; este anticuerpo marca el patrón nuclear de las células que están en todas las fases del ciclo celular (G1, S, G2 y M), excepto la fase G0 y refleja la tasa de proliferación celular (*Scholzen T y col, 2000*).

Varios estudios comprueban que la progresión tumoral es acompañada por un aumento en la proliferación celular (*Heatley MK, 1998; Kruse AJ, 2003*) y que la expresión de Ki-67 constituye un potencial indicador pronóstico en el carcinoma cervical (*Liu SS y col, 2001*).

En tiempos pasados se empleaba, para el estudio inmunohistoquímico, el anticuerpo monoclonal Ki-67 pero este tenía el inconveniente de que solo podía utilizarse en secciones tisulares frescas congeladas porque el epitopo del antígeno al que se unía, sufría una degradación cuando el tejido era fijado, parafinado y embebido. Actualmente se usa más y con mejores resultados, la Ki-67 policlonal, identificado por MIB-1. Esta permite su utilización en tejidos parafinados sin riesgos de degradación, lo que la hace más efectiva para la realización de estudios retrospectivos (*Cattoretti GB y col, 1992; Alonso AR y col, 2003*).

Estudios realizados por Mitchell MF y col, (1995); Al-Nafussi Al y col, (2001), establecieron que la medición de la actividad proliferativa en las lesiones del cuello uterino y su correlación con marcadores de regulación y diferenciación, podrían ser

importantes para entender el proceso neoplásico. Este hecho fue también establecido por Hall P y col, (1990), con similares conclusiones.

En los últimos años, la inmunomarcación de Ki-67, usando MIB-1 ha permitido demostrar que es un buen indicador de proliferación celular en carcinomas de mama, incluso en los carcinomas de cérvix uterino y neoplasias intraepitelial cervical.

Raju GC y col, (1994), han sugerido que el porcentaje de células medidos inmunohistoquímicamente usando MIB-1, podría ser aplicable para examinar el crecimiento biológico potencial en cánceres cervicales, y el mismo anticuerpo podría ser un parámetro útil para indicar el pronóstico clínico del tumor.

Kruse AJ y col, (2001); Bark JK y col, (2001), en estudios con casos de neoplasias intra-epitelial (CIN) y casos con carcinoma cervical, demostraron una correlación fuerte con los parámetros inmunocuantitativos del Ki-67 y la presencia de HPV oncogénico. Keating JT y col, (2001); Herbsleb M y col, (2001), consideran la Ki-67/MBI-1 uno de los biomarcadores complementarios para la detección del HPV asociado a las neoplasias cervicales.

De igual modo, Dellas A y col, (1996), comparando los diferentes grados de displasias y cáncer cervical con la expresión de p53 y de Ki-67, verificó una correlación positiva del índice de proliferación celular con el grado histológico y el estado de HPV mientras que Carrilho C y col, (2003), no observó ninguna

asociación con la infección de HPV sino con el carcinoma escamoso invasor de cérvix especialmente el de tipo keratinizante.

En un estudio reciente, Lee JS y col, (2002), demostró que el índice de proliferación marcado por Ki-67 es creciente a medida que incrementa la progresión siendo más perceptible en carcinoma cervical con relación al neoplasia intra-epitelial o epitelio normal de cérvix.

La mayoría de los estudios han encontrado una correlación entre la actividad proliferativa sobre-expresada por el Ki-67/MBI-1 con el pronóstico clínico en pacientes con cáncer de cérvix uterino.

La inmunomarcación de ki-67 en carcinomas cervicales se correlaciona directamente con el tamaño de tumor, grado histológico, invasión vascular y estado ganglionar.

Con relación a la supervivencia en pacientes con metástasis en los ganglios pélvicos hay estudios controvertidos. Avall-Lundqvist EH y col, (1997); Davidson B y col, (2000), no encontraron ninguna correlación entre la expresión de la actividad proliferativa medida por el MIB-1/Ki-67 con la predicción de la supervivencia a largo plazo en carcinomas cervical de células escamosas. Mientras que Liu SS y col, (2001), demostraron que el índice bajo de Ki-67 estaba asociado a una mejor supervivencia.

Respecto al tratamiento, Kamoi S y col, (2001) realizó un estudio para evaluar si podía utilizar el antígeno nuclear Ki-67 (Ki67LI) y el índice mitótico (MI) como predictores de la respuesta a la quimioterapia en pacientes con carcinoma cervical uterino antes de la cirugía radical. Este estudio demostró que los valores altos de Ki-67LI y de MI verificados antes de la quimioterapia con consecuente disminución

de los mismos después de la quimioterapia parecen ser predictores de la buena respuesta neoadyuvante.

4.3.4. c-erbB-2 o HER-2/neu

Localizado en el cromosoma 17 banda 21 (17q21), codifica la tirosina kinasa transmembrana, es un receptor que pertenece a la misma familia que el EGFr - receptor para el factor de crecimiento epidérmico (*Mark HFy col 1999; Soh LT y col, 2002*).

En condiciones normales, las 2 copias del gen HER-2 en una determinada célula producen una pequeña cantidad del producto proteico en la superficie celular, designado p185HER2.

Éste receptor proteico tiene un papel importante en la transmisión de las señales del exterior para el núcleo de la célula, ejerciendo control sobre la división y crecimiento de la célula normal. Cuando el gen HER-2 está amplificado, ocurre una expresión excesiva de receptores en la superficie celular, hay estímulo para la división celular, resultando en un crecimiento celular acelerado, lo cual contribuye para el desarrollo y progresión del cáncer.

Estas características sirven de base para estudios pre-clínicos que demostraron que anticuerpos monoclonales dirigidos contra la p185HER2 pueden inhibir el crecimiento de las células tumorales que tienen expresión excesiva de HER-2.

Dos métodos han sido utilizados en la práctica clínica para la evaluación de la expresión excesiva del HER-2: uno relacionado a la amplificación del gen, y el otro relacionado con la expresión excesiva de su producto, la proteína p185 HER2:

- La amplificación del gen propiamente dicho: consiste en la visualización "in situ" de la amplificación del gen a través de su identificación con sondas de DNA complementarias marcadas con fluorocromo. Este método muestra un aumento del número de copias del gen con relación a las 2 copias encontradas en las células normales. La técnica usada para su detección es la FISH (Fluorescent In Situ Hybridization)
- La identificación del producto del gen, la proteína p185HER2 , a través de la técnica inmunohistoquímica (IH), utilizándose un anticuerpo policlonal obtenido en conejos inmunizados con la oncoproteína humana sintética. El anticuerpo presenta alta afinidad por el dominio extracelular de la proteína p185HER2. La expresión excesiva de este producto es demostrada en la membrana celular de las células tumorales.

Datos acumulados comparativos entre los dos métodos, demostraron que en un 15-20% de los casos donde no se identifica la expresión de la proteína por el método inmunohistoquímico, presenta la amplificación del gen por el método de FISH.

La amplificación del gen HER-2 está asociada con mayores índices de proliferación celular, menor tiempo libre de enfermedad y menor supervivencia tanto en pacientes linfonodo-positivas, cómo en linfonodo-negativas.

Es factor predictivo de resistencia a la quimioterapia convencional; la expresión c-erbB-2 es un factor pronóstico importante para determinar la recurrencia del tumor y aparece con frecuencia en los adenocarcinomas cervicales de los pacientes con pronósticos pobres (*Nishioka T y col, 1999*).

Fuera del campo del tratamiento en carcinomas de cérvix uterino tratado con radioterapia la sobre-expresión de la proteína c-erbB-2 se asocia a la amplificación del gen correspondiente.

La sobre-expresión de c-erbB-2 tiene un papel importante en el comportamiento biológico del cáncer de endometrio (*Cirisano FD y col 1996; Kihana T y cols 1994; Oka K y cols 1994*) así como del carcinoma del cérvix uterino (*Nakano T y cols 1997*); una expresión muy fuerte de este marcador está asociado a un mal pronóstico para la supervivencia de las pacientes.

Sin embargo, hay autores que demostraron que aunque la sobreexpresión de la proteína en carcinomas de cérvix uterino con diferenciación glandular (CCGD) se asocia a la carcinogénesis, no es un marcador pronóstico independiente porque la sobreexpresión ocurre tarde en la enfermedad (*Costa MJ y col 1995*).

Lee JS y col, (2002), en un estudio para evaluar la correlación entre la expresión del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), características clínico-patológicas, la expresión las proteínas de c-erbB-2 y p53, en pacientes con adenocarcinomas de cérvix uterino, concluyeron que el c-erbB-2 puede estar

implicado en la hiperregulación de la expresión de VEGF promoviendo así la angiogenesis en este tipo de tumores.

Un estudio cuyo objetivo fue el de mirar la expresión c-erbB-2/HER2 en carcinoma cervical uterino antes del tratamiento así como evaluar su valor predictivo del pronóstico en pacientes con metástasis en los ganglios paraaórticos (PALN) después del tratamiento con la radioterapia en enfermedad avanzada, sugiere que la oncoproteína c-erbB-2 está asociada a una respuesta reducida a la quimioterapia neoadjuvante en el tratamiento primario del cáncer cervical invasor y pueda ser útil en dirigir acercamientos terapéuticos.

Kim JW, y cols, (1999), analizaron la correlación entre la expresión de la erbB-2 y la respuesta a la quimioterapia neoadjuvante del carcinoma cervical y concluyeron que la expresión fuerte de la oncoproteína c-erbB-2 está asociada a una respuesta reducida a la quimioterapia neoadjuvante en el tratamiento primario del cáncer cervical invasor y que esto puede ser útil en dirigir acercamientos terapéuticos.

Hay sin embargo, autores como Ndubisi B, (1997), que encontraron resultados diferentes de los reportados anteriormente. En un estudio donde analizaron 150 tumores, la expresión del oncogen de HER-2/neu fue poco frecuente y observado en solamente 34 casos (22%). La distribución de las células inmunoreactivas en estos tumores positivos para el HER-2/neu, fue muy heterogénea. El grado y la histología del tumor no influenciaron el patrón o la intensidad de la expresión de HER-2/neu. No hubo diferencia estadística significativa en la supervivencia de los pacientes con HER-2/neu positivos y entre éstos con los tumores negativos de

HER-2/neu ($P=0,50$). Por lo tanto este estudio sugiere que la detección inmunohistoquímica de la expresión de HER-2/neu no es un predictor de la supervivencia de pacientes con cáncer cervical ni identifica a subgrupos de pacientes en un riesgo más alto para la repetición de la enfermedad.

De igual modo, Ngan HY y col, (2001), en un estudio realizado con 101 pacientes con cáncer de cérvix uterino, para determinar la correlación entre las expresiones anormales de EGFr; C-erbB-2, no encontró ningún significado pronóstico en la supervivencia de las pacientes estudiadas.

Sharma A y col, (1999), en sus estudios de 60 casos de carcinoma escamoso primario no tratadas, no observaron ninguna diferencia significativa en la frecuencia de la amplificación de acuerdo con el estadio clínico o los tipos histológicos de los tumores. Sin embargo, son unánimes con otros de que la amplificación de c-erbB-2 es un evento frecuente en carcinoma cervical en secciones parafinadas.

4.3.5. CICLINA-D1

Codificado por el gen FRAD1, (paratiroide adenoma 1) y localizado en el cromosoma 11 q13 (11q13), la Ciclina-D1 es responsable por la transición de la fase G1 a la fase S del ciclo celular (Sauter y col, 1999). Estas proteínas median la fosforilación de gen producto de Retinoblastoma, por lo cuál libera los factores de transcripción para iniciar la replicación del DNA.

En condiciones normales, son genes implicados en el control de la progresión del ciclo celular. Pertenece a la familia de **Ciclinas de tipo D** (D1, D2, D3). La mayoría

son codificados por oncogenes y su expresión depende más de los influjos extracelulares. Esta regulación de los niveles de Ciclinas de tipo D por medio de señales extracelulares es única y no se observa con otras Ciclinas (*Vicent T y col, 2000*).

Como las Ciclinas **D** son proteínas muy lábiles y su actividad enzimática decae rápidamente, las células salen rápidamente del ciclo. La degradación controlada de las Ciclinas contribuye en la regulación del ciclo. Así que una célula entra en el ciclo celular desde la fase G₀ (estado de reposo), una o más Ciclinas del tipo D se sintetizan y aumentan durante la fase G₁ como respuesta a la estimulación del factor de crecimiento (*Matsushime H y col, 1991*). De manera contraria, el cese de la mitosis conlleva el cese de la síntesis de Ciclinas D.

Las Ciclinas de tipo D forman un complejo holoenzimático con cdk4 (quinasas dependientes de Ciclinas tipo 4) o cdk6 (quinasas dependientes de Ciclinas tipo 6). El complejo Ciclina D/cdk4 o 6 se activa a continuación por medio de una actividad quinasa conocida por CAK para convertirse en un complejo activado. Seguidamente, el complejo Ciclina D/cdk4 o 6 activado fosforila a la proteína del retinoblastoma (prb) para iniciar la replicación del DNA (*Matsushime H y col, 1992; Kato J y col, 1993*). Con estos datos significa que la Ciclina D, desempeña un papel regulador del ciclo celular a través de la interacción directa con la proteína de retinoblastoma. La inhibición del complejo Ciclina D1/CDK4/6 impide la fosforilación de la proteína rb, interrumpiendo el ciclo celular (*Matsushime H y col, 1992; Kim YT y col, 1998*).

La inmunohistoquímica y la amplificación son unos de los métodos que esta proteína puede ser sobre-expresado (*Sauter ER y col, 2000*). La sobreexpresión de Ciclina-D1 traduce la transformación para un fenotipo maligno. En los tumores del paratiroides presentan sobre-expresión de aproximadamente 18% (adenomas de paratiroides) y suelen tener sobre-expresión también en carcinomas.

La expresión de Ciclina D ha sido estudiada en varios tipos de cáncer de cérvix uterino. Este gen está amplificado en cerca de 20-50% de los carcinomas de células escamosas (*Sauter ER y col, 2000*) y está sobre-expresado encima del 80% en los tumores de cabeza y cuello (*Bartkova J y col, 1995*) y esófago (*Adelaide J y col, 1995*).

Algunos estudios demostraron en varios tipos del adenocarcinomas de cérvix uterino que el nivel de expresión de Ciclina-D1 en el núcleo y citoplasma depende del grado de diferenciación de ese tumor (*Zavalishina y col, 2000*).

Southerin SA y cols, (1998), demostraron la sobre-expresión de la proteína Ciclina-D1 en 24 (92%) de 26 del CIN de bajo grado infectado con el virus de HPV de bajo riesgo (HPV 6,11,42,43 y 44) y la ausencia de expresión de Ciclina-D1 en 25 (87%) de 29 casos infectados con HPV de alto riesgo (HPV 16, 18, 31, 33, 39, 45, 51, 52, 56, 58 y 66). La expresión de las proteínas Ciclina E, Ciclina A y Ciclina B estaba aumentada en los casos de bajo riesgo y alto riesgo de infección por HPV. Varios estudios refieren que el HPV 16 y 18 a través de las proteínas E6 y E7 pueden ligarse al pRB no fosforilado (inactivada) formando complejos que interfieren directamente con la activación de la Ciclina D/ cdk, impidiendo así la progresión del

ciclo celular (Kurzrock R y col, 1995; Kim YT y col, 1998). Si embargo, esta teoría aún no se ha probado (Cho NH y col, 1997).

En un estudio que comparó los tejidos cervicales normales, tejidos con lesiones intra-epiteliales (CIN) y tejidos con carcinoma de células escamosas de cérvix uterino (SCC), encontró que la acumulación de Ciclina-D1 fue más detectada en el epitelio normal en la zona basal y parabasal y estaba marcadamente disminuida en el epitelio neoplásico (0.87% CI in CIN, 5.88% in SCC) lo que sugiere que en los tejidos asociados con la presencia de HPV, la Ciclina D está disregulada (Cho NH y col, 1997).

Kurzrock R y col, (1995), analizaron la expresión del oncogén PRAD1 (Ciclina-D1/BCL-1) en carcinoma de células escamosas de la vulva donde demostraron que 7 de los 13 casos presentaron anomalías de PRAD1. Según los autores, esas anomalías incluyen la amplificación; reordenamiento de DNA y sobre-expresión de mRNA. La función de PRAD1 como regulador del ciclo celular y su interacción con el gen pRB sugiere que la desregulación del PRAD1 puede ser un evento molecular significativo en la evolución de estos tumores.

En lo que respecta al pronóstico, Cheung TH y col, (2001), usando la técnica de PCR y de inmunohistoquímica, evaluaron la amplificación y la sobre-expresión del gen Ciclina-D1 e CDK4 (quinasa dependiente de ciclina) en carcinoma de cérvix. La amplificación de los genes Ciclina-D1 y CDK4 fue demostrada en 24% (27/113) y 29/112 de tumor respectivamente. En este estudio encontraron que la sobre-expresión de Ciclina-D1 y CDK4 fue encontrado en 32% (21/66) y 73% (45/62) de

tumores respectivamente. No hubo ningún tumor que mostró mutación de gen de CDK4. El estadio de la enfermedad, grado de tumor y sobre-expresión de Ciclina-D1 fue considerado un factor independiente en el mal pronóstico del cáncer de cérvix uterino.

De igual modo, Bae DS y col, (2001), estudiaron la Ciclina-D1 con el objetivo de evaluar su expresión y su impacto en el pronóstico del cáncer cervical en los estadios iniciales. En este estudio compararon tejidos normales de cérvix, tejidos con lesión intra-epitelial CIN III y tejidos de cáncer cervical invasor para verificar las diferencias en la expresión. La inmunohistoquímica positiva de la Ciclina-D1 fue observado en 28/28 (100%) de los casos de controles normales, 1/31 (3%) casos de CIN III; y 9/32 casos (28%) del cáncer de cérvix invasor. Es decir, el número de especímenes positivamente marcados era más bajo que en los controles normales ($P = 0,005$). En el análisis univariable no encontraron relación de la expresión de la Ciclina-D1 con los ganglios linfáticos metastásicos pélvicos, invasión del estroma cervical profundo, invasión de los parametrios, tamaño grande del tumor, y tipo histológico ni con la infección por HPV, sino que la inmunoreactividad positiva de la Ciclina-D1 estaba asociada con la disminución del tiempo libre de enfermedad y una baja supervivencia total.

Los resultados de algunos estudios sugieren que la Ciclina-D1 puede tener un papel en la supervivencia celular y que la terapia con esta proteína puede ser útil como adyuvante en el tratamiento estandar para Carcinomas de células escamosas (Sauter ER y col, 1999).

OBJETIVOS

V. OBJETIVOS

5.1. Objetivos generales

Describir la expresión de distintas variables biológicas en el cáncer cervical invasor y estudiar su utilidad como posibles factores que influyen en la progresión de la enfermedad.

5.2. Objetivos específicos

Describir la expresión en muestras histológicas de cáncer cervical invasor y mediante inmunohistoquímica de las siguientes proteínas:

⇒ *p53*

⇒ *c-erbB2-neu*

⇒ *bcl-2*

⇒ *Ki-67*

⇒ *Ciclina-D1*

Evaluar la correlación entre el nivel de expresión de estas proteínas biológicas y las variables pronósticas clínico-anatomopatológicas (tamaño del tumor, infiltración vascular, invasión del estroma, invasión de parametrios, tipos histológicos, estadios FIGO)

Caracterizar la correlación entre el nivel de expresión de estas proteínas biológicas con la evolución de la enfermedad.

Describir las variables anteriormente mencionadas en un subgrupo específico de pacientes positivas para la infección HIV.

Determinar cual o cuales de la(s) proteína(s) está asociada al pronóstico evolutivo del tumor.

MATERIAL Y MÉTODOS

VI - MATERIAL Y MÉTODOS

6.1. FUENTE Y RECOGIDA DE DATOS

Este estudio fue realizado simultáneamente en pacientes de un Hospital de Mozambique (el Hospital Central de Maputo) y de un Hospital de España Hospital del Mar en Barcelona), dos países con incidencias distintas de cáncer de cérvix uterino, en el que se compara el comportamiento biológico de ambos grupos de pacientes con cáncer ya establecido.

Solamente fueran incluidos los casos de cáncer de cérvix confirmado histológicamente.

No fueron incluidas las mujeres con histerectomía previa.

El estudio comprende un total de 93 mujeres, sendo 47 del Hospital del Mar y 46 del Hospital Central de Maputo. Las pacientes del Hospital del Mar constan de una base de datos donde fueran registradas desde la fecha de diagnóstico con información actualizada sobre los exámenes de control y sobre el resultado (evento). Así hay mujeres cuyo diagnóstico fue en los años 94/ 95.

Con relación a la muestra de Mozambique, se tuvo como fuente de datos, el registro hospitalario y las respectivas biopsias de cáncer de cérvix (en diversos estadios, fijadas en parafina) provenientes de pacientes observadas en el servicio de Ginecología del Hospital Central de Maputo durante el período de tiempo comprendido entre Diciembre de 1998 y Diciembre de 2003. Se procedió a la recogida de datos clínicos (antecedentes, evolución clínica y

complicaciones), epidemiológicos y anatomopatológicos constantes de los procesos clínicos de las pacientes. También se procuró saber sobre su evolución: supervivencia, tratamiento, recidivas.

Importa aquí referir que el interés de la doctoranda por el cáncer, permitió que en el servicio de Ginecología y Obstetricia de Maputo se creara una base informatizada de datos sobre las pacientes con cáncer de cérvix uterino, por lo que disponemos de una información lo más completa posible. Cuando fue necesario obtener datos adicionales, se citó a las pacientes. Las informaciones son habitualmente recogidas en portugués, aunque en algunos casos fue necesario un traductor local.

En cuanto a la recogida de datos de las pacientes observadas en el Hospital del Mar, se obedeció a las siguientes etapas: a partir de una lista de números de registro de pacientes con cáncer de cérvix uterino, se hizo la búsqueda de las historias clínicas donde se recogió información epidemiológica y anatomopatológica. Los datos fueron inicialmente computarizados a través del paquete informático Microsoft Access y posteriormente transferidos para el paquete estadístico SPSS V.12.

Cada paciente tenía un número de código que permitió la localización de las respectivas piezas biopsias conservadas en bloques parafinados.

6.2. VARIABLES ESTUDIADAS

Además de los datos histológicos se recogieron los siguientes datos: menarquia, paridad, antecedentes de aborto, gestación en curso, menopausia e infecciones concomitantes, hábitos sexuales y tabáquicos, infecciones de transmisión sexual incluido el HIV, tamaño del tumor, estadios, invasión de parametrios, infiltración ganglionar, las características y los niveles de expresión de las cinco oncoproteínas en estudio (c-erbB-2, bcl-2, p53, Ciclina-D1 y la Ki-67)

6.3. ANÁLISIS DE LABORATORIO

En el estudio de análisis de laboratorio, la muestra del Hospital Central de Maputo consistió de dos etapas: La primera parte fue un estudio histológico para garantizar que se trataba realmente de casos de cáncer.

La toma de la biopsia fue hecha usando la pinza tipo BERGER. Algunas lesiones cervicales sospechosas fueran biopsiadas bajo control colposcópico.

El material obtenido fue directamente puesto en tubos de 10ml con formaldehído al 10% para evitar el deterioro de las células. Cada uno de ellos se identificaba con el nombre de la paciente y el número de historia clínica.

Este análisis histológico fue realizado primeramente en Mozambique (en el Departamento de Patología de la Universidad Eduardo Mondlane) y después confirmados los diagnósticos en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital del Mar, en Barcelona

La segunda parte consistió de un estudio en que se utilizó la técnica de hibridación in situ para determinar la presencia de HPV de alto riesgo y un estudio inmunohistoquímico de los tumores identificados para la caracterización de las distintas oncoproteínas que influyen en el pronóstico y evolución de la enfermedad.

Las biopsias cogidas en el Hospital del Mar fueron analizadas siguiendo las mismas técnicas de laboratorio descritas con relación a la muestra del Hospital Central de Maputo, en el Laboratorio de Anatomía Patológica del Hospital del Mar.

- **Construcción de arrays de tejido**

Después de la revisión histológica de todos los casos se procedió a la construcción de arrays de tejido, un método rápido que permite realizar análisis masivos de la expresión anatomopatológicos y inmunohistoquímicos en diversos tejidos de una sola vez. Consiste en realizar pequeños core-biopsias de muestras embebidas en parafina y subsecuente colocación en un nuevo bloque de parafina. Este método facilita el diagnóstico simultáneo de más de

100 casos distintos de patología microscópica en un sólo experimento y tiene la ventaja de reducir el margen de error resultante de la variación entre diferentes diluciones y en momentos diferentes.

Con este método se realizó el estudio inmunohistoquímico así como las técnicas de hibridación in situ para visualización de Papiloma Virus Humano de alto riesgo y de las proteínas biológicas c-erbB-2, bcl2, p53, Ciclina-D1 y Ki-67 en los 93 casos estudiados.

Fueron utilizados anticuerpos prediluidos conforme se ilustra en la tabla siguiente:

Anticuerpo	Nombre	Clonalidad	Dilución	Desenmascaramiento Ag	Proveniencia
c-erbB-2	Dako Cytomation	Policlonal	1:350	Calor	Dako Cytomation, (Glostrup, Denmark)
bcl-2	BioGenex	Clona (124,3)	1:120	Calor	BioGenex (San Ramon, CA, USA)
p53	NoVoCaste Lab (NCL)	Clona D0 – 7	1:50	Calor	NewCastle, UK
Ciclina-D1	Dako Cytomation	Clona DSC-6	1:25	Calor	Dako Cytomation, (Glostrup, Denmark)
Ki-67	Dako Cytomation	Clona MIB-1	1:100	Calor	Dako Cytomation, (Glostrup, Denmark)

6.4. TÉCNICA DE INMUNOHISTOQUÍMICA SISTEMA ENVISIÓN

Con esta técnica se estudiaron las biopsias de tejido del cáncer de cérvix, de los 93 pacientes pertenecientes a España y a Mozambique. De todas las muestras parafinadas se tomaron cortes de 4 micras de espesor y se depositaron en porta-láminas previamente tratadas con fijador (formol tamponado). Estas fueron sometidas al complejo inmunohistoquímico Avidina-Biotina, empleando un panel de cinco anticuerpos: ; para la p53 (clona DO- 7); bcl-2 (clona 124,3); Ki-67 (clona MIB-1); c-erbB-2 (policlonal) y Ciclina-D1 con la clona DSC-6. El tetrahidrocloruro 3-3´diamino bencidina (DAB) fue utilizada como cromógeno revelador de la inmuno-reacción en los sistemas de marcaje. Los casos fueron registrados con un porcentaje de células positivas por campo teniendo como referencia un control positivo conocido para cada anticuerpo empleado.

La aplicación de la técnica inmunohistoquímica sistema **EnVision** (Dako, Denmark) obedeció a las siguientes etapas:

1. Las muestras de tejidos fueron fijados en formol tamponado. Se produce reticulación de las proteínas, con exceso de uniones aldehído, por lo que se realizó un desenmascaramiento antigénico.
2. Inclusión de las muestras en parafina.
3. Cortes con micrótopo de 3-4 micras sobre portas señalizados o tratados.
4. Deparafinación y rehidratación de los tejidos con xilol y gradiente de alcoholes hasta agua destilada.
5. Recuperación antigénica mediante calor o enzimática
6. Se realiza la unión Ag-Ac. Se cubre la muestra con la dilución del Anticuerpo primario. El **tiempo de incubación** es de media hora
7. Lavar con tampón TBS (mínimo 2 veces x 5 minutos).
8. Unión al Anticuerpo secundario mediante el sistema EnVision (DAKO, Glostrup, Denmark).
Consiste en polímero de dextrano de alto peso molecular conjugado al Ac secundario y a la enzima peroxidasa. **Tiempo de incubación** media hora.
9. Lavar con tampón TBS (mínimo 2 veces x 5 minutos)
10. Sistema de revelado se realiza con un sustrato y un cromógeno.
El sustrato es peróxido de hidrógeno y el cromógeno tetrahidrocloruro 3-3´diamino bencidina (DAB). Se prepara con 1ml de diluyente + 1 gota de DAB concentrado. El tiempo de incubación es 5-10 minutos
11. Lavar con tampón TBS (mínimo 2 veces x 5 minutos)
12. Tinción de contraste con hematoxilina de Mayer
Tiempo de incubación 2 minutos
13. Lavar con agua corriente (mínimo 2 veces x 5 minutos)
14. Deshidratación con gradiente creciente de alcoholes hasta xilol.
15. Montaje permanente de las preparaciones con DPX

El sistema EnVision es un sistema que incrementa la sensibilidad de la técnica, la reacción es sólo en dos pasos, y se elimina el problema de la biotina endógena.

La máquina utilizada para este proceso se llama DAKO AUTOSTAINER, Universal Staining System

Para el **examen microscópico** de las muestras estudiadas se usó, el microscopio Olympus perteneciente al Departamento de Anatomía Patológica del Hospital del Mar y fue realizado de modo independiente y cegado por dos examinadores, un de los cuales es un *expert* en el cáncer de cérvix.

6.5. EVALUACIÓN DE LOS PORTAS

Los arrays de tejido en los portas estaban dispuestos en hileras de 5 a 6 de manera vertical y horizontal. Cada uno de los tejidos expuestos, fue considerado positivo al HPV si en la observación se encontraban núcleos hiper cromáticos, típicos de la infección.

En los arrays tratados con la técnica inmunohistoquímica se hizo la cuantificación de los marcadores empleados, presentes en el núcleo, membrana nuclear o citoplasma (dependiendo de la afinidad del antígeno). En este sentido, la p53 y la Ki-67 marcaban los antígenos situados en el núcleo; la Bcl2 y la Ciclina-D1 marcaban en el citoplasma, y la c-erbB-2 en la membrana celular. Generalmente se visualiza un producto de color castaño pardo.

El porcentaje de expresión nuclear de la p53 y de ki67 fue determinado calculando la media de los cuatro campos microscópicos de gran aumento (40x) con mayor número de núcleos teñidos.

En los marcadores de membrana celular (c-erbB-2) y en los marcadores de citoplasma (bcl-2 y Ciclina D-1) se escogían las zonas de mayor densidad del producto.

En base a este criterio, se consideró cada caso como **sin-expresión** de las oncoproteínas cuando no se observó concentración de los respectivos productos en cada una de las estructuras celulares ya descritas y con **expresión positiva** en el caso contrario.

Aunque las láminas hayan sido observadas ciegamente (en relación al estado o evolución clínica de los casos) por dos personas distintas, puede haber algún subjetivismo en la cuantificación, sobretodo en relación a los casos de escasa coloración. Para minimizar el margen de error, se estableció un método usado por varios investigadores tal como lo usó el autor *Kersemaekers y col, (1999)*.

Los resultados de la coloración de las proteínas fueron agrupados estableciéndose escalas a través de los cuales se sumarió el **porcentaje** de células tumorales positivamente coloreadas obedeciendo a los siguientes criterios: **0**, sin-expresión; **1**, cuando los porcentajes variaron entre 1-25%; **2**, cuando variaron entre 26-50%; **3**, cuando fueron mayores que 50%.

La **intensidad** fue estimada en comparación con los grupos de control y fue establecido escalas de la siguiente manera: **0** - no coloridos, **1**- escaso, **2**- moderado **3**- fuerte.

Al final se estableció una *escala* calculado en base a la suma de los grados de porcentajes y de los grados de intensidad, los cuales resultaran en escalas que variaran entre **0** a **6**. Así fueron agrupados de la siguiente manera: **0-1**=negativo; **2-3** fueron considerados escasos; **4-5** considerados moderados y **6** considerados fuertes.

Debido al numero reducido de casos, el análisis bivariada se hizo solamente con dos grupos: negativo o sin expresión cuando se trataba de casos de 0 a 1 como referimos anteriormente, y todos los demás fueron agrupados en un grupo con expresión.

6.6. ACLARACIÓN DE ALGUNAS VARIABLES

- ▶ En este estudio se consideró **tiempo de seguimiento** de las pacientes, el período entre la fecha de diagnóstico hasta el último contacto o hasta el fallecimiento del paciente.

- ▶ **Recidiva** la reaparición de tumor maligno 8 meses después del fin de tratamiento

- ▶ **Supervivencia**: el intervalo de tiempo que transcurrió desde la culminación de la terapéutica hasta la muerte

- ▶ **Mortalidad**: sólo se consideró los casos de muerte por cáncer del cérvix

6.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los datos clínico-epidemiológicos, anatómo-histológicos e inmunohistoquímicos fue realizado en el Departamento de Pediatría, Ginecología y Obstetricia y Medicina Preventiva de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona.

El proceso de depuración, recodificación y análisis estadístico de las variables fue realizado a través del paquete estadístico SPSS/PC 12.0.

El procedimiento de análisis tuvo una fase descriptiva univariada de las variables y después se hizo el análisis bivariada involucrando la variable de interés y las explicativas usándose la prueba *ji cuadrado* (χ^2).

Se evaluó posibles asociaciones entre la inmunodetección de las oncoproteínas (p53, c-erbB-2, bcl-2, Ciclina-D1 y ki-67) y las características clínico-patológicas (invasión del estroma, invasión de parametrios, tamaño del tumor, infiltración vascular, tipo histológico y estadios FIGO). La magnitud de esta asociación fue estimada a través de una *ji cuadrada*, a un nivel de significancia de 5%.

El análisis univariante de la supervivencia fue conducido usando el método de Kaplan-Meier y la significancia de la diferencia entre los grupos fue probada usando la prueba log-rank. En todos los testes se consideró el valor de *p* menor de 0.05, indicativo de una diferencia significativa.

RESULTADOS

VII – RESULTADOS

En este capítulo se presentan los resultados del estudio realizado en el Hospital del Mar de Barcelona y en el Hospital Central de Maputo sobre el cáncer del cérvix uterino (CACU), donde se describe el perfil clínico-epidemiológico y el nivel de expresión de las proteínas biológicas de mujeres procedentes de dos poblaciones distintas. En las dos muestras se estudian los factores clínicos y biológicos que influyen sobre la recidiva, la persistencia y mortalidad por esta enfermedad a lo largo del tiempo.

7.1 - DESCRIPTIVA UNIVARIANTE

En esta primera parte del estudio se presentan los resultados sobre el perfil clínico-epidemiológico, características clínico-anatomopatológicas y biológico de las mujeres con cáncer de cérvix uterino procedentes del Hospital del Mar de Barcelona y Hospital Central de Maputo, utilizando solamente el análisis univariado.

7.1.1. DESCRIPCIÓN DEL PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLOGICO

Fueron estudiadas un total de 93 pacientes, siendo 47 de Hospital del Mar de Barcelona y 46 del Hospital Central de Maputo.

7.1.1.1. Edad y su recodificación

Para la creación de los grupos de edad se distribuyó las 47 pacientes de Hospital del Mar de Barcelona y las 46 pacientes de Hospital Central de Maputo en cinco grupos etáreos, basándose en la lista inicial de distribución de frecuencias

Estudios anteriores realizados en Maputo (*Berit Rostad y cols, 2001*) y en países vecinos (*Lancaster EJ y col, 1999*) indicaron una mayor prevalencia de cáncer de cérvix en mujeres con edad inferior a 40 años. En este sentido y en base a un análisis previo de frecuencias de la variable edad, donde fue evidente un elevado número de casos en mujeres menores de 39 años, se optó por un criterio de distribución de grupos de edad considerando los 39 años como límite para el primer grupo.

No hubo casos perdidos, es decir, casos sin información sobre la edad. Cada grupo fue codificado con valor entre 0 y 4 conforme se ilustra en las tablas 1 y 2.

Tabla 1 - Frecuencia de las pacientes con CACU en **Hospital del Mar de Barcelona**, por grupos de edad

Código	Rango	Número de pacientes	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado	
0	< de 39	3	6.4	6.4	
1	40 - 45	10	21.3	27.7	
2	46 - 56	12	25.5	53.2	
3	57 - 73	11	23.4	76.6	
4	> de 73	11	23.4	100.0	
Total		47	100.0		
<i>Media = 58</i>		<i>SD = 14,5</i>	<i>Mediana=56</i>	<i>Min =39</i>	<i>Max =85</i>

El total de las 47 pacientes de Hospital del Mar tenían una edad comprendida entre los 39 años y los 85 años; con una media de 58 años; la mediana fue igual a 56. El grupo de edad entre los 46 y 56 años fue el que presentó mayor número de casos con cáncer de cérvix uterino, 12 (25,5%).

Tabla 2 - Frecuencia de las pacientes con CACU en **Hospital Central de Maputo**, por grupos de edad

Código	Rango	Número de pacientes	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
0	< de 39	17	37.0	37.0
1	40 - 45	8	17.4	54.3
2	46 - 56	9	19.6	73.9
3	57 - 73	11	23.9	97.8
4	> de 73	1	2.2	100.0
Total		46	100.0	
<i>Media = 46</i>		<i>SD = 14,9</i>	<i>Mediana = 42,5</i>	<i>Min =24</i> <i>Max =81</i>

En cuanto al grupo del Hospital Central de Maputo, se constató que en el total de las 46 pacientes, la edad varió entre los 24 y los 73 años. La media de la edad fue de 46 años y la mediana de 42,5 años.

El grupo de edad que registró mayor numero de casos, 17 (37%), fue el de pacientes con edad inferior o igual a 39 años.

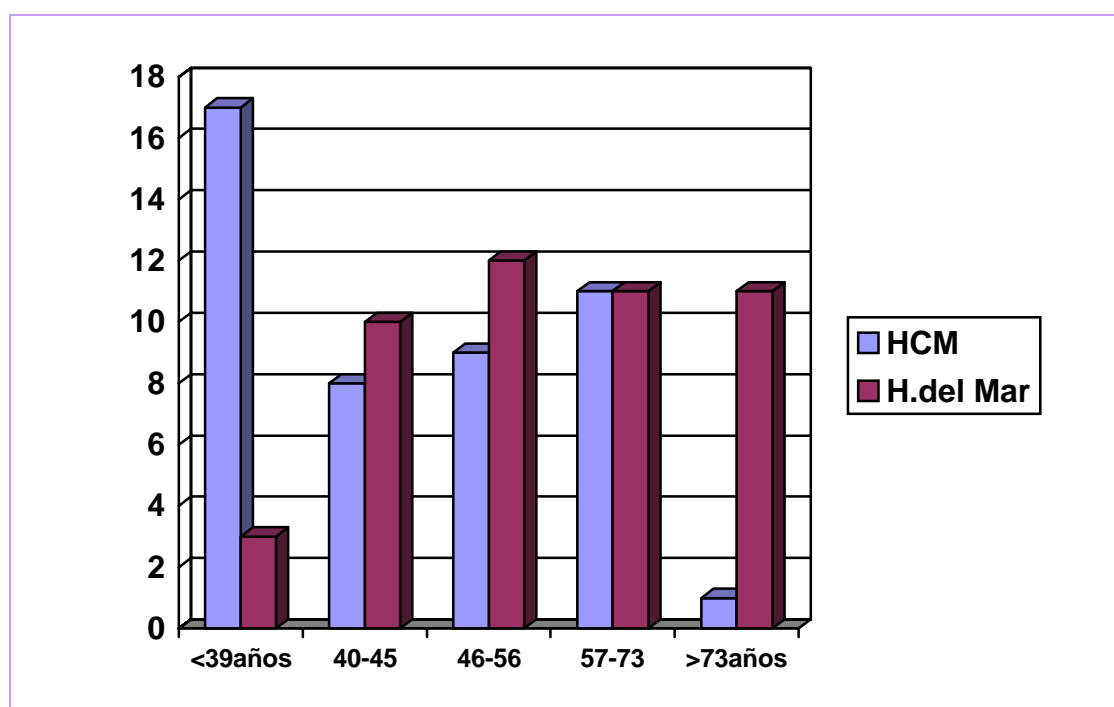


Gráfico 1 - Distribución de las dos muestras (del HCM y del H. del Mar) por grupos de edad

7.1.1.2. Antecedentes gineco-obstétricos, hábitos alcohólicos y tabáquicos

Tabla 3 – Antecedentes ginecológicos-obstétricos y hábitos alcohólicos y tabáquicos de las pacientes con CACU en el Hospital del Mar y Hospital Central de Maputo

VARIABLE	Hospital del Mar de Barcelona			Hospital Central de Maputo	
	N	%		N	%
Paridad					
<i>0</i>	2	4.3		0	0.0
<i>1</i>	7	14.9		6	13.0
<i>2</i>	14	29.8		6	13.0
<i>Más de 3</i>	24	51.0		34	74.0
Total	47	100.0		46	100.0
Numero de abortos					
<i>0</i>	34	72.3		23	50.0
<i>1</i>	10	21.3		17	37.0
<i>Más de 1</i>	3	6.4		6	13.0
Total	47	100.0		46	100.0
Prematuros					
<i>0</i>	38	80.8		29	63.0
<i>1</i>	6	12.8		9	19.6
<i>Más de 1</i>	3	6.4		8	17.4
Total	47	100.0		46	100.0
Menopausia					
<i>No</i>	20	42.6		27	58.7
<i>Sí</i>	27	57.4		19	41.3
Total	47	100.0		46	100.0
Anticonceptivo oral					
<i>No</i>	14	29.8		41	89.1
<i>Sí</i>	33	70.2		5	10.9
Total	47	100.0		46	100.0
Hábitos tabáquicos					
<i>No</i>	25	53.2		41	89.1
<i>Sí</i>	22	46.8		5	10.9
Total	47	100.0		46	100.0
Hábitos sexuales					
<i>No consta</i>	44	93.6		17	37.0
<i>Pareja única</i>	2	4.3		20	43.4
<i>Múltiples parejas</i>	1	2.1		9	19.6
Total	47	100.0		46	100.0

Sobre los datos de **paridad** ilustrada en la tabla 3 se puede observar que de las pacientes del Hospital del Mar de Barcelona, el mayor grupo, 24 (51,0%) tenían más

de 3 partos; seguido del grupo de 14 (29.8) mujeres con historia de 2 partos y un grupo menor compuesto de 7 (14,9%) mujeres con menor número de partos. En las enfermas del Hospital del Mar hubo 2 (4.3%) casos sin historia de parto. De las pacientes observadas en H. C. Maputo, el grupo más frecuente, 34 (74%), también fue el de mujeres con más de 3 partos; seguido de un grupo de 6 (13%) mujeres que tuvieron 2 partos y otras 6 con solamente un parto. No hubo mujeres sin historia de parto.

En cuanto a los **abortos**, la mayoría de las pacientes del Hospital del Mar de Barcelona, 34 (72,3%), no sufrieron abortos; seguidas de las que tuvieron 1 aborto, 10 (21,2%). Las restantes, 3 pacientes (6,4%), sufrieron más de 3 abortos. En el Hospital Central de Maputo el mayor grupo, 23 (50%), también se registró en las pacientes sin historia de aborto; seguidas de las que presentaron por lo menos 1 aborto, 17 (37%). El menor grupo es constituido por mujeres que sufrieron más de 1 aborto, correspondiendo a 6 (13%) pacientes.

Respecto a la historia de **prematuros**, en ambos los países, la mayor parte de pacientes niega historia de prematuros; seguida de aquellas con un hijo prematuro siendo 9 (19,6%) en Maputo y 6 (12,8%) en Barcelona. El grupo menor, se registró en las que tuvieron más de 1 prematuro, correspondiendo al 8 (17,4%) casos en el Hospital Central de Maputo y 3 (6,4%) en el Hospital del Mar.

Respecto a los datos sobre la **edad en que tuvieron su primer hijo** y del **número de parejas** que han tenido, se constató que los casos observados en el Hospital del Mar de Barcelona no hay información. En el Hospital Central de Maputo, hay información sobre la edad del primero hijo en 36 (78,3%) pacientes, observándose

que el mayor grupo está compuesto de 18 (50%) mujeres que tuvieron los primeros hijos con edad comprendida entre los 18-20 años, seguida de 12 (33,3%) pacientes que tuvieron el primero hijo con edad inferior a los 17 años. El grupo de menor frecuencia fue de las pacientes con edad igual o superior a 21 años (16,7%). En cuanto al **número de parejas**, la mayoría, 20 (43,4%) casos dijeron tener una sola pareja y 9 (19,6%) casos múltiples parejas, de las restantes 17 (37%) pacientes, no hubo información.

En referencia a los datos sobre **menopausia**, las pacientes de Hospital del Mar de Barcelona se presentaron en mayor proporción, 27 (57,4%) casos, y en menor proporción las pacientes de Hospital Central de Maputo 19 (41,3%). En cambio, el grupo de edad sexualmente activa, se presentó con más frecuencia en el Hospital Central de Maputo, 27 casos (58,7%).

Respecto a los **anticonceptivos**, en ambos grupos predominaron las pacientes que no los habían utilizado. Del grupo de pacientes de Hospital del Mar de Barcelona, 14 (29,8%) tuvieron historia de haber utilizado los anticonceptivos orales, siendo 5 (10,9%) en el Hospital Central de Maputo.

En cuanto a los hábitos **tabáquicos**, la mayor parte de las pacientes de Hospital del Mar, 25 (53,2%) y de las pacientes de Hospital Central de Maputo, 41 (89,1%), no son fumadoras. Sin embargo, en la muestra de Hospital del Mar de Barcelona, la proporción de fumadoras es superior a la observada en la muestra de Hospital Central de Maputo, es decir, un 46,8% (22 casos) contra solamente un 10,9% (5 casos) en el Hospital Central de Maputo.

7.1.1.3. Pacientes con infección del Papiloma Virus Humano (HPV)

Como se puede observar en la tabla 4, en ambos los grupos, el mayor porcentaje de casos estaba infectado con el HPV; hubo 45 (95,7%) en la muestra del Hospital del Mar de Barcelona y 41 (88.9%) en la de Hospital Central de Maputo.

Tabla 4 - Pacientes del Hospital del Mar y del Hospital Central de Maputo con CACU y HPV

HPV	Hospital del Mar		Hospital Central de Maputo	
	N	%	N	%
<i>Negativo</i>	2	4.3	5	10.8
<i>Positivo</i>	45	95.7	41	89.1
Total	47	100.0	46	100.0

7.1.1.4. Antecedentes de Patología Cervical

En cuanto a la patología cervical previa, se constató que en las pacientes observadas en el Hospital del Mar de Barcelona, el mayor número de casos tiene historia de condilomas 11 (23,4%), seguidas de HiSIL 4 (8,5%) y las restantes representaban a las pacientes que tuvieron LoSIL / ASCUS. Es decir, que en 29 casos (61,7%) no había información sobre estas variables en las historias clínicas.

Tabla 5- Distribución de pacientes del **Hospital del Mar** de Barcelona y del **Hospital Central de Maputo** por historia de patología previa cervical y ETS

VARIABLE	Hospital del Mar		Hospital Central de Maputo	
	N	%	N	%
Patología cervical previa				
<i>No consta</i>	29	61.7	41	89.0
<i>Condilomas</i>	11	23.4	4	8.8
<i>LoSIL /ASCUS</i>	3	6.4	0	0.0
<i>HiSIL</i>	4	8.5	1	2.2
Total	47	100.0	46	100.0
Otras ETS				
<i>No</i>	38	80.8	33	71.7
<i>Sí</i>	9	19.2	13	28.3
Total	47	100.0	46	100.0

En las pacientes de Hospital Central de Maputo se constató que no hay registro sobre esta información en la mayoría de los procesos; solamente 4 (8,7%) casos registraron condilomas, patología evidente al examen clínico sin microscopio. Con relación a las restantes patologías que requieren observación microscópica y exámenes de Papanicolaou periódico, hubo poca información.

7.1.1.5. Inmunosupresión

La inmunosupresión debida a la infección por el HIV, fue más frecuente entre los casos del Hospital Central de Maputo donde se observaron 16 (34,8%) casos contra solamente 2 (4,3%) en el Hospital del Mar de Barcelona.

La inmunosupresión por otros motivos se registró en las pacientes del Hospital del Mar, donde se encontraron 2 casos con historia de transplante renal y que hacían tratamiento con anti-inmunosupresores. En el Hospital Central de Maputo no se registró otro tipo de inmunosupresión.

Tabla 6 – Casos de inmunosupresión registrados en las pacientes con CACU en Hospital del Mar de Barcelona y en el Hospital Central de Maputo

VARIABLE	Hospital del Mar		Hospital Central de Maputo		
	N	%	N	%	P
Inmunosupresión por HIV					0.00
<i>Negativo</i>	45	95.7	30	65.2	
<i>Positivo</i>	2	4.3	16	34.8	
Total	47	100.0	46	100.0	
Otros tipos de Inmunosupresión					
<i>No</i>	45	95.7	46	100.0	0.78
<i>Sí</i>	2	4.3	0	0.0	
Total	47	100.0	46	100.0	

7.1.1.6. Estadio clínico según la clasificación internacional de FIGO

La distribución de las pacientes por estadios clínicos, fue hecha en base a la clasificación internacional de FIGO, habiéndose constatado lo que, de forma resumida, se presenta en la tabla 7 y en el gráfico 2.

En los datos de Hospital del Mar de Barcelona, el estadio encontrado con más frecuencia fue el estadio IB2 con 16 (34%) casos; seguido del estadio IIA con 13 (27,7%) casos, después el estadio IB1 con 6 (12,8%) y el estadio IA2 con 4 (8,5%). Los estadios IIB y IIIA están presentes con la misma proporción de casos 3 (6,4%) cada uno. El menor grupo fue el de las pacientes con estadio IA1 en que solamente hubo 2 casos (4,3%).

En el Hospital Central de Maputo, el mayor número de casos, se verificó en los estadios IIB con 13 (28,3%) y IIA con 10 (21,8%); seguido del estadio IVA y IB1 con

igual número de casos 6 (13%). El menor número fue registrado en el grupo perteneciente al estadio IIIA.

Tabla 7 – Características de las pacientes con CACU en el **Hospital del Mar** de Barcelona y en el **Hospital Central de Maputo** por estadios de FIGO

	Estadios (FIGO)	HOSPITAL DEL MAR		HOSP. CENTRAL DE MAPUTO	
		Nº pacientes	Porcentaje válido	Nº pacientes	Porcentaje válido
Precoz	IA1	2	4.3	0	0.0
	IA2	4	8.5	0	0.0
	IB1	6	12.8	6	13.0
Localmente avanzado	IB2	16	34.0	5	10.9
	IIA	13	27.6	10	21.8
	IIB	3	6.4	13	28.3
	IIIA	3	6.4	2	4.3
	IIIB	0	0.0	4	8.7
Metastático	IVA	0	0.0	6	13.0
	IVB	0	0.0	0	0.0
	Total	47	100.0	46	100.0

En resumen, los estadios precoces fueron más frecuentes entre las pacientes del Hospital del Mar, mientras que entre las del Hospital Central de Maputo predominaron los casos con estadios más avanzados (gráfico 2). En los casos localmente avanzados, el estadio predominante en el Hospital del Mar es el IB2 (34%), mientras que en el Hospital Central de Maputo el estadio más frecuente es IIB (28,2%); un total de 54,3% de los casos del Hospital Central de Maputo contra solamente un 12,8% de los casos de Hospital del Mar, presentaron estadios FIGO IIB o estadios más avanzados. En el Hospital del Mar no hubo casos con estadios

metastáticos, mientras que en el Hospital Central de Maputo se registraron 13% de casos con estadio metastático (IVA).

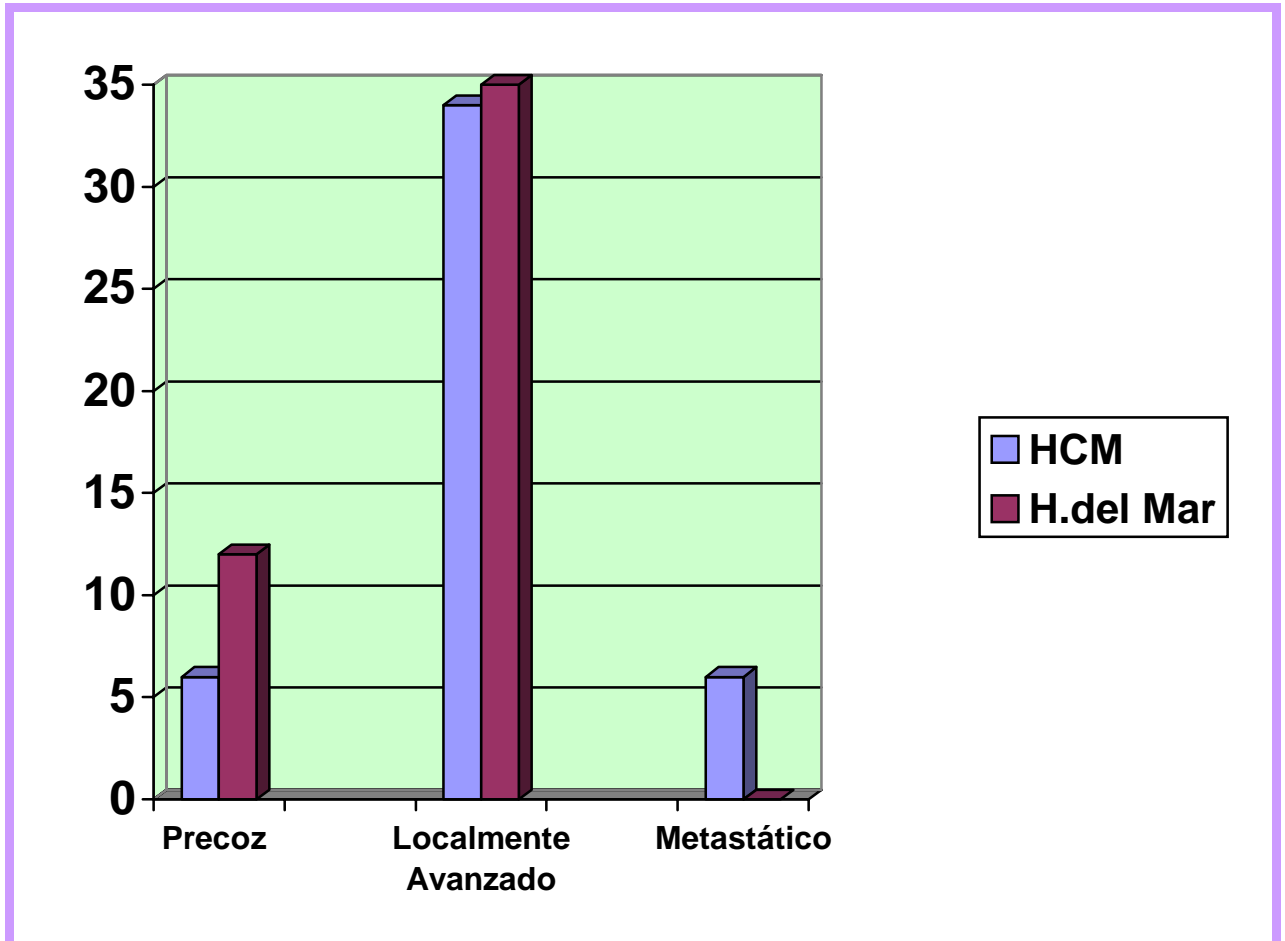


Grafico 2 – Características de las pacientes con CACU en el **Hospital del Mar** de Barcelona y en el **Hospital Central de Maputo** por estadios de FIGO predominantes.

7.1.2. CARACTERÍSTICAS ANATOMOHISTOLÓGICAS

7.1.2.1. Características Anatomo-histopatológicas de los casos en general

En la tabla 8 se puede observar que en ambos grupos estudiados, hay un gran predominio de cáncer de cérvix de tipo epidermoide o escamoso, con un registro de un 87,2% entre las enfermas del Hospital del Mar y un 89,1% entre las observadas en el Hospital Central de Maputo. Los adenocarcinomas fueron menos frecuentes en los dos grupos de pacientes.

Respecto al **tamaño del tumor**, se decidió agrupar los casos en tres subgrupos (de ≤ 3 cm, 4-6cm y mayores que 6 cm) conforme se ilustra en la tabla 8, donde se observan las diferencias entre los casos de Barcelona y los de Maputo. Basándose en este criterio se constató que el grupo de pacientes del Hospital Central de Maputo presentaron tumores más voluminosos, es decir, con diámetro superior a 3cm, mientras que entre las mujeres del Hospital del Mar de Barcelona, la mayor parte de los tumores tenía menor diámetro.

Sin embargo, en el análisis bivariado se consideraran solamente 2 grupos (menor o igual a 3 y mayor que 3cm) para facilitar el análisis y su interpretación dado que la muestra es pequeña y habría muchas casillas con datos muy reducidos.

Tabla 8 – Caracterización anatomopatológica de las pacientes con CACU en el Hospital del Mar de Barcelona y en el Hospital Central de Maputo

Variable	Hospital del Mar		H. C. Maputo		X ²	GL	P
	N	%	N	%			
Tipo histológico							
<i>Epidermoide</i>	41	87.2	41	89.1	1.05	2	0.78
<i>Adenocarcinoma de células claras</i>	2	4.3	3	6.5			
<i>Adenocarcinoma puro</i>	4	8.5	2	4.4			
Total	47	100.0	46	100.0			
Tamaño del tumor							
<i>≤ 3cm</i>	23	48.9	13	28.3	10.49	2	0.001
<i>4 – 6 cm</i>	20	42.6	15	32.6			
<i>> 6 cm</i>	4	8.5	18	39.1			
Total	47	100.0	46	100.0			
Extensión del tumor							
<i>Precoz</i>	12	25.5	6	13.0	7.65	2	0.02
<i>Localmente avanzado</i>	35	74.5	34	74.0			
<i>Metastático</i>	0	0.0	6	13.0			
Total	47	100.0	46	100.0			
Invasión de parametrios							
<i>No</i>	31	66.0	22	47.8	4.98	1	0.03
<i>Sí</i>	16	34.0	24	52.2			
Total	47	100.0	46	100.0			
Infiltración Vascular							
<i>No</i>	29	61.7	18	39.1	4.74	1	0.03
<i>Sí</i>	18	39.3	28	60.9			
Total	47	100.0	46	100.0			
Invasión del estroma							
<i>Superficial</i>	26	55.3	11	23.9	3.64	1	0.06
<i>Profunda</i>	21	44.7	35	76.1			
Total	47	100.0	46	100.0			

En cuanto a la **extensión del tumor**, el grupo de las pacientes del Hospital del Mar de Barcelona tuvo mayor número de casos de cáncer de cérvix localmente avanzados, que correspondió a 35 (74,5%), seguida de los casos con estadio precoz 12 (25,5%). En cuanto al grupo del Hospital Central de Maputo, aunque también se registró el mayor porcentaje entre los casos localmente avanzados 34 (74%), hay un

número considerablemente alto de casos metastáticos, 6 (13%), frente a los casos del Hospital del Mar en que no hubo ningún caso, y en la muestra del Hospital Central de Maputo hubo menor porcentaje de casos de estadios precoces, 6 casos (13%), contra 12 (25,5%) en la muestra del Hospital del Mar.

Sobre los **parametrios** observados se verificó que la gran mayoría, 31 (66%), de las pacientes del Hospital del Mar de Barcelona, no presentaban invasión de los parametrios, mientras que en las pacientes de Hospital Central de Maputo el mayor porcentaje fue en las pacientes con invasión de los parametrios, 24 (52,2%), con una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

Lo mismo ocurrió con la **infiltración vascular** y la **invasión del estroma** donde se observó que las enfermas del HCM tenían mayor porcentaje de casos con infiltración vascular (60,9%) y de invasión profunda del estroma (76,1%), respectivamente.

7.1.2.2. Características Histopatológicas de los casos Operados

Tabla 9 – Caracterización histopatológica de pacientes con cáncer de cérvix uterino en el Hospital del Mar de Barcelona y en el Hospital Central de Maputo

VARIABLE	Hospital del Mar		Hospital Central de Maputo	
	N	%	N	%
Tipo histológico				
<i>Epidermoide</i>	34	85.0	18	78.3
<i>Adenocarcinoma de células claras</i>	2	5.0	3	13.0
<i>Adenocarcinoma puro</i>	4	10.0	2	8.7
Total	40	100.0	23	100.0
Invasión del estroma				
<i>Superficial</i>	26	65.0	11	47.8
<i>Profunda</i>	14	35.0	12	52.2
Total	40	100.0	23	100.0
Infiltración vascular				
<i>No</i>	23	57.5	6	26.1
<i>Sí</i>	17	42.5	17	73.9
Total	40	100.0	23	100.0
Ganglios afectados (WM + Linf)				
<i>0 ganglio</i>	25	71.4	-	-
<i>1 ganglio</i>	3	8.6	-	-
<i>≥ 2 ganglios</i>	7	20.0	-	-
Total	35	100.0	-	-
Márgenes afectados				
<i>No</i>	38	95.0	18	78.3
<i>Sí</i>	2	5.0	5	21.7
Total	40	100.0	23	100.0

- Sin datos

El tipo histológico que predominó en las dos muestras de pacientes que tuvieron como tratamiento primario la cirugía, fue el cáncer de tipo epidermoide o escamoso, con 34 casos (85%) en el Hospital del Mar y 18 casos (78,3%) en el Hospital Central de Maputo.

En cuanto a la invasión del estroma, el grupo de las pacientes operadas en el Hospital Central de Maputo registró mayor número de casos, 12 (52,2%) de invasión profunda del estroma, contra los 11 casos (47,8%) con invasión superficial. En la

muestra del Hospital del Mar hubo mayor número de casos, 26 (65%), con invasión superficial del estroma.

De igual modo, la gran mayoría, 17 (73,9%), de las pacientes del Hospital Central de Maputo, presentaban infiltración vascular, contra las pacientes del Hospital del Mar en que la mayoría, 23 (57,5%), no presentaban infiltración vascular (sí, No).

Respecto a los ganglios linfáticos encontrados, solamente la muestra del Hospital del Mar tenía la información. El mayor número de casos 25 (71,4%) fueron los que no se registró presencia de ganglios positivos, seguida de 7 casos (20%) que presentaron dos o más ganglios positivos y 3 casos (8,6%) con solamente un ganglio positivo. Merece mención señalar que no en todos los casos se practicó la histerectomía con linfadenectomía. Las pacientes en las que se encontraron ganglios positivos son los casos sometidos a la histerectomía con linfadenectomía.

En las pacientes del Hospital del Mar, 2 casos (5%), presentaron márgenes afectados en la pieza quirúrgica y en la muestra del Hospital Central de Maputo, hubo 5 casos (21,7%) con afectación de los márgenes post cirugía.

7.1.3. TIPO DE TRATAMIENTO Y EVOLUCIÓN

En cuanto al tratamiento, en ambos grupos, el tratamiento primario más frecuente fue la cirugía. Entre el total de casos (n = 63) operados, 40 (63,5%) son pacientes del Hospital del Mar de Barcelona y 23 (36,5%) del Hospital Central de Maputo. De entre las enfermas del Hospital del Mar, 6 (12,8%) hicieron radioterapia y solamente 1 paciente (2,1%) hizo quimioterapia neoadyuvante añadido de radioterapia.

Tabla 10 – Tratamiento y estado actual de las pacientes con CACU en el Hospital del Mar de Barcelona y en el Hospital Central de Maputo

VARIABLE	Hospital del Mar			Hospital Central de Maputo		P
	N	%		N	%	
Tratamiento primario						0.00
<i>Cirugía</i>	40	85.1		23	50.0	
<i>Radioterapia</i>	6	12.8		4	8.8	
<i>Qt neod + RDT ó Cirugía</i>	1	2.1		1	2.2	
<i>Paliativo</i>	0	0.0		18	39.0	
Total	47	100.0		46	100.0	
Muerte por cáncer cervical						
<i>No</i>	41	87.2		33	71.7	0.06
<i>Sí</i>	6	12.8		13	28.3	
Total	47	100.0		46	100.0	
Estado vital						
<i>Viva sin enfermedad</i>	30	64.0		12	26.1	0.00
<i>Viva con enfermedad</i>	9	19.0		18	39.1	
<i>Muerte por cáncer</i>	6	12.8		13	28.2	
<i>Muerte por otra causa</i>	2	4.2		1	2.2	
<i>Desconocido</i>	0	0.0		2	4.4	
Total	47	100.0		46	100.0	
Recidivas (pacientes operadas)						
<i>No</i>	35	87.5		15	65.2	0.03
<i>Sí</i>	5	12.5		8	34.8	
Total	40	100.0		23	100.0	

En la muestra del Hospital Central de Maputo, la cirugía fue también el tratamiento más utilizado, 23 casos (50%), seguido de un número significativo de pacientes, 18 (39%), que sólo recibieron tratamiento paliativo. Hubo 4 (8,8%) casos de pacientes que hicieron quimioterapia neoadyuvante, añadido con radioterapia ó cirugía, respectivamente.

En el Hospital del Mar de Barcelona, el tipo de cirugía predominante aplicado en el tratamiento primario fue la histerectomía radical tipo Wertheim-Meigs, o clase III de Piver, y hubo pocos casos con histerectomía radical limitada (clase II de Piver) o extrafacial. La gran mayoría de estas pacientes intervenidas fueron posteriormente sometidas a la radioterapia y/o a la quimioterapia.

Durante el seguimiento de todas las pacientes se verificó que entre las del Hospital del Mar de Barcelona, 30 casos (64%) están vivas sin señales de enfermedad; 9 (19%) casos, aunque vivas, permanecían enfermas, 6 (12,8%) casos murieron de complicaciones del cáncer de cérvix y 2 (4,4%) casos se murieron de otras enfermedades una de las cuales, era una paciente obesa con insuficiencia cardíaca. Esta paciente tuvo la última citología vaginal normal, exámenes complementarios sin indicio de cáncer, pero seguía teniendo visitas de control en cardiología por la insuficiencia cardíaca. Cuatro años post cirugía se murió de un infarto de miocardio. El otro caso fue de una paciente toxicómana-dependiente que se murió 3 años después por parada cardiorrespiratoria súbita.

En las pacientes del Hospital Central de Maputo, 12 casos (26,1%) estaban vivas sin enfermedad; 18 casos (39,1%) aún presentaban manifestaciones de la enfermedad;

13 casos (28,2%) murieron a causa del cáncer de cérvix. Hubo un caso (2,2%) que se murió de tuberculosis pulmonar.

Analizando aún la muestra del Hospital Central de Maputo, hubo 2 (4,3%) casos perdidos, que no se conoce el estado vital actual pues, después de un cierto tiempo, no volvieron a los controles indicados.

En la muestra del Hospital de Mar, fueron encontradas recidivas en 5 pacientes (12,5%) y las restantes, 35 casos (87,5%), no tuvieron recidivas. En la muestra del Hospital Central de Maputo 8 (34,8%) presentaron recidivas siendo 5 de entre ellas sero-positivas. Las restantes 15 pacientes (65,2%) no tuvieron recidivas.

En la tabla 11 se presenta el tiempo medio de seguimiento de las pacientes estudiadas.

Tabla 11– Tiempo de seguimiento de las pacientes con CACU en el Hospital del Mar de Barcelona y en el Hospital Central de Maputo

VARIABLE	Hospital del Mar		Hospital Central de Maputo	
	Meses media	SD*	Meses media	SD*
Tiempo de seguimiento				
Todas las Pacientes(Global)	40.39	29.66	23.66	10.92
Pacientes persistentes	45.38	29.99	38.34	11.56
Pacientes con recidiva	50.54	30.66	15.30	10.86
Pacientes curadas	38.61	29.51	34.70	10.66
Pacientes muertas	16.17	9.10	6.31	5.10

El tiempo medio de seguimiento de las pacientes en el Hospital del Mar de Barcelona fue de 40.39 meses con un tiempo mínimo de 4 meses y un máximo de 118 meses;

en Maputo, el tiempo medio fue de 23.66 meses con un mínimo de 4 meses y un máximo de 49 meses.

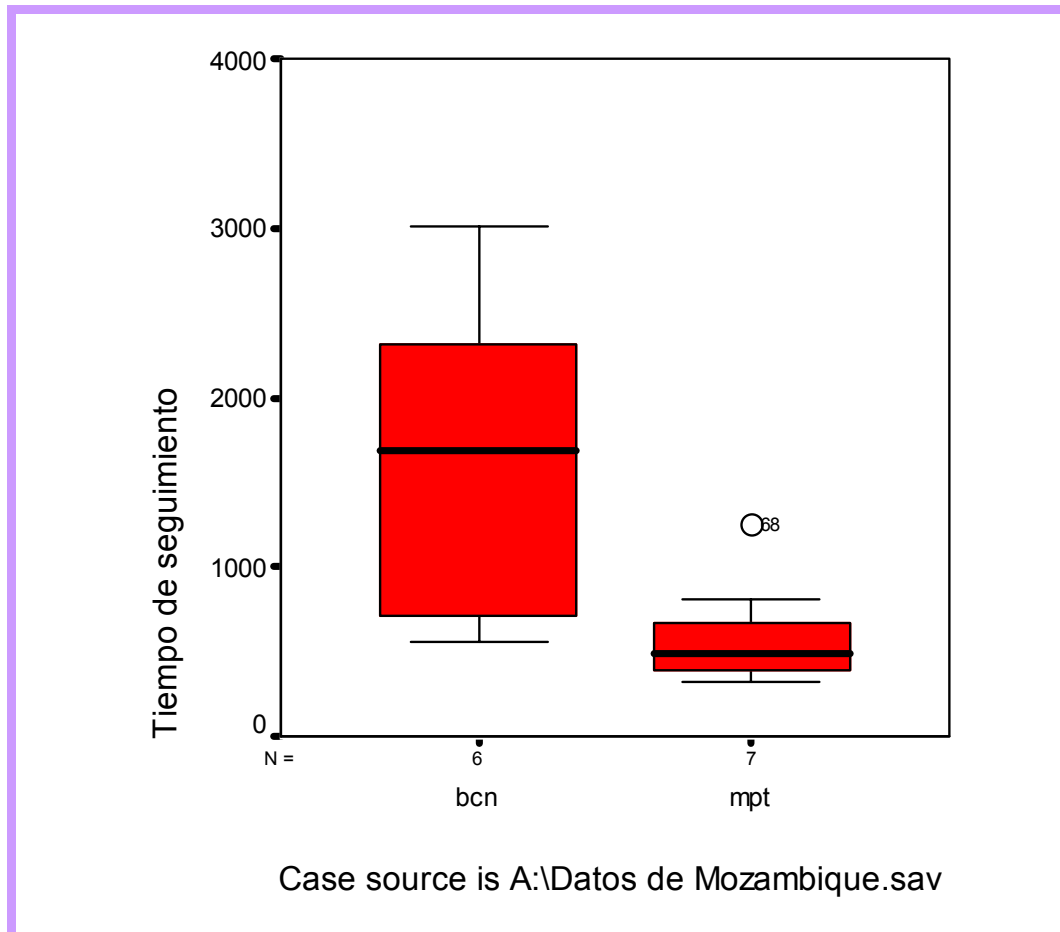


Gráfico 3 - Tiempo de seguimiento de los casos del Hospital del Mar (Barcelona) y del Hospital Central de Maputo (Maputo)

7.1.4. EXPRESIÓN DE LAS PROTEÍNAS BIOLÓGICAS DEL TUMOR

En cada una de las muestras, es decir del Hospital del Mar de Barcelona y del Hospital Central de Maputo, usando técnicas de inmunohistoquímica, se determinó la expresión de las proteínas **p53**, **bcl-2**, **Ki-67**, **c-erbB-2** y la **Ciclina-D1** y se obtuvieron los resultados resumidos en la tabla 12.

Tabla 12– Nivel de expresión de las proteínas biológicas del tumor en las pacientes estudiadas

VARIABLE	Hospital del Mar de Barcelona		Hospital Central de Maputo	
	N	%	N	%
Proteína p53				
<i>No expresión</i>	25	53.2	33	71.1
<i>1% - 25%</i>	19	40.4	9	19.6
<i>25% - 50%</i>	3	6.4	2	4.3
<i>> 50%</i>	0	0.0	2	4.3
Total	47	100.0	46	100.0
Proteína bcl-2				
<i>No expresión</i>	22	46.8	14	30.4
<i>1% - 25%</i>	23	48.9	19	41.4
<i>25% - 50%</i>	2	4.3	10	21.7
<i>> 50%</i>	0	0.0	3	6.5
Total	47	100.0	46	100.0
Proteína Ki-67				
<i>No expresión</i>	24	51.1	12	26.1
<i>1% - 25%</i>	12	25.5	27	58.7
<i>25% - 50%</i>	11	23.4	7	15.2
<i>> 50%</i>	0	0.0	0.0	0.0
Total	47	100.0	46	100.0
Proteína c-erbB-2				
<i>No expresión</i>	31	66.0	27	58.7
<i>1% - 25%</i>	15	31.9	9	19.6
<i>25% - 50%</i>	1	2.1	3	6.5
<i>> 50%</i>	0	0.0	7	15.2
Total	47	100.0	46	100.0
Proteína Ciclina-D1				
<i>No expresión</i>	33	70.2	36	78.3
<i>1% - 25%</i>	4	8.5	6	13.0
<i>25% - 50%</i>	2	4.3	4	8.7
<i>> 50%</i>	8	17.0	0	0.0
Total	47	100.0	46	100.0

Conforme se ilustra en la tabla 12, de un modo general, la expresión de todas las proteínas fue más acentuada en las muestras del Hospital Central de Maputo frente a los casos del Hospital del Mar de Barcelona. Las diferencias se destacan más en las proteínas bcl-2, Ki-67 y c-erbB-2, donde la proporción de casos sin expresión es mayor en la muestra del Hospital del Mar.

Enseguida se describe en detalle la expresión de cada una de las proteínas y su correlación con las demás variables estudiadas.

Proteína p53

La expresión de la proteína p53 fue negativa en 25 (53,2%) casos del Hospital del Mar y en 33 (71,1%) casos del Hospital Central de Maputo. Hubo 2 (4.3%) de los casos del Hospital Central de Maputo que tuvieron una expresión superior a un 50%. En la otra muestra no se encontraron casos de fuerte expresión de la proteína p53.

Proteína bcl-2

La expresión de la proteína bcl-2, fue negativa en 22 (46,8%) casos del Hospital del Mar y en 14 (30,4%) casos del Hospital Central de Maputo; la expresión fue de 1 a 25% en 23 (48,9%) casos en el Hospital del Mar de Barcelona y en 19 (41,4%) en el Hospital Central de Maputo. Solamente 3 (6.5%) de los casos del Hospital Central de Maputo tuvieron una expresión superior a un 50%.

Proteína ki-67

Respecto a la proteína Ki-67, el porcentaje de casos sin expresión es muy alta en el Hospital del Mar (51,1%), mientras que en la muestra del H. Central de Maputo predominó la proporción de casos con una expresión que varía de 1 a 25%, 27 casos (58,7%).

En la muestra del Hospital del Mar de Barcelona, 11 casos (23,4%) tuvieron una expresión de 25 a 50%.

Proteína c-erbB-2

Aunque en ambas muestras la expresión ligera fue la más frecuente, es decir, entre 1-25%, la expresión fuerte de la proteína c-erbB-2 fue presente en un 15,2% de la muestra del Hospital Central de Maputo contra un 0% del Hospital del Mar de Barcelona.

En las dos muestras los porcentajes de casos sin expresión fueron superiores a un 50%.

Proteína Ciclina-D1

De igual modo el porcentaje global de los casos con expresión de la proteína Ciclina-D1 fue más alta en la muestra del Hospital del Mar de Barcelona (29,8%) contra un 21,7% del Hospital Central de Maputo. Esta diferencia es más evidente cuando se analiza por niveles de expresión, donde se puede observar que en la muestra del H. de Mar de Barcelona hay un 17% de casos con expresión superior a un 50%, contra 0% en la muestra del H. Central de Maputo.

Los resultados de la intensidad de la immuno-marcación de las proteínas biológicas fue de cierto modo congruente con los porcentajes observados en la tabla anterior, sobretodo con relación a los casos sin expresión. Sin embargo hay algunas diferencias en las proteínas p53 e bcl-2 (ver tabla 13).

Tabla 13 – Grados de intensidad de la immuno-marcación de las proteínas biológicas del cáncer en las pacientes estudiadas

VARIABLE	Hosp. del Mar Barcelona		Hospital Central de Maputo	
	N	%	N	%
Proteína p53				
<i>No-expresión</i>	24	51.1	32	69.6
+	13	27.7	2	15.2
++	5	10.6	5	10.9
+++	5	10.6	7	4.3
Total	47	100.0	46	100.0
Proteína bcl-2				
<i>No-expresión</i>	21	44.7	12	26.1
+	3	6.4	1	2.2
++	13	27.7	5	10.9
+++	10	21.3	28	60.9
Total	47	100.0	46	100.0
Proteína Ki-67				
<i>No-expresión</i>	24	51.1	1	2.2
+	2	4.3	2	4.3
++	11	23.4	12	26.1
+++	10	21.3	31	67.4
Total	47	100.0	46	100.0
Proteína C-erbB-2				
<i>No-expresión</i>	31	66.0	27	58.7
+	1	2.1	3	6.5
++	10	21.3	7	15.2
+++	5	10.6	9	19.6
Total	47	100.0	46	100.0
Proteína Ciclina-D1				
<i>No-expresión</i>	33	70.2	36	78.3
+	0	0	1	2.2
++	3	6.4	2	4.3
+++	11	23.4	7	15.2
Total	47	100.0	46	100.0

Tabla 14– Distribución de las proteínas con base en *ESCALA* resultante de la evaluación de los porcentajes y de las intensidades.

VARIABLE	Hospital del Mar de Barcelona		Hospital Central de Maputo		
	N	%	N	%	P
Proteína p53					0.42
<i>Negativo</i>	38	80.9	34	73.9	
<i>Positivo</i>	9	19.1	12	26.1	
Total	47	100.0	46	100.0	
Proteína bcl-2					
<i>Negativo</i>	24	51.1	13	28.3	0.03
<i>Positivo</i>	23	48.9	33	71.7	
Total	47	100.0	46	100.0	
Proteína Ki-67					
<i>Negativo</i>	26	55.3	3	6.5	0.00
<i>Positivo</i>	21	46.7	43	93.5	
Total	47	100.0	46	100.0	
Proteína c-erbB-2					
<i>Negativo</i>	32	68.1	30	62.5	0.77
<i>Positivo</i>	15	31.9	16	34.8	
Total	47	100.0	46	100.0	
Proteína Ciclina-D1					
<i>Negativo</i>	33	70.2	37	80.4	0.25
<i>Positivo</i>	14	29.8	9	19.6	
Total	47	100.0	46	100.0	

7.2. DESCRIPCIÓN DE LA ASOCIACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE EXPRESIÓN DE LAS ONCOPROTEÍNAS Y LAS VARIABLES ANATOMO-PATOLÓGICAS

Tabla 15 – Descripción de la asociación entre la proteína **p53** y las **variables anatómo-patológicas**, en las pacientes del Hospital del Mar

Variables	NIVEL DE EXPRESIÓN DE LA p53 – H. DEL MAR						P
	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL		
	N	%	N	%	N	%	
infiltración vascular							
No	25	86.2	4	13.8	29	100	0.24
Si	13	72.2	5	27.8	18	100	
Total	38	80.9	9	19.1	47	100	
Invasión de estroma							
Superficial	20	76.9	6	23.1	26	100	0.10
Profunda	18	85.7	3	14.3	21	100	
Total	38	80.9	9	19.1	47	100	
Invasión de parametrios							
No	27	87.1	4	12.9	31	100	0.03
Sí	11	68.8	5	31.2	16	100	
Total	38	80.9	9	19.1	47	100	
Tamaño							
≤ 3 cm	17	73.9	6	26.1	23	100	0.73
> 3 cm	21	87.5	3	12.5	24	100	
Total	38	80.9	9	19.1	47	100	
Estadio FIGO							
Precoz	10	83.3	2	16.7	12	100	0.80
Locamente avanzados	28	80.0	7	20.0	35	100	
Metastáticos	0	0.0	0	0.0	0	0.00	
Total	38	80.9	9	19.1	47	100	
Tipo histológico							
Epidermoide	32	78.0	9	22.0	41	100	0.72
Adenocarcinoma células claras	2	100.0	0	0.0	2	100	
Adenoescamoso	4	100.0	0	0.0	4	100	
Total	38	80.9	9	19.1	47	100	

La proteína p53, en las pacientes del Hospital del Mar, presenta asociación positiva significativa ($p < 0.05$) con la invasión de los parametrios.

Tabla 16 – Descripción de la asociación entre la proteína **bcl-2** y las **variables anatómo-patológicas**, en las pacientes del Hospital del Mar

Variables	NIVEL DE EXPRESIÓN DE LA bcl-2 – H. DEL MAR						P
	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL		
	N	%	N	%	N	%	
infiltración vascular							
No	17	58.6	12	41.4	29	100	0.19
Si	7	38.9	11	61.1	18	100	
Total	24	51.1	23	48.9	47	100	
Invasión del estroma							
Superficial	11	42.3	15	57.7	26	100	0.00
Profunda	13	61.9	8	38.1	21	100	
Total	24	51.1	23	48.9	47	100	
Invasión de parametrios							
No	16	51.6	15	48.4	31	100	0.15
Sí	8	50.0	8	50.0	16	100	
Total	24	51.1	23	48.9	47	100	
Tamaño							
≤ 3 cm	7	30.4	16	69.6	23	100	0.28
> 3 cm	17	70.8	7	29.2	24	100	
Total	24	51.1	23	48.9	47	100	
Estadio FIGO							
Precoz	8	66.7	4	33.3	12	100	0.32
Locamente avanzados	16	45.7	19	54.3	35	100	
Metastáticos	0	0.0	0	0.0	0	100	
Total	24	51.1	23	48.9	47	100	
Tipo histológico							
Epidermoide	20	48.8	21	51.2	41	100	0.80
Adenocarcinoma células claras	1	50.0	1	50.0	2	100	
Adenoescamoso	3	75.0	1	25.0	4	100	
Total	24	51.1	23	48.9	47	100	

En este estudio la bcl-2 presenta asociación positiva con la invasión del estroma.

Tabla 17 – Descripción de la asociación entre la proteína **ki-67** y las **variables anatómicas**, en las pacientes del Hospital del Mar

Variables	NIVEL DE EXPRESIÓN DE LA Ki-67 – H. DEL MAR						P
	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL		
	N	%	N	%	N	%	
infiltración vascular							
No	18	62.1	11	37.9	29	100	0.24
Si	8	44.4	10	55.6	18	100	
Total	26	55.3	21	46.7	47	100	
Invasión del estroma							
Superficial	12	46.2	14	53.8	26	100	0.00
Profunda	14	66.7	7	33.3	21	100	
Total	26	55.3	21	46.7	47	100	
Invasión de parametrios							
No	17	54.8	14	45.2	31	100	0.27
Sí	9	56.3	7	43.7	16	100	
Total	26	55.3	21	46.7	47	100	
Tamaño							
≤ 3 cm	5	21.7	18	78.3	23	100	0.02
> 3 cm	21	87.5	3	12.5	24	100	
Total	26	55.3	21	46.7	47	100	
Estadio FIGO							
Precoz	8	66.7	4	33.3	12	100	0.51
Locamente avanzados	18	51.4	17	48.6	35	100	
Metastáticos	0	0.0	0	0.0	0	100	
Total	26	55.3	21	46.7	47	100	
Tipo histológico							
Epidermoide	23	56.1	18	43.9	41	100	0.28
Adenocarcinoma células claras	2	100.0	0	0.0	2	100	
Adenoescamoso	1	25.0	3	75.0	4	100	
Total	26	55.3	21	46.7	47	100	

Con relación a la proteína Ki-67 se encontró asociación con la Invasión del estroma y con el tamaño del tumor.

Tabla 18 – Descripción de la asociación entre la proteína **c-erbB-2** y las **variables anatómo-patológicas**, en las pacientes del Hospital del Mar

Variables	NIVEL DE EXPRESIÓN DE LA c-erbB-2 – H. DEL MAR						P
	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL		
	N	%	N	%	N	%	
infiltración vascular							
No	23	79.3	6	20.7	29	100	0.04
Si	9	50.0	9	50.0	18	100	
Total	32	68.1	15	31.9	47	100	
Invasión del estroma							
Superficial	14	53.8	12	46.2	26	100	0.00
Profunda	18	85.7	3	14.3	21	100	
Total	32	68.1	15	31.9	47	100	
Invasión de parametrios							
No	24	77.4	7	22.6	31	100	0.00
Sí	8	50.0	8	50.0	16	100	
Total	32	68.1	15	31.9	47	100	
Tamaño							
≤ 3 cm	9	39.1	14	60.9	23	100	0.00
> 3 cm	23	95.8	1	4.2	24	100	
Total	32	68.1	15	31.9	47	100	
Estadio FIGO							
Precoz	10	83.3	2	16.7	12	100	0.29
Locamente avanzados	22	62.9	13	37.1	35	100	
Metastáticos	0	0.0	0	0.0	0	100	
Total	32	68.1	15	31.9	47	100	
Tipo histológico							
Epidermoide	26	63.4	15	36.6	41	100	0.26
Adenocarcinoma células claras	2	100.0	0	0.0	2	100	
Adenoescamoso	4	100.0	0	0.0	4	100	
Total	32	68.1	15	31.9	47	100	

Con relación a la proteína c-erbB-2, se encontró asociación positiva con la Invasión de parametrios, la infiltración vascular, la invasión del estroma y con el tamaño del tumor.

Tabla 19 – Descripción de la asociación entre la proteína **Ciclina-D1** y las **variables anatómo-patológicas**, en las pacientes del Hospital del Mar

Variables	NIVEL DE EXPRESIÓN DE LA Ciclina-D1 – H. DEL MAR						P
	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL		
	N	%	N	%	N	%	
infiltración vascular							
No	21	72.4	8	27.6	29	100	0.68
Si	12	66.7	6	33.3	18	100	
Total	33	70.2	14	29.8	47	100	
Invasión del estroma							
Superficial	18	69.2	8	30.8	26	100	0.19
Profunda	15	71.4	6	28.6	21	100	
Total	33	70.2	14	29.8	47	100	
Invasión de parametrios							
No	20	64.5	11	35.5	31	100	0.67
Sí	13	81.2	3	18.8	16	100	
Total	33	70.2	14	29.8	47	100	
Tamaño							
≤ 3 cm	13	56.5	10	43.5	23	100	0.37
> 3 cm	20	83.3	4	16.7	24	100	
Total	33	70.2	14	29.8	47	100	
Estadio FIGO							
Precoz	8	66.7	4	33.3	12	100	0.51
Locamente avanzados	25	71.4	10	28.6	35	100	
Metastáticos	0	0.0	0	0.0	0	100	
Total	33	70.2	14	29.8	47	100	
Tipo histológico							
Epidermoide	29	70.7	12	29.3	41	100	0.61
Adenocarcinoma células claras	2	100.0	0	0.0	2	100	
Adenoescamoso	2	50.0	2	50.0	4	100	
Total	33	70.2	14	29.8	47	100	

Analizando los resultados expuestos en la tabla 19, se puede constatar que la Ciclina-D1 no presenta asociación positiva con cualquiera de las demás variables.

Tabla 20 – Descripción de la asociación entre la proteína **p53** y las **variables anatómo-patológicas**, en las pacientes del Hospital Central de Maputo

Variables	NIVEL DE EXPRESIÓN DE LA p53 – H.C.M						P
	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL		
	N	%	N	%	N	%	
infiltración vascular							
No	15	83.3	3	16.7	18	100	0.32
Si	19	67.9	9	32.1	28	100	
Total	34	73.9	12	26.1	46	100	
Invasión del estroma							
Superficial	10	90.9	1	9.1	11	100	0.24
Profunda	24	68.6	11	31.4	35	100	
Total	34	73.9	12	26.1	46	100	
Invasión de parametrios							
No	18	81.8	4	18.2	22	100	0.18
Sí	16	66.7	8	33.3	24	100	
Total	34	73.9	12	26.1	46	100	
Tamaño							
≤ 3 cm	12	92.3	1	7.7	13	100	0.53
> 3 cm	22	66.7	11	33.3	33	100	
Total	34	73.9	12	26.1	46	100	
Estadio FIGO							
Precoz	6	100.0	0	0.0	6	100	0.03
Locamente avanzados	26	76.5	8	23.5	34	100	
Metastáticos	2	33.3	4	66.7	6	100	
Total	34	73.9	12	26.1	46	100	
Tipo histológico							
Epidermoide	30	73.2	11	26.8	41	100	0.38
Adenocarcinoma células claras	3	100.0	0	0.0	3	100	
Adenoescamoso	1	50.0	1	50.0	2	100	
Total	34	73.9	12	26.1	46	100	

En la muestra del Hospital Central de Maputo, la proteína p53 presenta asociación positiva significativa ($p < 0.05$) con los estadios FIGO.

Tabla 21– Descripción de la asociación entre la proteína **bcl-2** y las **variables anatómo-patológicas**, en las pacientes del Hospital Central de Maputo

Variables	NIVEL DE EXPRESIÓN DE LA bcl-2 – H.C.M.						P
	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL		
	N	%	N	%	N	%	
infiltración vascular							
No	7	38.9	11	61.1	18	100	0.32
Si	6	21.4	22	78.6	28	100	
Total	13	28.3	33	71.7	46	100	
Invasión del estroma							
Superficial	6	54.5	5	45.5	11	100	0.03
Profunda	7	20.0	28	80.0	35	100	
Total	13	28.3	33	71.7	46	100	
Invasión de parametrios							
No	7	31.8	15	68.2	22	100	0.14
Sí	6	25.0	18	75.0	24	100	
Total	13	28.3	33	71.7	46	100	
Tamaño							
≤ 3 cm	6	46.2	7	53.8	13	100	0.09
> 3 cm	7	21.2	26	78.8	33	100	
Total	13	28.3	33	71.7	46	100	
Estadio FIGO							
Precoz	4	66.7	2	33.3	6	100	0.03
Locamente avanzados	9	26.5	25	73.5	34	100	
Metastáticos	0	0.0	6	100.0	6	100	
Total	13	28.3	33	71.7	46	100	
Tipo histológico							
Epidermoide	10	24.4	31	75.6	41	100	0.16
Adenocarcinoma células claras	2	66.7	1	33.3	3	100	
Adenoescamoso	1	50.0	1	50.0	2	100	
Total	13	28.3	33	71.7	46	100	

La bcl-2 presenta asociación positiva con la invasión del estroma y con los estadios FIGO.

Tabla 22 – Descripción de la asociación entre la proteína **ki-67** y las **variables anatómo-patológicas**, en las pacientes del Hospital Central Maputo

Variables	NIVEL DE EXPRESIÓN DE LA Ki-67 – H.C.M.						P
	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL		
	N	%	N	%	N	%	
infiltración vascular							
No	1	5.6	17	94.4	18	100	0.83
Si	2	7.1	26	92.9	28	100	
Total	3	6.5	43	93.5	46	100	
Invasión del estroma							
Superficial	1	9.1	10	90.9	11	100	0.69
Profunda	2	5.7	33	94.3	35	100	
Total	3	6.5	43	93.5	46	100	
Invasión de parametrios							
No	1	4.5	21	95.5	22	100	0.60
Sí	2	8.3	22	91.7	24	100	
Total	3	6.5	43	93.5	46	100	
Tamaño							
≤ 3 cm	1	7.7	12	92.3	13	100	0.84
> 3 cm	2	6.1	31	93.9	33	100	
Total	3	6.5	43	93.5	46	100	
Estadio FIGO							
Precoz	0	0.0	6	100	6	100	1.00
Locamente avanzados	3	8.8	31	91.2	34	100	
Metastáticos	0	0.0	6	100.0	6	100	
Total	3	6.5	43	93.5	46	100	
Tipo histológico							
Epidermoide	2	4.9	39	95.1	41	100	0.14
Adenocarcinoma células claras	0	0.0	3	100.0	3	100	
Adenoescamoso	1	50.0	1	50.0	2	100	
Total	3	6.5	43	93.5	46	100	

Con relación a la proteína Ki-67 no se encontró asociación con las variables clínico-patológicas estudiadas.

Tabla 23 – Descripción de la asociación entre la proteína **c-erbB-2** y las **variables anatómo-patológicas**, en las pacientes del Hospital Central de Maputo

Variables	NIVEL DE EXPRESIÓN DE LA c-erbB-2 – H.C.M						P
	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL		
	N	%	N	%	N	%	
infiltración vascular							
No	16	88.9	2	11.1	18	100	0.00
Si	14	50.0	14	50.0	28	100	
Total	30	65.2	16	34.8	46	100	
Invasión del estroma							
Superficial	11	100.0	0	0.0	11	100	0.00
Profunda	19	54.3	16	45.7	35	100	
Total	30	65.2	16	34.8	46	100	
Invasión de parametrios							
No	19	86.4	3	13.6	22	100	0.01
Sí	11	45.8	13	54.2	24	100	
Total	30	65.2	16	34.8	46	100	
Tamaño							
≤ 3 cm	12	92.3	1	7.7	13	100	0.02
> 3 cm	18	54.5	15	45.5	33	100	
Total	30	65.2	16	34.8	46	100	
Estadio FIGO							
Precoz	6	100.0	0	0.0	6	100	0.02
Locamente avanzados	22	64.7	12	35.3	34	100	
Metastáticos	2	33.3	4	66.7	6	100	
Total	30	65.2	16	34.8	46	100	
Tipo histológico							
Epidermoide	26	63.4	15	36.6	41	100	0.79
Adenocarcinoma células claras	2	66.7	1	33.3	3	100	
Adenoescamoso	2	100.0	0	0.0	2	100	
Total	30	65.2	16	34.8	46	100	

Con relación a la proteína c-erbB-2, se encontró asociación positiva con todas las variables anatómo-patológicas estudiadas, excepto con el tipo histológico.

Tabla 24 – Descripción de la asociación entre la proteína **Ciclina D-1** y las **variables anatómo-patológicas**, en las pacientes del Hospital Central de Maputo

Variables	NIVEL DE EXPRESIÓN DE LA Ciclina-D1 – H.C.M						P
	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL		
	N	%	N	%	N	%	
infiltración vascular							
No	17	94.4	1	5.6	18	100	0.05
Si	20	71.4	8	28.6	28	100	
Total	37	80.4	9	19.6	46	100	
Invasión del estroma							
Superficial	10	90.9	1	9.1	11	100	0.32
Profunda	27	77.1	8	22.9	35	100	
Total	37	80.4	9	19.6	46	100	
Invasión de parametrios							
No	21	95.5	1	4.5	22	100	0.01
Sí	16	66.7	8	33.3	24	100	
Total	37	80.4	9	19.6	46	100	
Tamaño							
≤ 3 cm	12	92.3	1	7.7	13	100	0.20
> 3 cm	25	75.8	8	24.2	33	100	
Total	37	80.4	9	19.6	46	100	
Estadio FIGO							
Precoz	5	83.3	1	16.7	6	100	0.82
Locamente avanzados	28	82.4	6	17.6	34	100	
Metastáticos	4	66.7	2	33.3	6	100	
Total	37	80.4	9	19.6	46	100	
Tipo histológico							
Epidermoide	32	78.0	9	22.0	41	100	1.00
Adenocarcinoma células claras	3	100.0	0	0.0	3	100	
Adenoescamoso	2	100.0	0	0.0	2	100	
Total	37	80.4	9	19.6	46	100	

Analizando los resultados expuestos en la tabla 24, se puede constatar que la Ciclina-D1 presenta asociación positiva con la Invasión de los parametrios.

Tabla 25 - Distribución de los ganglios extraídos de las pacientes operadas del Hospital del Mar, en función de los niveles de expresión de cada una de las proteínas

Variable	Nivel de expresión – H. del Mar						
	Proteína p53				Total	%	p
	Negativo		positivo				
	N	%	N	%	N	%	
Ganglios afectados							
0 ganglios	22	88.0	3	12.0	25	100	0.00
Ganglio positivo	3	30.0	7	70.0	10	100	
Total	25	71.4	10	28.6	35	100	
	Proteína bcl-2						
Ganglios afectados	N	%	N	%	N	%	P
0 ganglios	17	68.0	8	32.0	25	100	0.01
Ganglio positivo	8	80.0	2	20.0	10	100	
Total	25	71.4	10	28.6	35	100	
	Proteína Ki-67						
Ganglios afectados	N	%	N	%	N	%	P
0 ganglios	19	76.0	6	24.0	25	100	0.01
Ganglio positivo	6	60.0	4	40.0	10	100	
Total	25	71.4	10	28.6	35	100	
	Proteína c-erbB-2						
Ganglios afectados	N	%	N	%	N	%	P
0 ganglios	22	88.0	3	12.0	25	100	0.00
Ganglio positivo	3	30.0	7	70.0	10	100	
Total	25	71.4	10	28.6	35	100	
	Proteína Ciclina-D1						
Ganglios afectados	N	%	N	%	N	%	P
0 ganglios	18	72.0	7	28.0	25	100	0.67
Ganglio positivo	7	70.0	3	30.0	10	100	
	25	71.4	10	28.6	35	100	

Analizando los resultados expuestos en la tabla 25, se puede constatar que la Ciclina-D1 es la única proteína que en este estudio no presenta asociación positiva con la presencia de ganglios afectados.

7.3. CARACTERIZACIÓN DEL PRONÓSTICO EVOLUTIVO EN FUNCIÓN DE LAS VARIABLES ANATOMOPATOLÓGICAS Y DE LAS ONCOPROTEÍNAS

A continuación se presentan las probabilidades **de recidiva**, al año en función de las características anatómo-patológicas y histológicas (tabla 26) y de las oncoproteínas (tabla 27).

Tabla 26 - Tasas de incidencia de **Recidiva** al año, por paciente, en función de las características **anatómo-patológicas y Histológicas**

VARIABLE	Hospital del Mar de Barcelona IC (95%)			Hospital Central de Maputo IC (95%)		
	Tasa	Min	Max	Tasa	Min	Max
Infiltración vascular						
No	0.02	0.00	0.08	0.15	0.03	0.33
Sí	0.09	0.07	0.25	0.33	0.13	0.78
Invasión parametrios						
No	0.03	0.00	0.09	0.19	0.01	0.37
Sí	0.14	0.00	0.45	0.00	0.00	0.00
Invasión estroma						
No	0.02	0.00	0.07	0.05	0.00	0.17
Sí	0.11	0.06	0.28	0.41	0.05	0.77
Tamaño del tumor						
≤ 3 cm	0.02	0.00	0.08	0.06	0.00	0.23
4 – 6 cm	0.10	0.05	0.24	0.27	0.02	0.57
> 6 cm	0.00	0.00	0.00	0.55	0.48	1.57
Estadios FIGO						
Precoz	0.00	0.00	0.00	0.11	0.00	0.38
Localmente avanzados	0.06	0.03	0.16	0.22	0.00	0.45
Avanzados, metastáticos	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Histología						
Epidermoide	0.04	0.00	0.11	0.19	0.01	0.39
Adenocarcinoma de células claras	0.12	0.00	0.60	0.20	0.00	0.71
Adenoescamoso	0.00	0.00	0.00	0.19	0.00	0.81
Ganglios afectados						
Negativo	0.02	0.00	0.07	-	-	-
Positivo	0.35	0.23	0.92	-	-	-

- sin datos

Analizando los resultados con relación a la probabilidad de que ocurra recidiva en función de las características anatómo-patológicas, se observa lo siguiente:

En la muestra del Hospital del Mar, cuando **hay infiltración vascular** (Si) la tasa de recidiva aumenta de 0.02 a 0.09, aunque el intervalo de confianza nos de indicación de que este resultado no sea estadísticamente significativo. Aunque con tasas más altas se observa el mismo comportamiento en la muestra del Hospital Central de Maputo, de 0.15 a 0.33 (RR=2.2).

Respecto a la **invasión de los parametrios**, en la muestra del Hospital del Mar, es también evidente el aumento de la tasa cuando hay invasión de los parametrios (RR=4.7). En el Hospital Central de Maputo las tasas fueron reducen a cero.

Aunque la **invasión del estroma** esté asociado a la recidiva en ambas muestras, esta asociación es más acentuada en la muestra del Hospital Central de Maputo (RR=8.2) respecto a la relación en el Hospital del Mar (RR=5.5).

Respecto al **tamaño del tumor** también se verificó que la tasa de recidiva fue mayor en mujeres del HCM, sobretodo en las mujeres con tumores mayores a 6cm, mientras que en las mujeres con tumores de igual tamaño en el Hospital del Mar, no hubo recidivas. En la muestra de Maputo se nota un aumento a medida que aumenta el tamaño del tumor.

En cuanto a los **estadios FIGO**, se constata que los tumores localmente avanzados tienen mayor probabilidad de recidivar en ambas muestras. En la muestra de

Maputo la tasa aumenta 2 veces más cuando los tumores pasan de la fase precoz a la fase localmente avanzada.

En lo que concierne a las **características histológicas** del tumor, el adenocarcinoma de las células claras es el que muestra mayor probabilidad de recidiva en las mujeres del Hospital del Mar, mientras que en las del HCM prácticamente no hay diferencias.

En esta tabla 27, también se puede observar que las tasas de recidiva aumentan mucho cuando hay presencia de ganglios positivos o afectados por el tumor, es decir, de 0,02 al 0,35 (RR=17.5). Esta variable, solamente fue posible estudiar en pacientes del hospital del Mar que tenían información.

Aunque de un modo general se puede constatar mayor porcentaje de recidivas en las mujeres del H. Central de Maputo, independientemente de haber o no expresión de las proteínas; merece destacar la proporción de recidivas en las enfermas con fuerte expresión de la proteína c-erbB-2. El riesgo de recidiva asociada a este marcador fue más alto en ambas muestras, comparada con las demás proteínas. En el H. Central de Maputo fue de 7.4 frente al Hospital del Mar donde registró un riesgo relativo de 4.7. En la muestra de Barcelona, cuando hay expresión positiva de la proteína p53, el riesgo de recidiva aumenta 2 veces, mientras que en Maputo el aumento es insignificante (RR=1.2).

Tabla 27 - Tasas de incidencia de **Recidiva** al año por paciente, en función del nivel de **Expresión de las Proteínas**

VARIABLE	Hosp. del Mar Barcelona IC (95%)			Hosp. Central de Maputo IC (95%)		
	Tasa	Min	Max	Tasa	Min	Max
Porcentajes bcl-2						
<i>No-expresión</i>	0.01	0.00	0.06	0.20	0.09	0.49
<i>Expresión</i>	0.09	0.00	0.21	0.19	0.04	0.41
Proteína C-erbB-2						
<i>No-expresión</i>	0.03	0.00	0.08	0.10	0.05	0.25
<i>Expresión</i>	0.14	0.00	0.36	0.74	0.05	1.43
Proteína Ciclina-D1						
<i>No-expresión</i>	0.04	0.00	0.11	0.20	0.02	0.39
<i>Expresión</i>	0.05	0.00	0.18	0.00	0.00	0.00
Proteína Ki-67						
<i>No-expresión</i>	0.03	0.00	0.11	0.17	0.12	0.46
<i>Expresión</i>	0.07	0.05	0.18	0.20	0.03	0.43
Proteína p53						
<i>No-expresión</i>	0.03	0.00	0.11	0.19	0.02	0.39
<i>Expresión</i>	0.06	0.05	0.17	0.22	0.16	0.59

A continuación se presentan las **tasas de mortalidad** al año en función de las características anatómo-patológicas y histológicas (tabla 28) y de las oncoproteínas (tabla 29).

Tabla 28 – Tasas de mortalidad al año, por paciente, en función de las características anatómo-patológicas y histológicas

VARIABLE	Hospital del Mar IC (95%)			Hospital C. de Maputo IC (95%)		
	Tasa	Min	Max	Tasa	Min	Max
<i>Infiltración vascular</i>						
No	0.03	0.0	0.09	0.04	0.00	0.12
Sí	0.06	0.00	0.18	0.51	0.25	0.77
<i>Invasión estroma</i>						
Superficial	0.01	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00
Profunda	0.11	0.04	0.25	0.44	0.22	0.66
<i>Invasión parametrios</i>						
No	0.01	0.00	0.04	0.05	0.00	0.15
Sí	0.22	0.05	0.48	0.79	0.42	1.16
<i>Tamaño del tumor</i>						
≤ 3 cm	0.01	0.00	0.05	0.0	0.00	0.00
4 – 6 cm	0.06	0.00	0.17	0.10	0.06	0.25
> 6 cm	0.28	0.24	0.79	0.81	0.42	1.2
<i>Estadios FIGO</i>						
Precoz	0.0	0.00	0.00	0.0	0.00	0.00
Localmente avanzados	0.03	0.00	0.09	0.08	0.02	0.19
Avanzados, metastáticos	0.00	0.00	0.00	1.96	1.17	2.75
<i>Histología</i>						
Epidermoide	0.04	0.02	0.11	0.32	0.15	0.49
Adenocarcinoma de células claras	0.0	0.00	0.00	0.0	0.00	0.00
Adenoescamoso	0.0	0.00	0.00	0.0	0.00	0.00
<i>Ganglios afectados</i>						
Negativo	0.03	0.00	0.08	-	-	-
Positivo	0.14	0.00	0.42	-	-	-

- sin datos

La tasa de mortalidad aumenta cuando hay infiltración vascular en ambas muestras; RR=12.8 en el Hospital Central de Maputo y RR=2.0 en el Hospital del Mar. El riesgo de muerte cuando hay **invasión de los parametrios** también está presente en ambas muestras siendo más evidente en la muestra del Hospital Central de Maputo (RR=15.8). En cuanto al **tamaño del tumor**, se verifica un aumento creciente de la tasa de mortalidad a medida que el tumor pasa de la fase precoz a la fase con

metástasis. Aunque no sea estadísticamente significativa, las tasas de mortalidad en pacientes del Hospital del Mar aumentan de 0.03 a 0.14 (RR=4.6)

Tabla 29 – Tasas de mortalidad al año por paciente, en función de los niveles de expresión de las proteínas

VARIABLE	Hospital del Mar IC (95%)			Hospital Central de Maputo IC (95%)		
	Tasa	Min	Max	Tasa	Min	Max
Proteína bcl-2						
No-expresión	0.02	0.00	0.08	0.15	0.05	0.35
Expresión	0.06	0.00	0.16	0.32	0.13	0.52
Proteína C-ErbB-2						
No-expresión	0.02	0.00	0.06	0.14	0.00	0.27
Expresión	0.13	0.05	0.31	0.57	0.23	0.91
Proteína Ciclina- D1						
No-expresión	0.04	0.00	0.12	0.16	0.03	0.3
Expresión	0.02	0.00	0.10	0.73	0.20	1.25
Proteína Ki-67						
No-expresión	0.03	0.00	0.1	0.21	0.05	0.47
Expresión	0.06	0.00	0.15	0.27	0.10	0.45
Proteína p53						
No-expresión	0.03	0.00	0.10	0.16	0.02	0.29
Expresión	0.05	0.00	0.15	0.55	0.16	0.95

Aunque, en general, la tasa de mortalidad fue mayor en las mujeres del Hospital Central de Maputo, independientemente de la expresión de las proteínas, este indicador fue más alto en las pacientes con expresión de la Ciclina D-1 (RR=4.6), c-erbB-2 (RR=4.1) y la p53 (RR=3.4). En la muestra del Hospital del Mar la tasa sube cuando hay expresión de la c-erbB-2 (RR=6.5), de la bcl-2 (RR=3.0), de la ki-67 (RR=2.0) seguida de la p53 (RR=1.7). Sin embargo, las diferencias no son

estadísticamente significativas a la p53 y Ki-67. Con relación a la expresión de la Ciclina D-1, contrariamente al que se verificó en la muestra de Maputo, disminuye (RR=0.5).

7.4. DESCRIPCIÓN DE LA CORRELACIÓN ENTRE LAS ONCOPROTEÍNAS ENTRE SI, ENTRE ELLAS Y LAS VARIABLES ANATOMO -HISTOPATOLÓGICAS

Tabla 30– Matriz de Correlaciones entre las proteínas marcadoras del tumor. Hospital del Mar, Barcelona

		bcl2	c-erbB-2	Ciclina-D1	Ki67	P53
bcl2	Coefficiente de correlación	1,000	,338	,357	,576(*)	,048
	Sig. (bilateral)	.	,237	,281	,016	,865
	N	25	14	11	17	15
c-erbB-2	Coefficiente de correlación	,338	1,000	,676	,126	,638(*)
	Sig. (bilateral)	,237	.	,210	,695	,026
	N	14	16	5	12	12
Ciclina-D1	Coefficiente de correlación	,357	,676	1,000	,077	,623
	Sig. (bilateral)	,281	,210	.	,822	,186
	N	11	5	14	11	6
Ki67	Coefficiente de correlación	,576(*)	,126	,077	1,000	,089
	Sig. (bilateral)	,016	,695	,822	.	,773
	N	17	12	11	23	13
p53	Coefficiente de correlación	,048	,638(*)	,623	,089	1,000
	Sig. (bilateral)	,865	,026	,186	,773	.
	N	15	12	6	13	22

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

En este estudio se encontró, en la muestra constituida por las mujeres del Hospital del Mar de Barcelona, correlación positiva $r=0.56$ y estadísticamente significativa entre la bcl2 y la ki67 ($p<0.05$), así como entre la c-erbB-2 y la p53 ($r=0.64$; $p<0.05$).

Tabla 31– Matriz de Correlaciones entre las proteínas marcadoras del tumor (casos positivos) y las variables relacionadas con las alteraciones anatómo-histopatológicas. Hospital del Mar, Barcelona

Marcadores tumorales	Coefficiente de correlación	Tamaño del tumor	Histología	Estadio FIGO	Infiltración vascular	Invasión de parametrios	Invasión de estroma
bcl-2	Coefficiente correlación	-, 289(*)	-,164	,267	,210	-,316(*)	,485(**)
	Sig. (bilateral)	,048	,270	,069	,157	,031	,001
	N	25	25	25	25	25	25
c-erbB-2	Coefficiente correlación	-,411(**)	-,273	,324(*)	,368(*)	-,419(**)	,565(**)
	Sig. (bilateral)	,004	,064	,026	,011	,003	,000
	N	16	16	16	16	16	16
Ciclina-D1	Coefficiente correlación	-,117	,077	-,029	,048	,020	,221
	Sig. (bilateral)	,433	,606	,844	,748	,893	,136
	N	14	14	14	14	14	14
KI-67	Coefficiente correlación	-,409(**)	,058	,213	,275	-,134	,418(**)
	Sig. (bilateral)	,004	,700	,151	,061	,371	,003
	N	23	23	23	23	23	23
p53	Coefficiente correlación	-,075	,007	,072	,072	,099	-,112
		,478	,964	,493	,495	,344	,284
		22	22	22	22	22	22

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Cuando se evalúa la correlación entre los marcadores tumorales y los cuadros anatomopatológicos, se puede constatar que en esta muestra, hay una correlación positiva, aunque baja, entre las variables bcl-2 y la invasión del estroma ($r = 0,49$) pero significativa, ($p = 0,001$).

La correlación entre la bcl2 y la invasión de los parametrios es negativa ($r = -0,32$; $p < 0,05$).

Tabla 32– Matriz de Correlaciones entre las proteínas marcadoras del tumor.
Hospital Central de Maputo

	Cof. Correl. Spearman (r)	bcl-2	c-erbB-2	Ciclina-D1	Ki-67	p53
bcl-2	Coeficiente de correlación	1,000	,025	-,648(*)	,686(**)	,000
	Sig. (bilateral)	.	,927	,043	,000	1,000
	N	32	16	10	32	10
c-erbB-2	Coeficiente de correlación	,025	1,000	,321	-,404	,906(*)
	Sig. (bilateral)	,927	.	,285	,108	,013
	N	16	19	13	17	6
CiclinaD1	Coeficiente de correlación	-,648(*)	,321	1,000	-,667(*)	,889(*)
	Sig. (bilateral)	,043	,285	.	,018	,044
	N	10	13	10	12	5
Ki-67	Coeficiente de correlación	,686(**)	-,404	-,667(*)	1,000	,009
	Sig. (bilateral)	,000	,108	,018	.	,979
	N	32	17	12	34	10
p53	Coeficiente de correlación	,000	,906(*)	,889(*)	,009	1,000
	Sig. (bilateral)	1,000	,013	,044	,979	.
	N	10	6	5	10	13

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

En esta tabla se puede observar que en la muestra de pacientes del Hospital Central de Maputo, hay correlación positiva ($r=0.69$; $p<0.001$), entre la bcl2 y la ki67 ($p<0.001$); correlación negativa entre la bcl2 y la Ciclina-D1 ($r=-0.65$; $p<0.05$).

Hay correlación positiva muy alta entre las proteínas c-erbB-2 y p53 ($r=-0.91$; $p<0.05$) y entre la Ciclina-D1 y la p53 ($r=-0.89$; $p<0.05$).

Tabla 33– Matriz de Correlaciones entre las proteínas marcadoras del tumor y las variables relacionadas con las alteraciones anatómo-patológicas.
Hospital Central de Maputo

	Cof. Correl. Spearman	Tipo histológico	Infiltración vascular	Invasión del estroma	Invasión de parametrios	Estadio FIGO	Tamaño do tumor
bcl-2	Coef. Correlación	-,210	,228	,402(*)	-,239	,186	-,264
	Sig. (bilateral)	,241	,202	,021	,181	,300	,138
	N	32	32	32	32	32	32
c-erbB-2	Coef. correlación	,248	,645(**)	.	-,286	,437(*)	.
	Sig. (bilateral)	,266	,001	.	,197	,042	.
	N	19	19	19	19	19	19
Ciclina D1	Coef. correlación	,244	,374	,201	-,374	,209	.
	Sig. (bilateral)	,362	,154	,455	,154	,437	.
	N	10	10	10	10	10	10
Ki67	Coef.e correlación	-,270	,152	,420 (*)	-,273	,105	-,347(*)
	Sig. (bilateral)	,116	,385	,012	,112	,549	,041
	N	34	34	34	34	34	34
p53	Coef. correlación	,098	,534	,259	-,521	,643(*)	,234
	Sig. (bilateral)	,749	,060	,392	,068	,018	,442
	N	13	13	13	13	13	13

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

En lo que concierne a la correlación entre las proteínas marcadoras y las alteraciones Anatómo-histológicas, correlación positiva entre la bcl2 y la invasión del estroma ($r = 0.40$; $p < 0.05$).

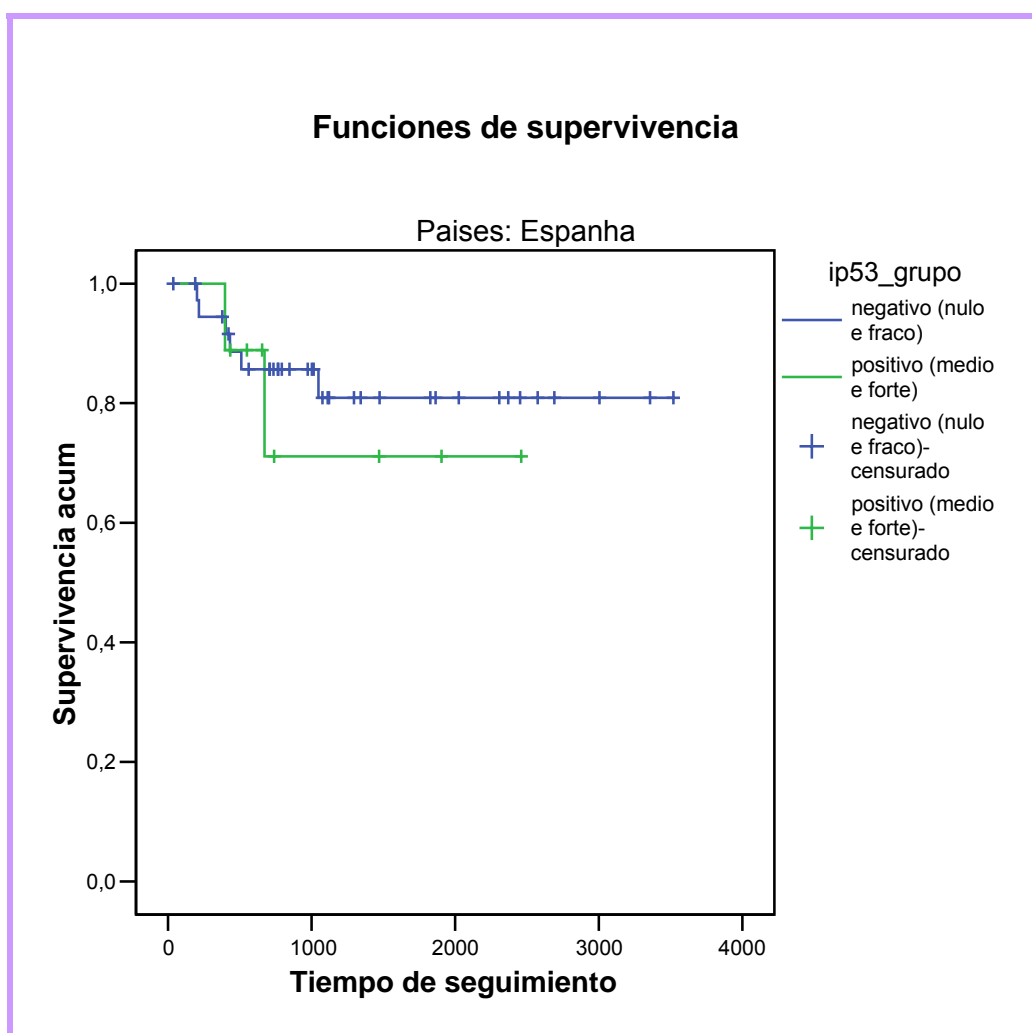
La c-erbB-2 muestra correlación positiva con la infiltración vascular ($r = 0.65$; $p < 0.01$) así como con los estadios FIGO ($r = 0.44$ y $p < 0.05$). La Ki67 mostró correlación positiva con la invasión del estroma ($r = 0.42$; $p < 0.05$) y correlación negativa con el tamaño del tumor ($r = -0.35$; $p < 0.05$). La p53 muestra correlación con el estadio FIGO ($r = 0.64$; $p < 0.05$).

7.5. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA

7.5.1 ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA DE LOS CASOS DEL HOSPITAL DEL MAR

p53

Las pacientes p53 positivas tuvieron una supervivencia media de 1032 días mientras que las p53 negativas fue de 1267 días. Al final del estudio, un 20% de las mujeres p53 negativas habían fallecido mientras que en el grupo de p53 positivas habían fallecido un 29%. El teste estadístico log-rank no detectó diferencias significativas (log-rank= 0.20 gl=1 p=0.65).



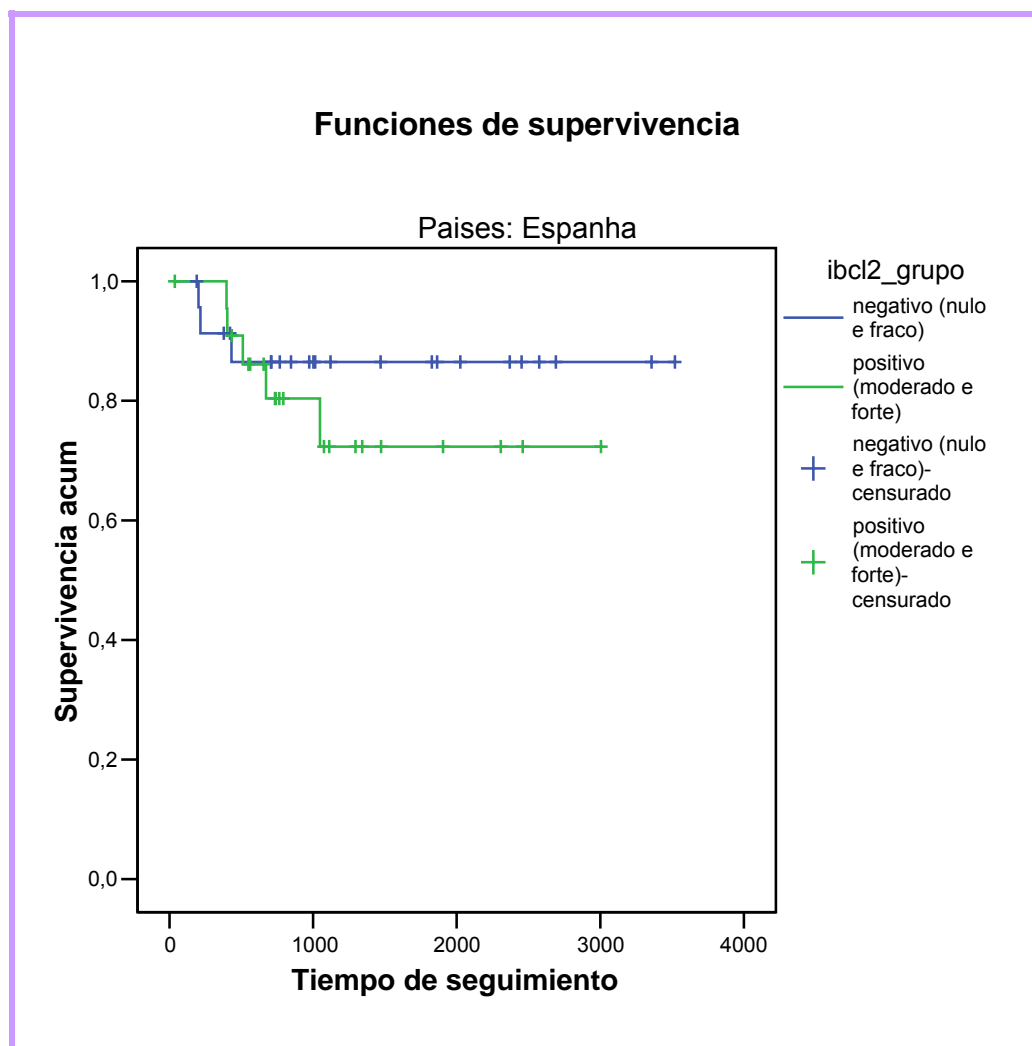
Log-rank=0.20 p=0.65

Gráfico 4 - Curva de supervivencia conforme la expresión de la p53 en las pacientes del H. del Mar

bcl-2

En la muestra del Hospital del Mar fallecieron 13.5% de las pacientes con bcl-2 negativas y 27.7% de las mujeres con bcl-2 positivas.

No hubo diferencias significativas entre las curvas de bcl-2 negativas y bcl-2 positivas, respectivamente (Log-rank=0.52; p=0.47)



Log rank=0.52; p=0.47

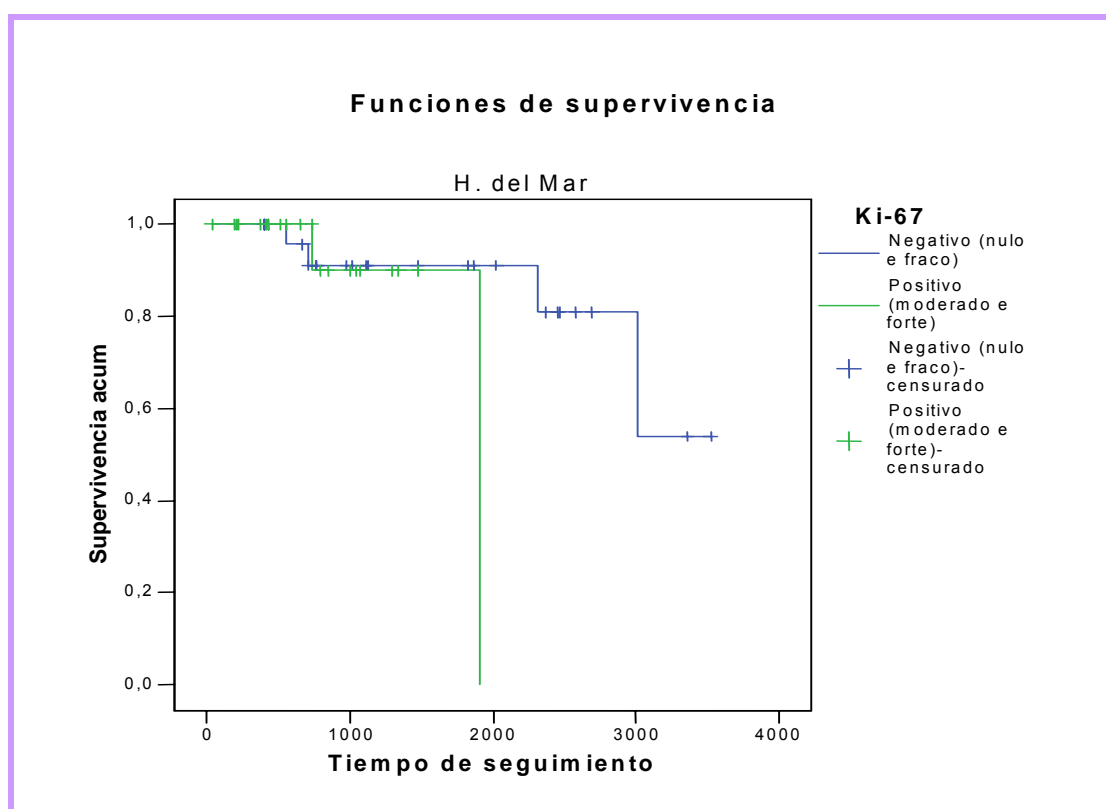
Gráfico 5 - Curva de supervivencia conforme la expresión de la bcl-2 en las pacientes del H. del Mar

ki-67

La tasa de mortalidad entre el grupo Ki-67 negativo, de la muestra del Hospital del Mar, fue de 16%, habiendo todas ellas fallecido en los 18 meses de seguimiento. Desde entonces, hasta al final de este estudio, no hubo más muertes.

En el grupo Ki-67 positivo, hubo más muertes, habiéndose verificado al final del tiempo de seguimiento que un 31% de las mujeres habían fallecido.

Sin embargo, aunque los índices de supervivencia indiquen diferencias, el teste log-rank no detectó diferencias significativas entre las curvas de supervivencia (log rank=0.56; p=0.46).



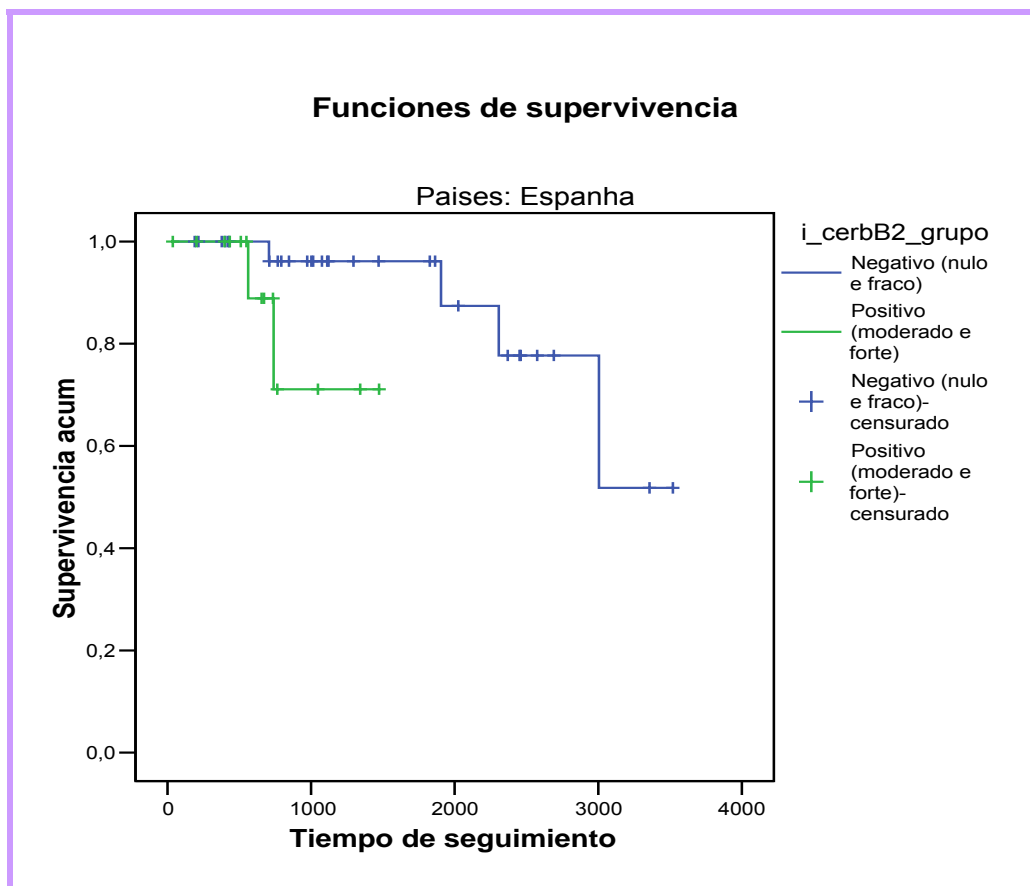
Log rank=0.56; p=0.46

Gráfico 6 - Curva de supervivencia conforme la expresión de la ki-67 en las pacientes del H. del Mar

c-erbB-2

En la muestra del Hospital del Mar la mortalidad entre las mujeres **c-erbB-2** positivas fue de 56% al final del periodo que duró el estudio, mientras que entre las **c-erbB-2** negativas fue solamente de 10%. Hay que destacar que estos ocurrieron en los primeros 18 meses. El tiempo medio de vida fue de 1475 días para las c-erbB-2 negativas y de 675 días para las c-erbB-2 positivas.

Las curvas de supervivencia muestran diferencias significativas (log-rank=5.16 gl=1 p=0.02).



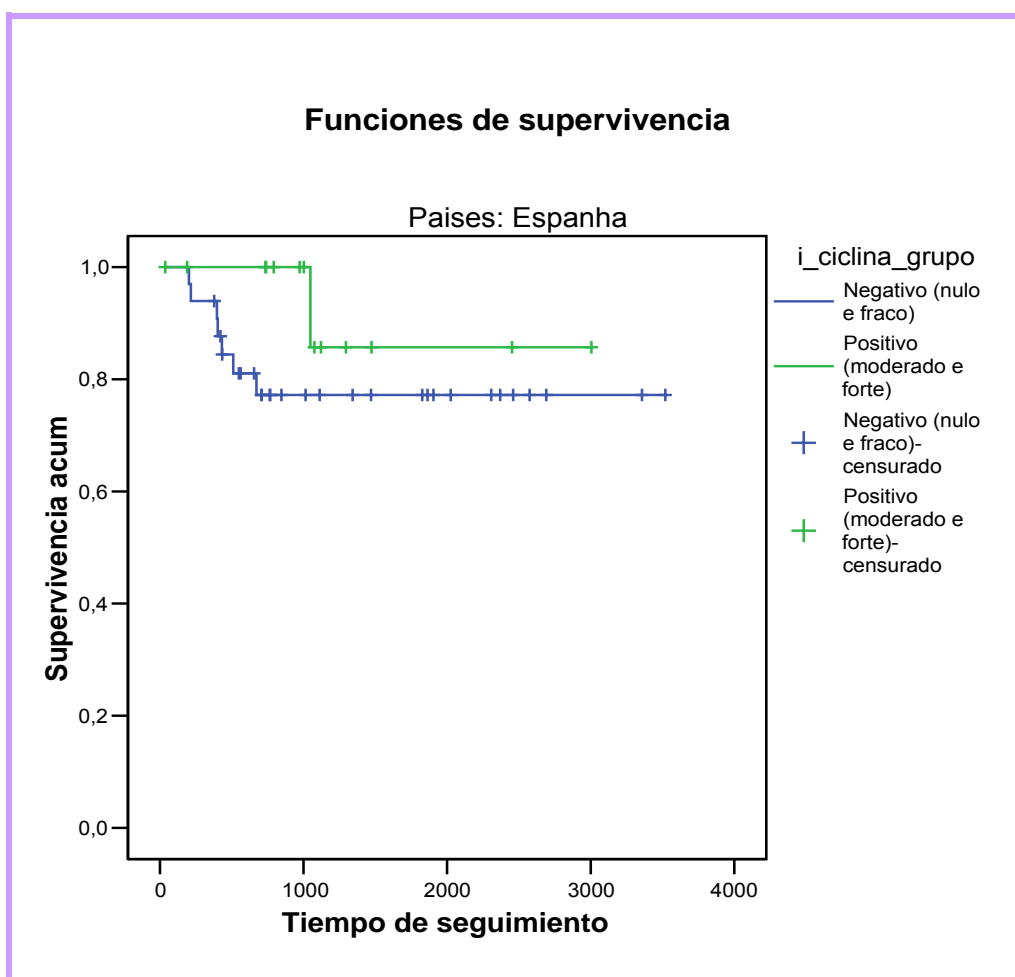
log-rank=5.16 gl=1 p=0.02

Gráfico 7- Curva de supervivencia conforme la expresión de la c-erbB-2 en las pacientes del H. del Mar

Ciclina-D1

En este estudio se constató que un 23% de las mujeres Ciclina-D1 negativas habían fallecido a los 20 meses y que desde entonces no se registraron más óbitos hasta el final del estudio.

En el grupo de mujeres Ciclina-D1 positivas hubo un 15% de óbitos. Sin embargo, las curvas de supervivencia de los dos grupos no fueron significativas (LR=1.25 gl=1 p=0.27).



LR=1.25 gl=1 p=0.27

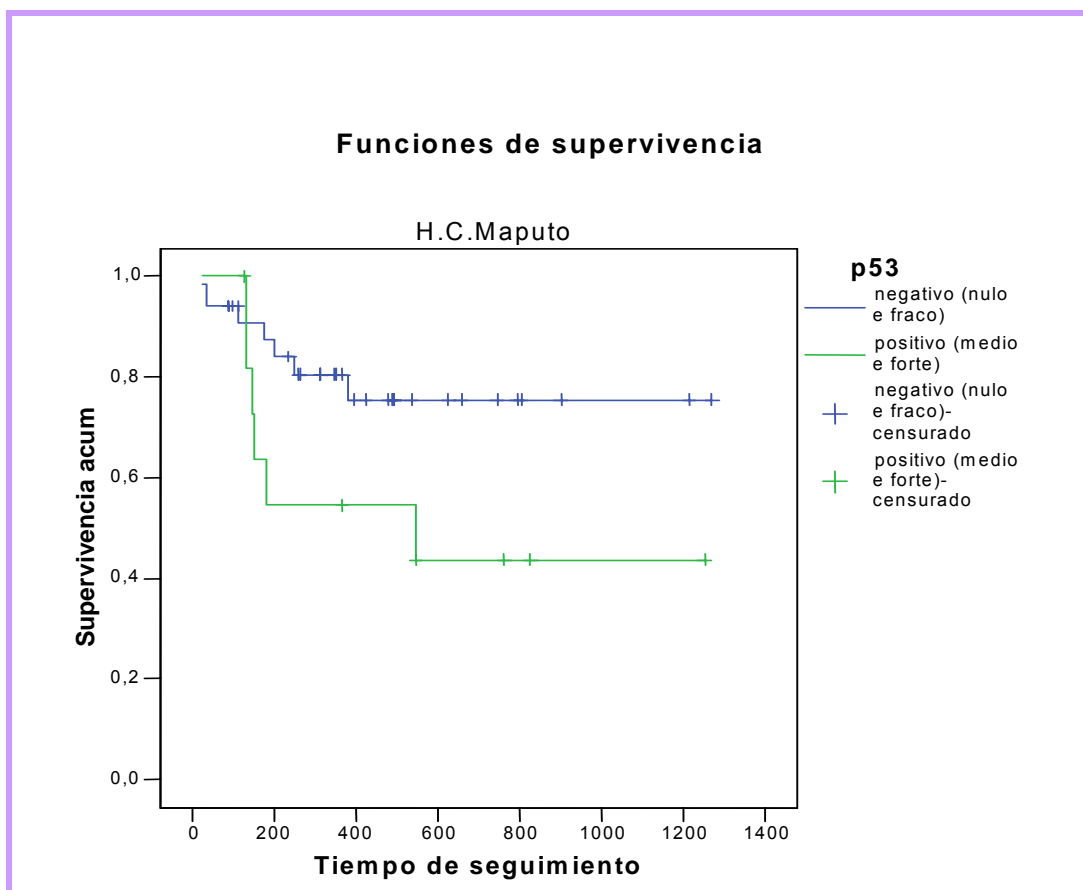
Gráfico 8 - Curva de supervivencia conforme la expresión de la Ciclina-D1 en las pacientes del H. del Mar

7.5.2 ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA DE LOS CASOS DEL HOSPITAL CENTRAL DE MAPUTO

p53

En la muestra del Hospital Central de Maputo, se constató que hasta el final de este estudio murieron 24.5% de las mujeres p53 negativas y 56.4% de las mujeres positivas.

A pesar de la diferencia existente entre los índices de supervivencia, el test log-rank no detectó diferencias significativas entre las dos curvas de supervivencia (log-rank=2.98 gl=1 p=0.08).



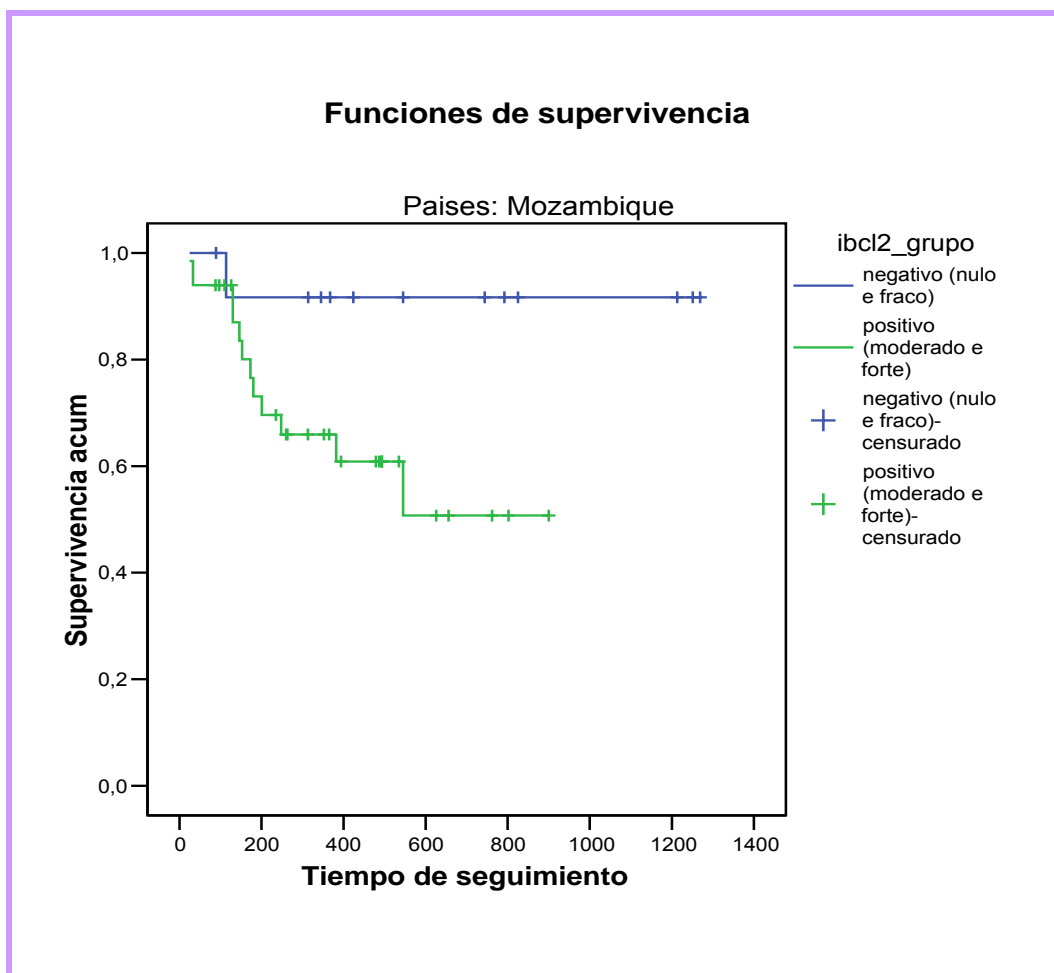
Log-rank=2.98 gl=1 p=0.08

Gráfico 9 - Curva de supervivencia conforme la marcación de la p53 en las pacientes del H.C.M.

bcl-2

Con relación a la proteína bcl-2, en la muestra de Mozambique, al final del periodo de seguimiento, solamente un 9% de las pacientes bcl-2 negativas fallecieron, mientras que en el grupo de las pacientes con bcl-2 positivas hubo 50% de muertes.

Sin embargo el teste log-rank no muestra diferencias significativas entre las curvas de supervivencia (log-rank=3.98 gl=1 p=0.05)



Log-rank=3.98 gl=1 p=0.046

Gráfico 10 - Curva de supervivencia conforme la marcación de la bcl-2 en las pacientes del H.C.M.

Ki-67

En lo que concierne al grupo Ki-67 negativo, no hubo casos de muerte, por lo que fueron censurados.

En cuanto al grupo Ki-67, se constató que hasta el final del estudio hubo un 39% de óbitos (log rank=1.28; p=0.26).

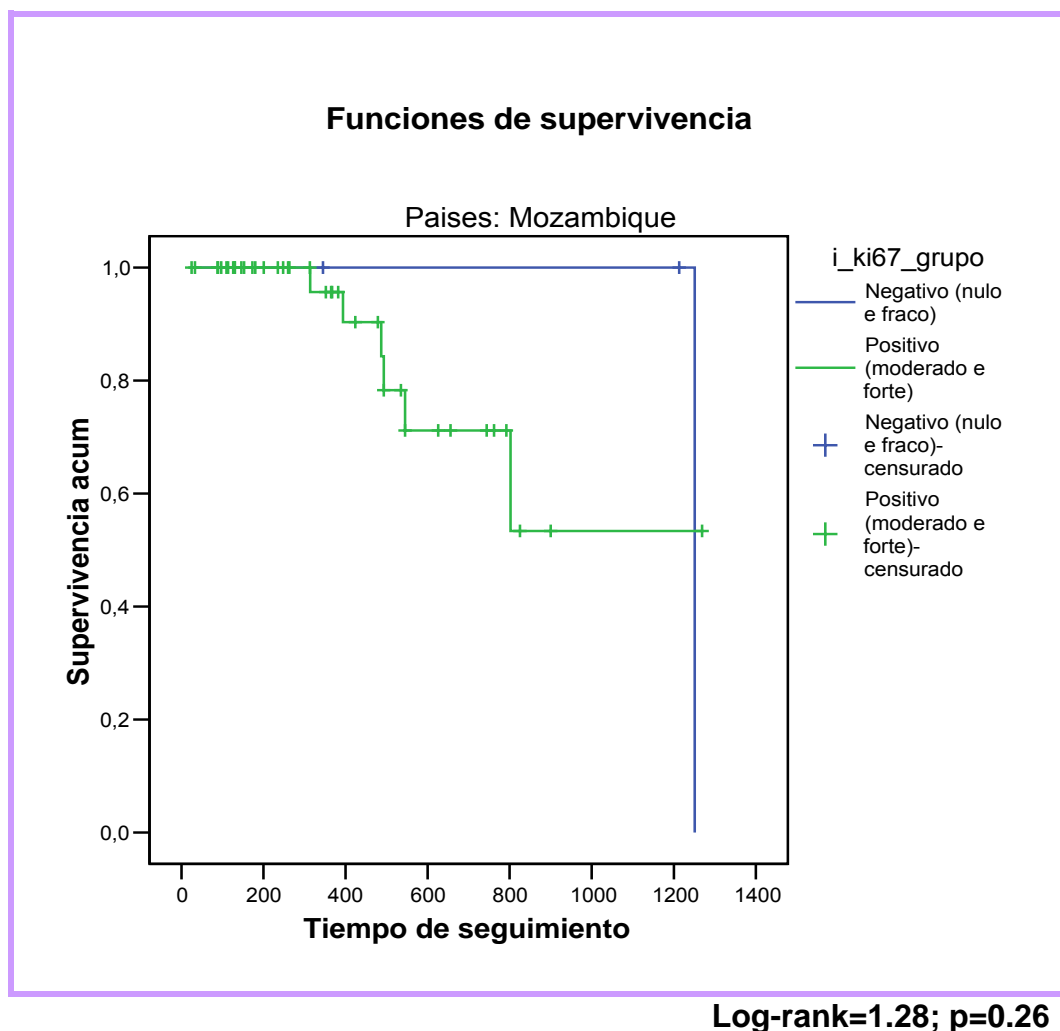


Gráfico 11 – Curva de supervivencia conforme la marcación de la ki-67 en las pacientes del H.C.M.

c-erbB-2

En la muestra del Hospital Central de Maputo, las 16 mujeres **c-erbB-2** positivas tuvieron una supervivencia media de 382 días (SE=83 días) mientras que las c-erbB2 negativas fue de 1104 (SE=76 días). Hasta el final del tiempo que duró estudio, 15% de las c-erbB-2 negativas habían fallecido contra un 80% de óbitos que se observó entre las c-erbB-2 positivas. Estas pacientes fallecieron casi todas en los primeros 18 meses.

Las curvas de supervivencia muestran diferencias significativas (log-rank=11.44 gl=1 p=0.001).

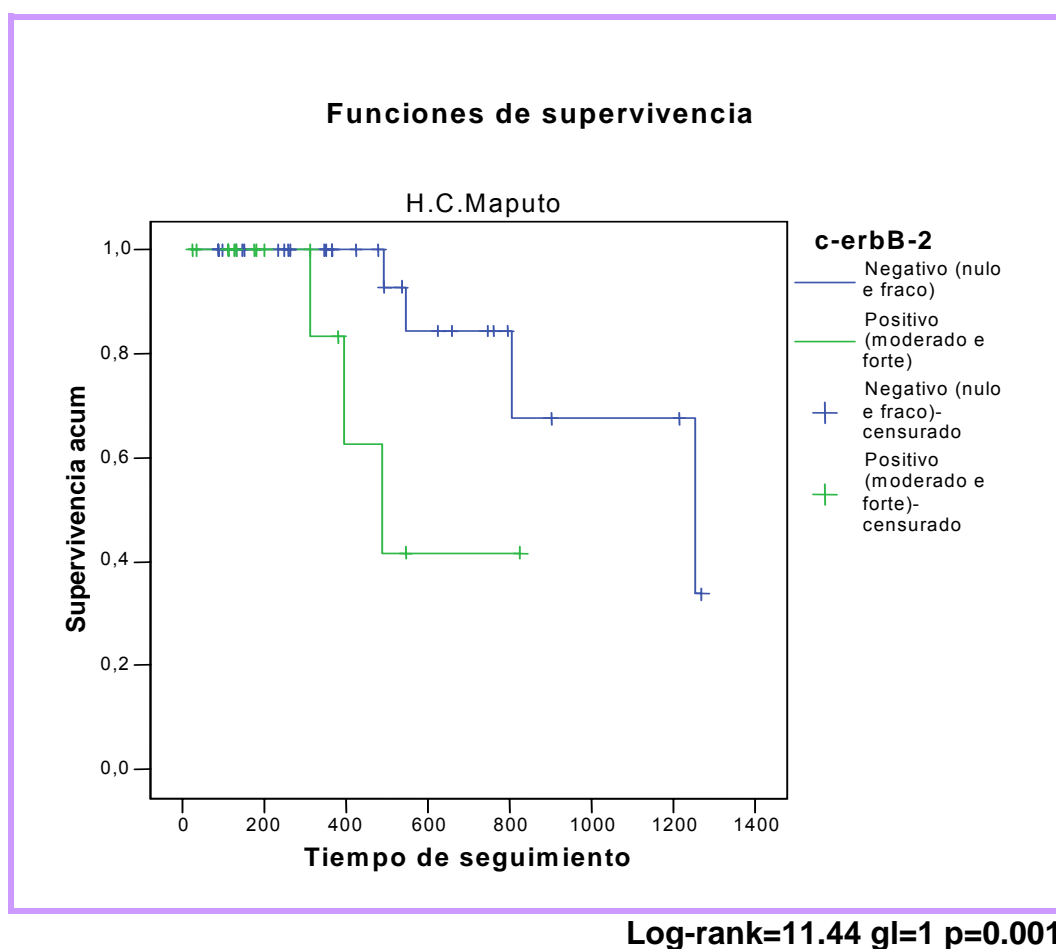


Gráfico 12 - Curva de supervivencia conforme la marcación de la c-erbB-2 de las pacientes del H.C.M.

Ciclina-D1

Un 25% de muertes ocurrieron entre las mujeres Ciclina-D1 negativas observadas en el Hospital Central de Maputo durante el período que tardó el estudio, pero la mayoría, es decir un 21%, ocurrió en los primeros 201 días (7 meses).

En las pacientes Ciclina-D1 positivas hubo, hasta el final del período de seguimiento, un 61% de muertes, todos ellos ocurridos en los primeros 18 meses.

Las curvas de supervivencia muestran diferencias significativas (log rank=5.98 gl=1 p=0.01).

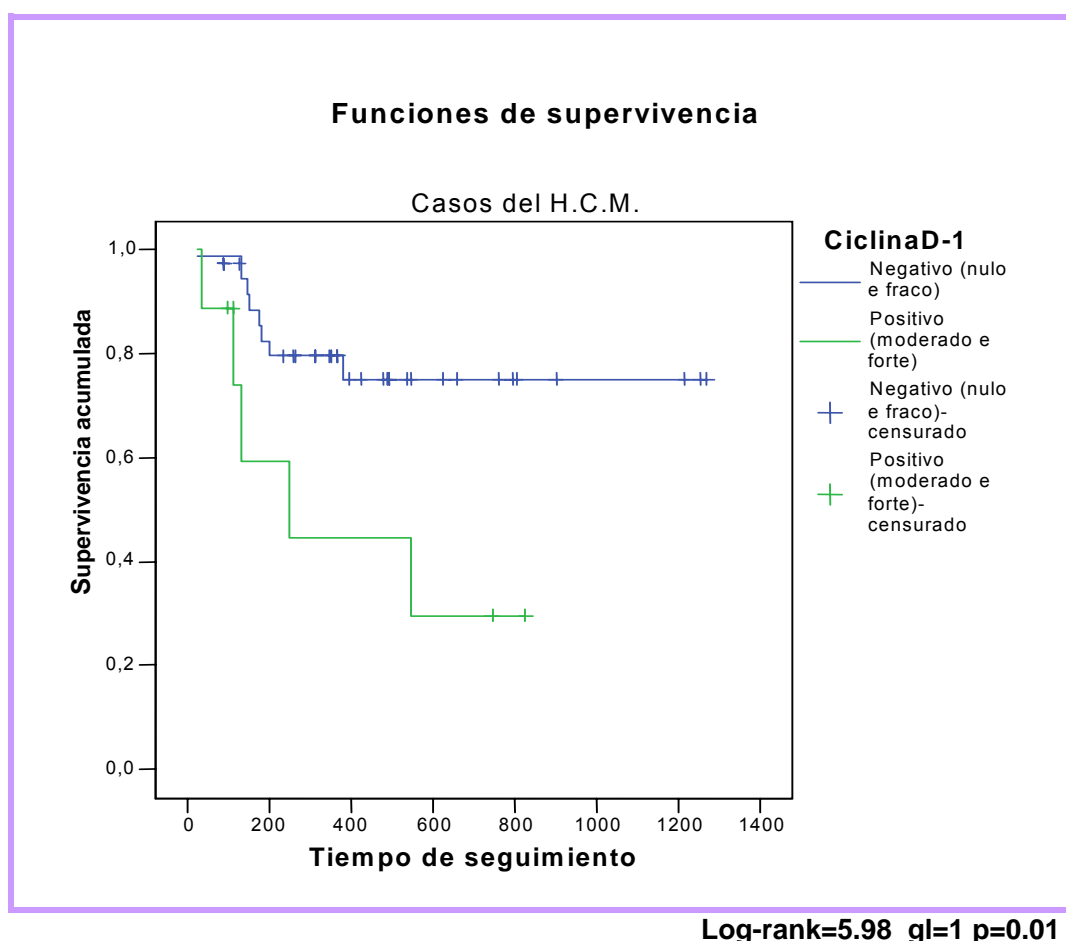


Gráfico 13 - Curva de supervivencia conforme la marcación de la Ciclina-D1 en las pacientes del H.C.M.

**7.6. DESCRIPCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DE UN SUBGRUPO
ESPECÍFICO DE PACIENTES HIV POSITIVAS DE MOZAMBIQUE**

7.6.1. Distribución de los casos sero-positivos en función de la edad de las pacientes

Tabla 34 - Frecuencia de las pacientes del Hospital Central de Maputo con CACU/ HIV positivas y CACU/ HIV negativas, por grupos de edad, Maputo 2005

E DA D E	HIV (-)		HIV (+)		Total	
	N	%	N	%	N	%
< de 39	6	35.3	11	64.7	17	100
40 - 45	5	62.5	3	37.5	8	100
46 - 56	7	77.8	2	22.2	9	100
57 - 73	11	100	0	0.0	11	100
> de 73	1	100	0	0.0	1	100
Total	30	65.2	16	34.8	46	100

Del total de 46 pacientes, un 34,8% son sero-positivos. Analizando la distribución de los sero-positivos por grupos de edad, se puede constatar que en el grupo de mujeres con edad menor o igual a 39 años, un 64,7% son sero-positivas para el HIV. Después de los 56 años predominan las mujeres sero-negativas.

7.6.2. Antecedentes gineco-obstétricos, hábitos alcohólicos y tabáquicos

Tabla 35 – Antecedentes ginecológicos-obstétricos y hábitos alcohólicos y tabáquicos de las pacientes con CACU/ HIV-positivas y negativas en el Hospital Central de Maputo

VARIABLE	HIV (-)		HIV (+)		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%
Paridad						
<i>0</i>	0		0	0.0	0	0.0
<i>1</i>	4	66.7	2	33.3	6	100
<i>2</i>	2	40.0	3	60.0	5	100
<i>Más de 3</i>	24	68.6	11	31.4	35	100
Total	30	65.2	16	34.8	46	100
Numero de abortos						
<i>0</i>	15	65.2	8	34.8	23	100
<i>1</i>	11	64.7	6	35.3	17	100
<i>Más de 1</i>	4	66.6	2	33.4	6	100
Total	30	65.2	16	34.8	46	100
Prematuros						
<i>0</i>	21	61.2	13	38.8	34	100
<i>1</i>	7	77.8	2	22.2	9	100
<i>Más de 1</i>	2	66.7	1	33.3	3	100
Total	30	65.2	16	34.8	46	100
Menopausia						
<i>No</i>	17	54.8	14	45.2	31	100
<i>Sí</i>	13	86.7	2	13.3	15	100
Total	30	65.2	16	34.8	46	100
Anticonceptivo Oral						
<i>No</i>	28	68.3	13	31.7	41	100
<i>Sí</i>	2	40.0	3	60.0	5	100
Total	30	65.2	16	34.8	46	100
Hábitos tabáquicos						
<i>No</i>	27	65.8	14	34.2	41	100
<i>Sí</i>	3	60.0	2	40.0	5	100
Total	30	65.2	16	34.8	46	100
Hábitos Sexuales						
<i>No consta</i>	14	82.4	3	17.6	17	100
<i>Pareja única</i>	11	55.0	9	45.0	20	100
<i>Múltiples parejas</i>	5	55.6	4	44.4	9	100
Total	30	65.2	16	34.8	46	100

Al describir los antecedentes gineco-obstétricos y los hábitos de estos subgrupos (sero-positivas y sero-negativas), se observa que la proporción de

sero-negativas es mayor en todas las variables estudiadas a excepción de la paridad y del uso de anticonceptivos orales. De entre las pacientes sero-positivas, el mayor porcentaje (60%), presentaron 2 partos frente a las sero-negativas. Sin embargo, la proporción de mujeres con más de 3 partos fue mayor entre las sero-negativas.

En cuanto al uso de anticonceptivos orales fue más frecuente entre las pacientes sero-positivas (60%).

7.6.3. Pacientes con CACU asociado con HPV y HIV. Descripción de sus antecedentes de Patología Cervical y ETS

Tabla 36 – Distribución de las Pacientes del Hospital Central de Maputo con CACU y otras infecciones en función de ser o no sero-positivas para el HIV

VARIABLE	HIV (-)		HIV (+)		Total	
	N	%	N	%	N	%
HPV						
<i>Negativo</i>	5	100.0	0	0.0	5	100
<i>Positivo</i>	25	62.8	16	37.2	41	100
Total	30	65.2	16	34.8	46	100
Patología cervical previa						
<i>No consta</i>	27	65.8	14	34.2	41	100
<i>Condilomas</i>	2	50.0	2	50.0	4	100
<i>LoSIL/ASCUS</i>	0	0.0	0	0.0	0	0
<i>HiSIL</i>	1	100.0	0	0.0	1	100
Total	30	65.2	16	34.8	46	100
ETS						
<i>No</i>	22	66.7	11	33.3	33	100
<i>Sí</i>	8	61.5	5	38.5	13	100
Total	30	65.2	16	34.8	46	100

Como se puede observar en la tabla 36, de entre las mujeres infectadas con el HPV; sólo un 37,2% son HIV positivo. Con relación a las demás patologías, también se encontraron mayores porcentajes de casos entre las sero-negativas frente a las sero-positivas, excepto las pacientes con condilomas donde, de un total de 4 casos, hay 2 (50%) sero-negativos y 2 (50%) sero-positivos.

7.6.4. Estadio clínico según la clasificación internacional de FIGO

Tabla 37 – Caracterización de las pacientes con CACU/ HIV positivo y negativo en el Hospital Central de Maputo por estadios de FIGO

	Estadios (FIGO)	HIV (-)		HIV (+)		Total	
		Nº de pacientes	Porcentaje válido	Nº de pacientes	Porcentaje válido	N	%
Precoz	IA1	0	0.0	0	0.0	0	.0
	IA2	0	0.0	0	0.0	0	0
	IB1	3	50.0	3	50.0	6	100
	Sub-total	3	50.0	3	50.0	6	100
Localmente avanzado	IB2	4	80.0	1	20.0	5	100
	IIA	6	60.0	4	40.0	10	100
	IIB	7	53.8	6	46.2	13	100
	IIIA	1	50.0	1	50.0	2	100
	IIIB	3	75.0	1	25.0	4	100
	Sub-total	21	61.8	13	32.2	34	100
Metastático	IVA	6	100.0	0	0.0	6	100
	IVB	0	0.0	0	0.0	0	0.0
	Sub-total	6	100	0	0.0	6	0.0
Total		30	65.2	16	34.8	46	100

Durante la fase precoz las proporciones de casos observados por estadios no varia entre los HIV (+) y HIV (-). Sin embargo, cuando se examinan los porcentajes observados en los estadios localmente avanzados, se constata que la mayor parte,

21 (86,8%) casos, ocurrió entre las mujeres sero-negativas frente a los 13 (38,2%) casos de pacientes sero-positivas.

En el estadio metastático, los 6 casos (100%), son pacientes sero-negativas.

Tabla 38 – Caracterización anatómo-patológica de las pacientes observadas en el Hospital Central de Maputo, en función de la infección por el HIV

VARIABLE	HIV (-)		HIV (+)		Total	
	N	%	N	%	N	%
Tipo histológico						
<i>Epidermoide</i>	26	63.4	15	36.6	41	100
<i>Adenocarcinoma de células claras</i>	2	66.7	1	33.3	3	100
<i>Adenocarcinoma puro</i>	2	100.0	0	0.0	2	100
Total	30	65.2	16	34.8	46	100
Tamaño del tumor						
<i>≤ 3 cm</i>	6	46.2	7	53.8	13	100
<i>4 – 6 cm</i>	12	75.0	4	25.0	16	100
<i>> 6 cm</i>	12	70.6	5	29.4	17	100
Total	30	65.2	16	34.8	46	100
Extensión del tumor						
<i>Precoz</i>	3	50.0	3	50.0	6	100
<i>Localmente avanzado</i>	21	61.8	13	38.2	34	100
<i>Metastático</i>	6	100.0	0	0.0	6	100
Total	30	65.2	16	34.8	46	100
Invasión de parametrios (clínico)						
<i>No</i>	15	68.2	7	37.5	22	100
<i>Sí</i>	15	62.5	9	31.8	24	100
Total	30	65.2	16	34.8	46	100

De igual modo a lo descrito anteriormente, se puede verificar que en esta muestra, los mayores porcentajes de las diversas variables descriptivas del tumor y de la invasión de los parametrios, se encuentran entre los casos sero-negativos, excepto cuando el tamaño del tumor es menor de 4cm y cuando el desarrollo del tumor está en la fase precoz. El tipo histológico predominante en los dos subgrupos fue el tipo epidermoide.

7.6.5. Características Histopatológicas de los casos Operados

Tabla 39 – Caracterización histopatológica de pacientes operadas con CACU/HIV positivo o negativo en Hospital Central de Maputo

VARIABLE	HIV (-)		HIV (+)		Total	
	N	%	N	%	N	%
Tipo histológico						
<i>Epidermoide</i>	11	61.1	7	38.9	18	100
<i>Adenocarcinoma de células claras</i>	2	66.7	1	33.3	3	100
<i>Adenocarcinoma puro</i>	2	100.0	0	0.0	2	100
Total	15	65.2	8	34.8	23	100
Invasión de estroma						
<i>Superficial</i>	7	63.6	4	36.4	11	100
<i>Profunda</i>	8	66.7	4	33.3	12	100
Total	15	65.2	8	34.8	23	100
Infiltración vascular						
<i>No</i>	10	58.8	7	41.2	17	100
<i>Sí</i>	5	83.3	1	16.7	6	100
Total	15	65.2	8	34.8	23	100
Márgenes afectados						
<i>No</i>	12	66.7	6	33.3	18	100
<i>Sí</i>	3	60.0	2	40.0	5	100
Total	15	65.2	8	34.8	23	100

En la tabla 39 también se puede observar que los mayores porcentajes de las diversas variables descriptivas del tumor se presentan en los casos sero-negativos. Con respecto al tipo histológico, merece destacar que en las pacientes sero-positivas no hubo casos del tipo adenocarcinoma puro.

Tabla 40. – Tratamiento y estado actual de las pacientes con CACU/ HIV positivo y negativo en Hospital Central de Maputo

VARIABLE	HIV (-)		HIV (+)		TOTAL		P
	N	%	N	%	N	%	
Tratamiento primario							
<i>Cirugía</i>	15	65.2	8	34.8	23	100	0.81
<i>Radioterapia</i>	2	50.0	2	50.0	4	100	
<i>Qt neod + RDT ó Cirugía</i>	1	100	0	0.0	1	100	
<i>Paliativo</i>	12	66.7	6	33.3	18	100	
Total	30	65.2	16	34.8	46	100	
Muerte por cáncer cervical							
<i>No</i>	22	66.7	11	33.3	33	100	0.74
<i>Sí</i>	8	61.5	5	38.5	13	100	
Total	30	65.2	16	34.8	46	100	
Estado vital							
<i>Viva sin enfermedad</i>	9	75.0	3	25.0	12	100	0.61
<i>Viva con enfermedad</i>	12	66.7	6	33.3	18	100	
<i>Muerte por cáncer</i>	8	61.5	5	38.5	13	100	
<i>Muerte por otra causa</i>	0	0.0	1	100.0	1	100	
<i>Desconocido</i>	1	50.0	1	50.0	2	100	
Total	30	65.2	16	34.8	46	100	
Recidivas (pacientes operadas)							
<i>No</i>	12	80.0	3	20.0	15	100	0.70
<i>Sí</i>	3	37.5	5	62.5	8	100	
Total	15	65.2	8	34.8	23	100	

En esta tabla 40 se puede observar que el mayor número de recidivas, 5 (62,5%) esta constituido por las pacientes sero-positivas. En cuanto al estado vital de las pacientes, los mayores porcentajes de pacientes vivas sin enfermedad y las que están vivas pero aún con patología y casos de muerte por cáncer, se presentaron en el subgrupo de pacientes sero-negativas. Hubo 1 paciente sero-positiva que murió por otra causa (suicidio).

7.6.6. EXPRESIÓN DE LAS PROTEÍNAS BIOLÓGICAS DEL TUMOR

Tabla 41 - Nivel de expresión de las proteínas biológicas del tumor en las pacientes estudiadas de Mozambique con CACU/ HIV positivo y negativo

VARIABLE	HIV (-)		HIV (+)		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%
Proteína p53						
No expresión	23	69.7	10	30.3	33	100
1% - 25%	4	44.4	5	55.6	9	100
25% - 50%	1	50.0	1	50.0	2	100
> 50%	2	100.0	0	0.0	2	100
Total	30	69.8	16	30.2	46	100
Proteína bcl-2						
No expresión	8	57.1	6	42.9	14	100
1% - 25%	12	63.2	7	36.8	19	100
25% - 50%	7	70.0	3	30.0	10	100
> 50%	3	100.0	0	0.0	3	100
Total	30	69.8	16	30.2	46	100
Proteína Ki-67						
No expresión	7	58.3	5	41.7	12	100
1% - 25%	17	62.9	10	37.1	27	100
25% - 50%	6	85.6	1	14.4	7	100
> 50%	0	0.0	0	0.0	0	100
Total	30	69.8	16	30.2	46	100
Proteína c-erbB-2						
No expresión	17	62.9	10	37.1	27	100
1% - 25%	4	44.4	5	55.6	9	100
25% - 50%	3	100.0	0	0.0	3	100
> 50%	6	85.6	1	14.4	7	100
Total	30	69.8	16	30.2	46	100
Proteína Ciclina-D1						
No expresión	23	63.9	13	36.1	36	100
1% - 25%	4	66.7	2	33.7	6	100
25% - 50%	3	75.0	1	25.0	4	100
> 50%	0	0.0	0	0.0	0	100
Total	30	69.8	16	30.2	46	100

En esta tabla se puede observar que la p53 y la c-erbB-2 presentan mayores proporciones de casos con expresión (1 – 25%) en las sero-positivas. Con relación a las demás proteínas estudiadas, las proporciones de casos observados en cada una de las categorías fue más alta en las pacientes sero-negativas frente a las sero-positivas, independientemente de haber o no-expresión de las proteínas.

7.6.7. Caracterización del pronóstico evolutivo en función de las variables anatómo-patológicas y de las oncoproteínas en las pacientes con CACU – HIV positivas y negativas

En la tabla siguiente se presentan las tasas de incidencia de recidiva al año, por paciente, en función de las características Anatomopatológicas y Histológicas en los dos grupos (sero-positivas y sero-negativas)

Tabla 42 - Tasas de incidencia de Recidiva al año, por paciente, en función de las características Anatomopatológicas y Histológicas

VARIABLE	HIV (-) IC (95%)			HIV (+) IC (95%)		
	Tasa	Min	Max	Tasa	Min	Max
Infiltración vascular						
<i>No</i>	0.10	0.00	0.30	0.26	0.12	0.64
<i>Sí</i>	0.34	0.17	0.85	0.00	0.00	0.00
Invasión parametrios						
<i>No</i>	0.18	0.04	0.39	0.00	0.00	0.00
<i>Sí</i>	0.00	0.00	0.00	0.25	0.10	0.60
Invasión estroma						
<i>Superficial</i>	0.00	0.00	0.00	0.19	0.00	0.61
<i>profunda</i>	0.41	0.03	0.86	0.38	0.22	0.99
Tamaño del tumor						
$\leq 3\text{ cm}$	0.00	0.00	0.00	0.19	0.00	0.61
$4 - 6\text{ cm}$	0.25	0.10	0.60	0.38	0.22	0.99
$> 6\text{ cm}$	0.55	0.48	1.57	0.00	0.00	0.00
Estadios FIGO						
<i>Precoz</i>	0.00	0.00	0.00	0.28	0.32	0.87
<i>Localmente avanzados</i>	0.20	0.04	0.49	0.23	0.19	0.64
<i>Avanzados, metastáticos</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Histología						
<i>Epidermoide</i>	0.16	0.08	0.40	0.27	0.11	0.66
<i>Adenocarcinoma de células claras</i>	0.23	0.43	0.90	0.00	0.00	0.00
<i>Adenoescamoso</i>	0.19	0.42	0.81	0.00	0.00	0.00

Las tasas de recidiva aumentan cuando hay invasión profunda del estroma y cuando aumenta el tamaño del tumor, tanto en las pacientes sero-negativas como en las sero-positivas. Las tasas de recidiva también aumentan en las sero-negativas cuando hay infiltración vascular y con la evolución de los estadios FIGO (tabla 42).

Tabla 43 - Tasas de incidencia de Recidiva al año por paciente, en función del nivel de Expresión de las Proteínas en pacientes HIV positivas y negativas del HCM

VARIABLE	(HIV -) IC (95%)			(HIV +) IC (95%)		
	Tasa	Min	Max	Tasa	Min	Max
Porcentajes Bcl-2						
<i>No-expresión</i>	0.17	0.00	0.53	0.34	0.00	0.91
<i>Expresión</i>	0.18	0.08	0.45	0.20	0.00	0.63
Proteína C-ErbB2						
<i>No-expresión</i>	0.04	0.0	0.17	0.25	0.12	0.62
<i>Expresión</i>	0.75	0.01	1.51	0.00	0.00	0.00
Proteína Ciclina D1						
<i>No-expresión</i>	0.19	0.04	0.42	0.25	0.10	0.60
<i>Expresión</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Proteína Ki-67						
<i>No-expresión</i>	0.12	0.00	0.45	0.34	0.00	0.91
<i>Expresión</i>	0.20	0.06	0.47	0.20	0.00	0.63
Proteína p53						
<i>No-expresión</i>	0.18	0.00	0.40	0.23	0.00	0.70
<i>Expresión</i>	0.18	0.00	0.77	0.27	0.00	0.78

Analizando los resultados resumidos en la tabla 43, se puede verificar que de un modo general, cuando la enferma es HIV (+), la tasa de recidiva aumenta tanto en los casos en que hay expresión de las proteínas como en los casos sin expresión.

Sin embargo, a excepción de la Ciclina D1, los intervalos de confianza observados indican que las tasas no son estadísticamente significativas.

Tabla 44 - Tasas de incidencia de Mortalidad al año, por paciente, en función de las características Anatomopatológicas y Histológicas en las pacientes HIV positivas y negativas del HCM

VARIABLE	HIV (-) IC (95%)			HIV (+) IC (95%)		
	Tasa	Min	Max	Tasa	Min	Max
Infiltración vascular						
<i>No</i>	0.00	0.00	0.00	0.13	0.00	0.37
<i>Sí</i>	0.48	0.18	0.79	0.57	0.05	1.09
Invasión parametrios						
<i>No</i>	0.00	0.00	0.00	0.48	0.03	0.99
<i>Sí</i>	1.04	0.52	1.55	0.23	0.08	0.54
Invasión estroma						
<i>Superficial</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.001
<i>Profunda</i>	0.4	0.14	0.66	0.52	0.11	0.93
Tamaño del tumor						
$\leq 3\text{ cm}$	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
$4 - 6\text{ cm}$	0.00	0.00	0.00	0.76	-0.09	1.62
$> 6\text{ cm}$	1.15	0.57	1.73	0.45	-0.05	0.95
Estadios FIGO						
<i>Precoz</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>Localmente avanzados</i>	0.00	0.00	0.00	2.21	0.15	4.27
<i>Avanzados, metastáticos</i>	1.90	1.05	2.76	0.00	0.00	0.00
Histología						
<i>Epidermoide</i>	0.30	0.09	0.51	0.35	0.05	0.65
<i>Adenocarcinoma de células claras</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>Adenoescamoso</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

En la tabla 44 se puede observar que la tasa de mortalidad en ambos subgrupos aumenta con la infiltración vascular; invasión profunda del estroma, pero fue más evidente en las pacientes sero-positivas, mientras que en las pacientes sero-negativas lo que más destacó fue el estadio FIGO en fase metastático, que correspondió a 1.9 con IC [1.05 – 2.76] y también se evidenció el tamaño del tumor mayor a 6 cm, que correspondió al 1.15 con IC [0.57 – 1.73].

Tabla 45 - Tasas de incidencia de Mortalidad al año por paciente, en función del nivel de Expresión de las Proteínas en pacientes HIV positivas y negativas del HCM

VARIABLE	HIV (-) IC (95%)			HIV (+) IC (95%)		
	Tasa	Min	Max	Tasa	Min	Max
Porcentajes Bcl-2						
<i>No-expresión</i>	0.15	0.12	0.41	0.16	0.10	0.48
<i>Expresión</i>	0.27	0.05	0.49	0.46	0.04	0.88
Proteína C-ErbB2						
<i>No-expresión</i>	0.08	0.06	0.21	0.29	0.04	0.62
<i>Expresión</i>	0.64	0.21	1.08	0.43	0.09	0.96
Proteína Ciclina D1						
<i>No-expresión</i>	0.13	0.00	0.28	0.26	0.00	0.53
<i>Expresión</i>	0.80	0.14	1.47	0.61	0.27	1.49
Proteína Ki-67						
<i>No-expresión</i>	0.19	0.13	0.52	0.25	0.19	0.69
<i>Expresión</i>	0.23	0.04	0.43	0.36	0.01	0.72
Proteína p53						
<i>No-expresión</i>	0.15	0.01	0.30	0.19	0.08	0.46
<i>Expresión</i>	0.48	0.03	0.99	0.68	0.02	1.34

De un modo general, en ambos subgrupos, las tasas de incidencia de mortalidad aumentan con el nivel de expresión de las proteínas. Las proteínas bcl-2 y la Ki-67

fueron las que más se destacaron, tanto en las pacientes sero-positivas como en las sero-negativas.

Sin embargo, merece destaque el hecho una tasa de mortalidad alta, 0,68 con IC [0.02 – 1.34] estar asociada a la expresión positiva de la p53 en las pacientes sero-positivas contra 0,48 en las sero-negativas; y en contrapartida la expresión de la c-erbB-2 haber sido muy alta en las pacientes sero-negativas 0,64 con IC [0.21 – 1.08] en relación a las seropositivas 0.43 con IC [0.09 – 0.96].

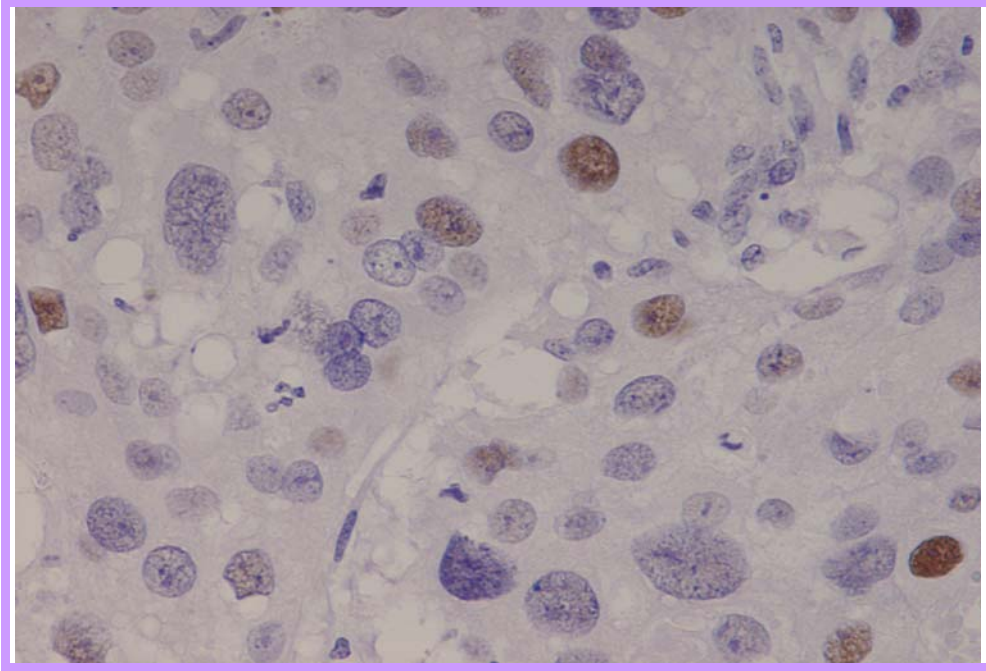


Ilustración 1. Inmuno-marcación de la proteína p53 en una muestra del H. del Mar. 40X

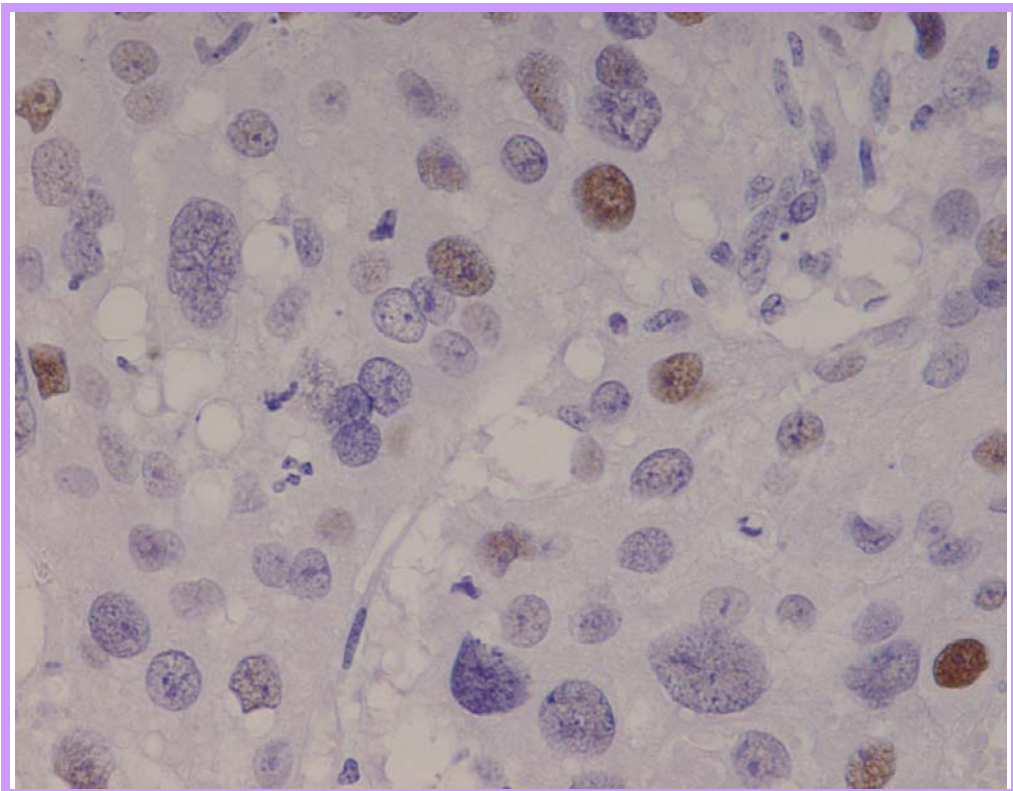


Ilustración 2. Inmuno-marcación de la proteína p53 en la muestra del H. Central de Maputo. 40X

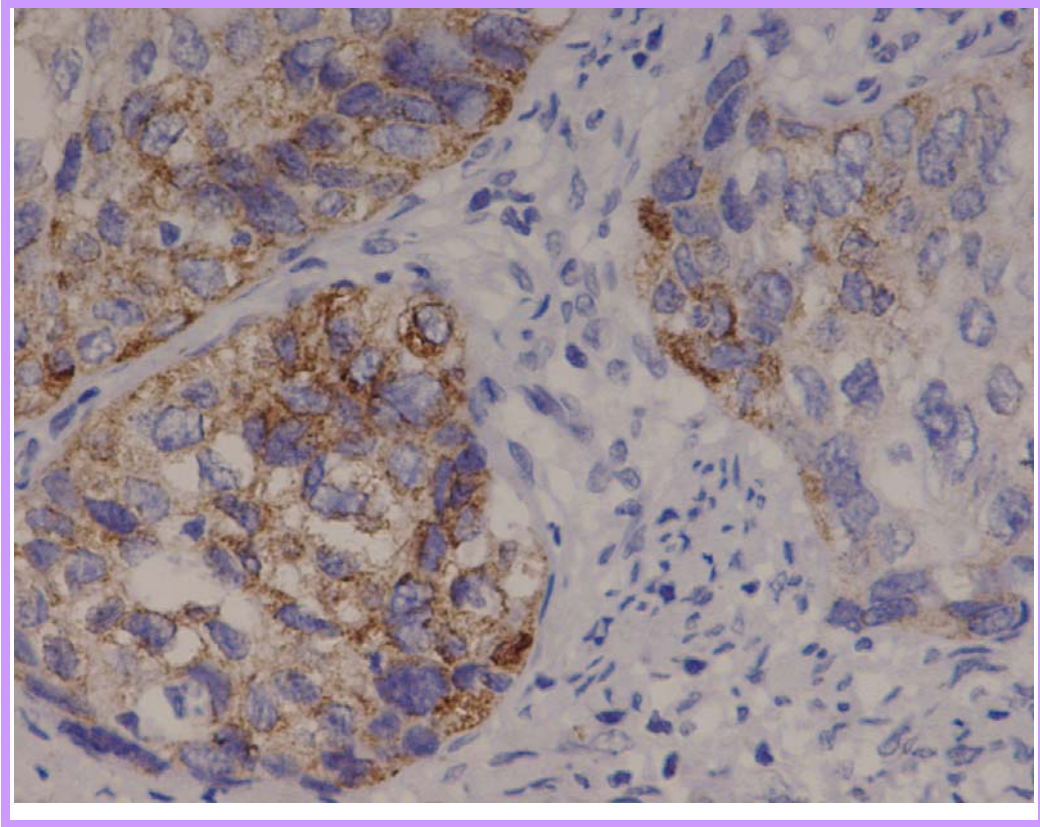


Ilustración 3. Inmuno-marcación de bcl-2 en la muestra del H. del Mar. 40X

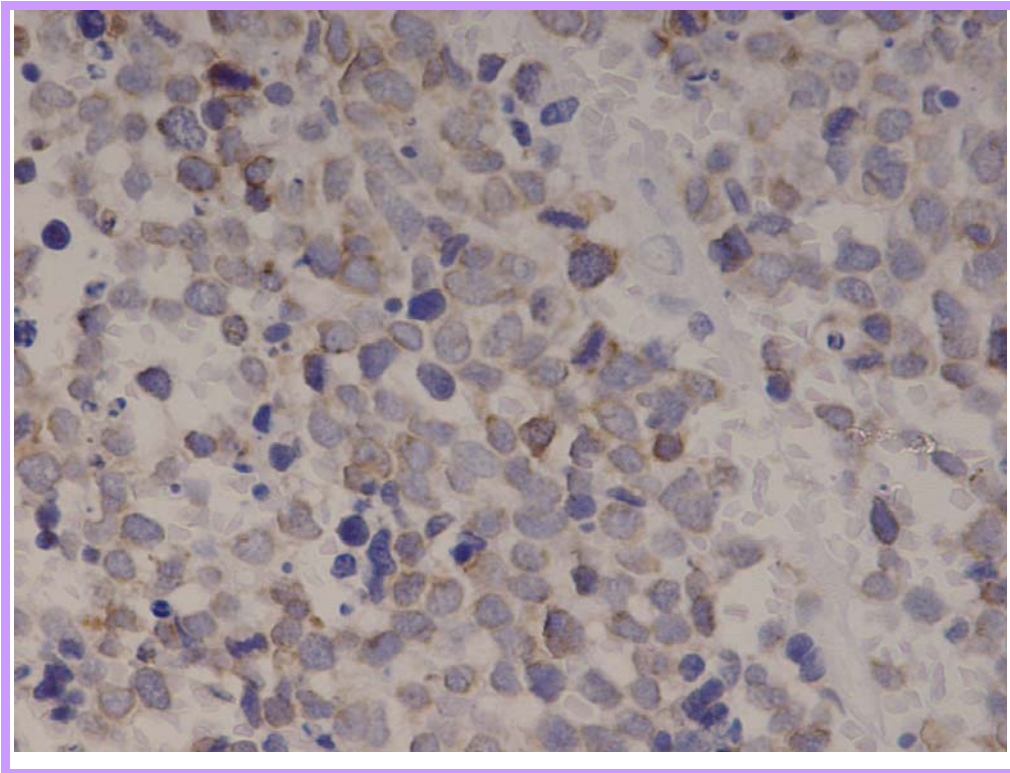


Ilustración 4. Inmuno-marcación de la proteína bcl-2 en la muestra del H. Centra de Maputo. 10X.

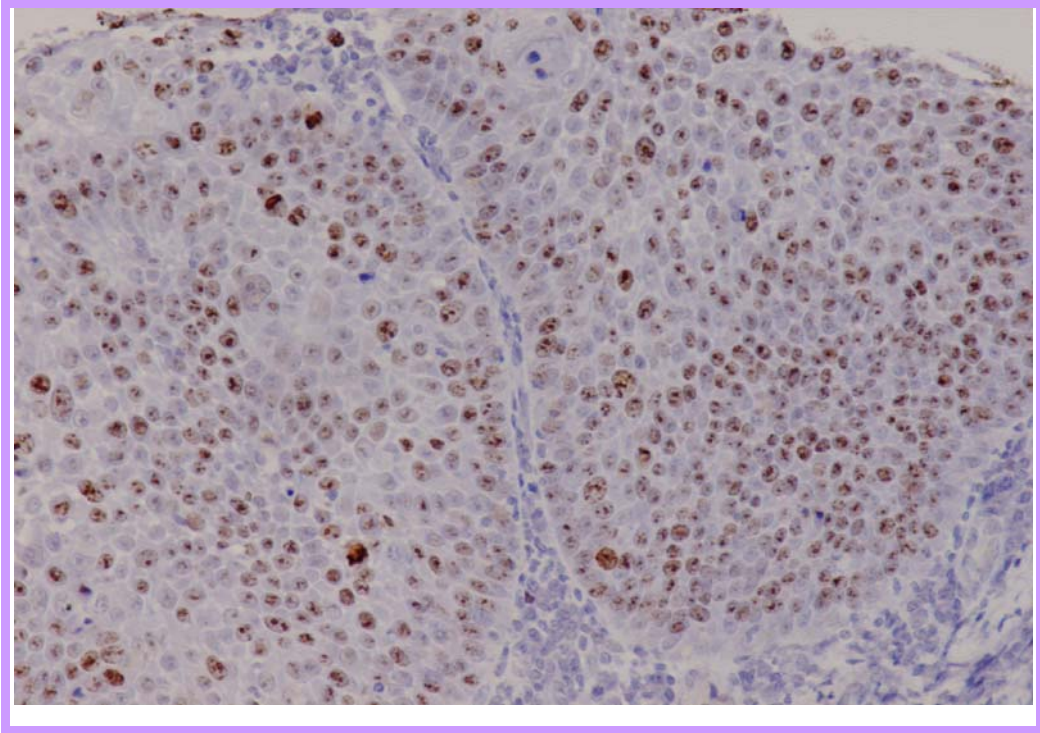


Ilustración 5. Inmuno-marcación de la proteína Ki-67 en la muestra del H. del Mar. 20x

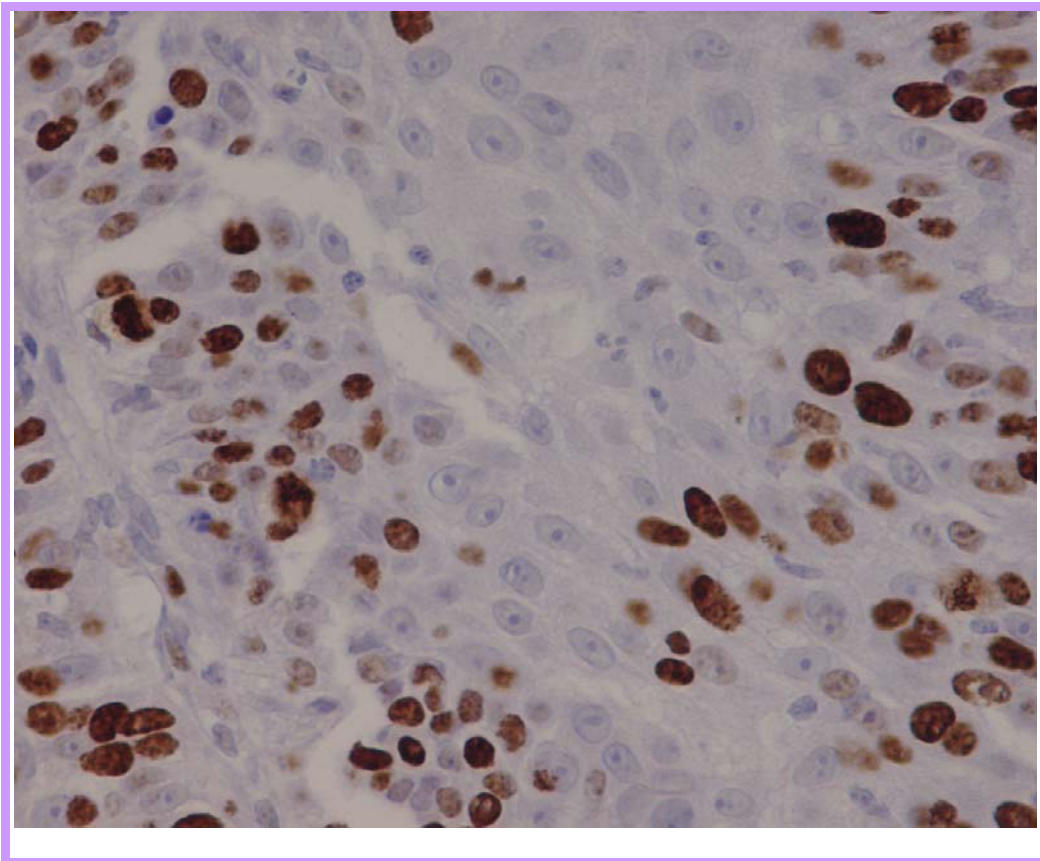


Ilustración 6. Inmuno-marcación de la proteína Ki-67 en la muestra del H. Central de Maputo. 20X

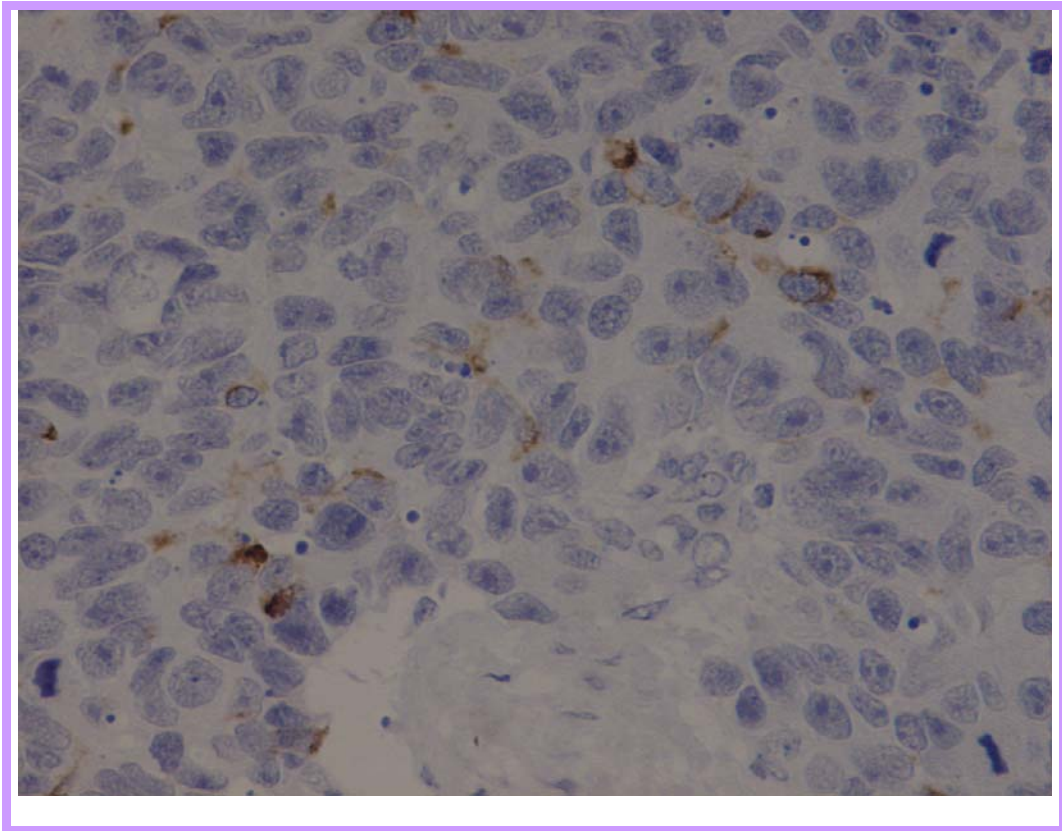


Ilustración 7. Inmuno-marcación de la proteína c-erbB-2 en la muestra del H. del Mar. 40X

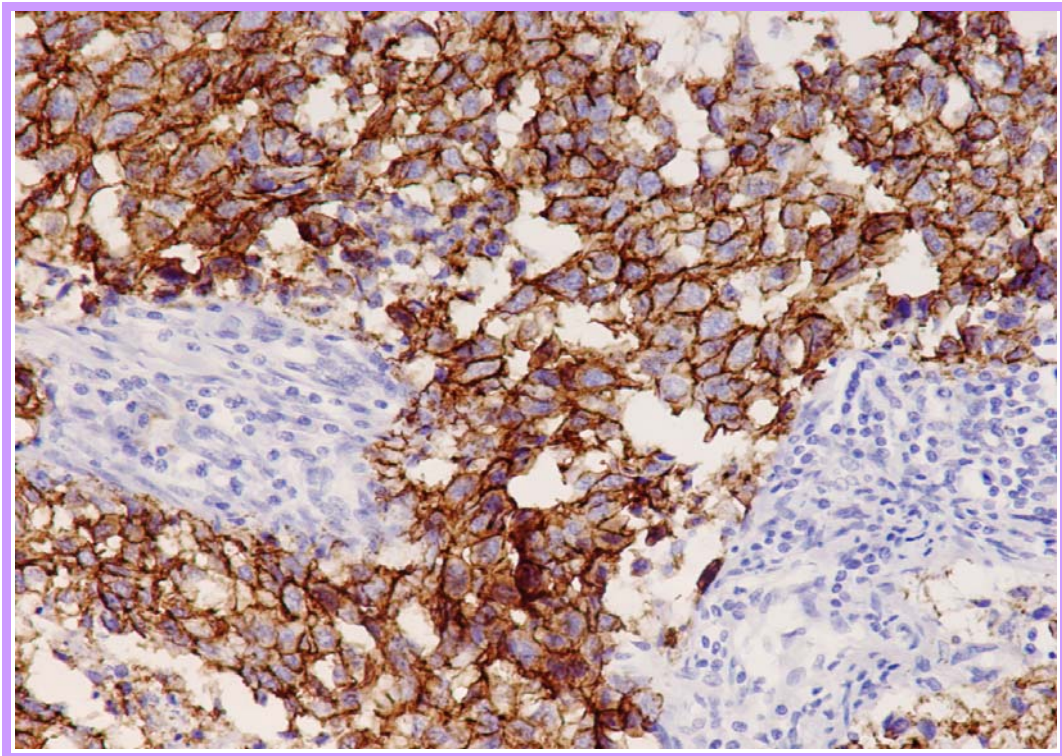


Ilustración 8. Inmuno-marcación de la proteína c-erbB-2 en la muestra del H. Central de Maputo. 20X

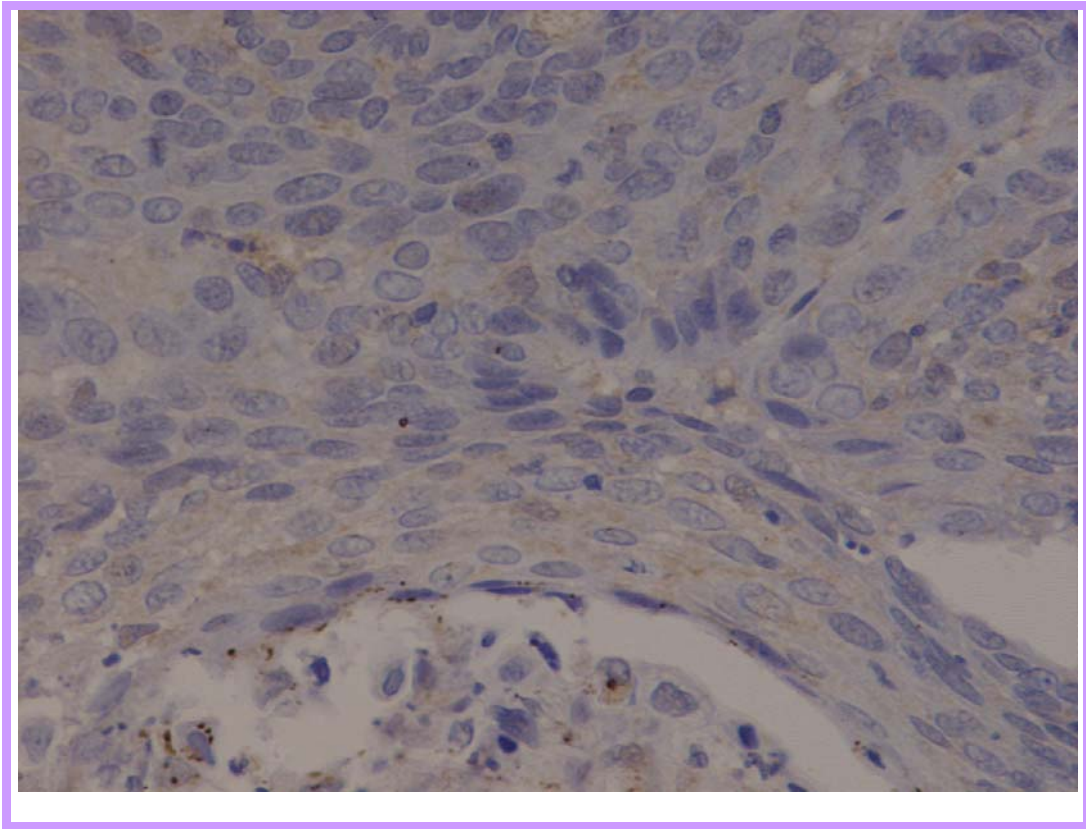


Ilustración 9. Inmuno-marcación de la proteína Ciclina-D1 en la muestra del H. del Mar. 20X

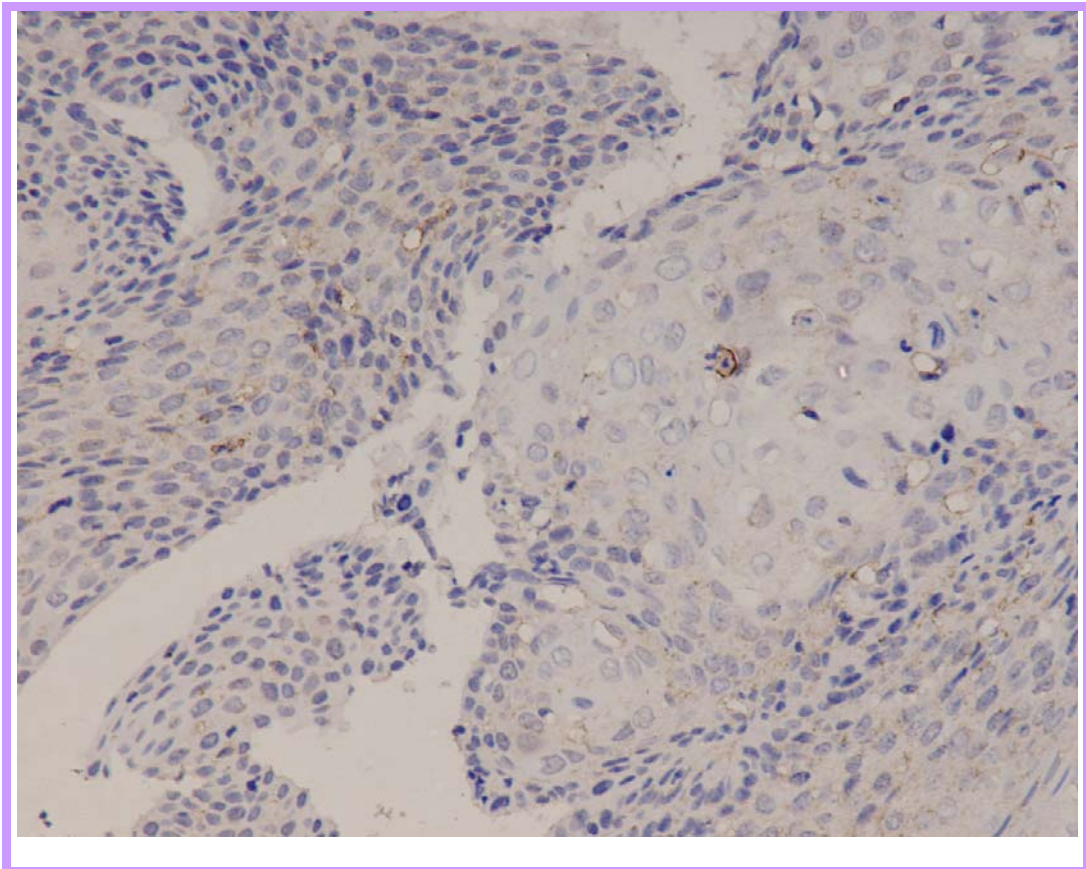


Ilustración 10. Inmuno-marcación de la proteína Ciclina -D1 en la muestra del H. Central de Maputo.10X

DISCUSIÓN

VIII. DISCUSIÓN

8.1. Consideraciones metodológicas

Efectuar un pronóstico seguro de los tumores del cáncer de cérvix uterino ha sido uno de los objetivos más relevantes de los científicos que se dedican al estudio de la etiopatogenia, clínica y tratamiento de este cáncer. Todavía esta meta no se ha alcanzado totalmente en el mundo actual, ya que existen muchos factores que pueden influenciar directa o indirectamente en la evolución del tumor. La identificación e interpretación de los fenómenos moleculares que sustentan la carcinogénesis viene siendo útil para la toma de decisiones con relación al tratamiento de las pacientes.

Uno de los temas que ha sido objeto de estudio es el valor pronóstico de la expresión de las proteínas oncogénicas con relación a la evolución clínica de las pacientes con cáncer del cérvix.

Pocos estudios han sido realizados en los países en desarrollo, particularmente en África, por lo que poco se sabe sobre el valor pronóstico de las proteínas oncológicas en el pronóstico evolutivo de esta enfermedad.

Marcadores biológicos como la p53, c-erbB-2, bcl-2, Ciclina-D1 y la Ki-67 han sido relacionados con la progresión de este tumor, y su valor pronóstico es controvertido. La investigación del rol de estas proteínas como potenciales

indicadores de progresión de la enfermedad pueden orientar a los médicos en la definición de estrategias de combate de esta enfermedad con mayor éxito.

Con el objetivo de identificar los factores biológicos que caracterizan y/o interfieren en la evolución del tumor cervical invasor de dos poblaciones distintas (observadas en el Hospital Central de Maputo y en el Hospital del Mar de Barcelona) de alto y bajo riesgo, respectivamente, se realizó este estudio, donde se hace la caracterización clínica y epidemiológica de las dos muestras, para luego describir los niveles de expresión de las proteínas p53, ki-67, bcl-2, c-erbB-2 y Ciclina D-1, usando técnicas de inmunohistoquímicas. Se evalúa la correlación entre la evolución de los casos de cáncer de cérvix y la expresión de las proteínas oncogénicas en pacientes con cáncer observadas en el Hospital del Mar, en Barcelona, comparándolas con casos de cáncer de cérvix observados en el Hospital Central de Maputo, en Mozambique.

Para ello se realizó un estudio en dos etapas, siendo un tiempo retrospectivo donde se buscaron las biopsias de casos de cáncer confirmados histológicamente, conservados en bloques de parafina, y una fase de seguimiento que en Maputo consistió de un proceso de identificación, localización y seguimiento de los casos durante el período que duró el estudio, aproximadamente 5 años. Con relación a los casos de Barcelona, había ya una base de datos registrados en el paquete informático *Microsoft Access*, bien estructurada y con toda la información recogida durante el período de seguimiento de las respectivas pacientes con indicación precisa de las fechas donde fueron observadas, las fechas en que hicieron exámenes de control

(incluyendo los tipos de examen), y las fechas en que se registró el evento (curación, recidiva, en progresión o muerte).

Se optó por este método mixto, debido a las ventajas que tiene en términos de coste, tiempo de observación y de la posibilidad de investigar múltiples factores simultáneamente.

Sin embargo, la interpretación de los resultados debe tener en consideración esta y otras limitaciones del estudio. Una de las insuficiencias de este estudio, es el tamaño de la muestra que no permitió examinar en detalle algunas de las variables en todos sus parámetros, particularmente cuando se trataba de variables politómicas, lo que no permitió, en algunos casos, análisis estadísticos concluyentes. Sería deseable hacer un cálculo previo del tamaño de la muestra para conferir al estudio un poder estadístico capaz de detectar niveles de expresión más significativos para algunas de las proteínas estudiadas, pero este procedimiento implicaría costes no disponibles en las condiciones en que el estudio fue realizado, sobretodo en Mozambique.

Del Hospital Central de Maputo se seleccionaron unas 120 biopsias, que se transportaron a Barcelona. Sin embargo sólo fue posible analizar 46. Del Hospital del Mar fueron analizadas 47, resultando así un estudio de biopsias correspondientes a 93 pacientes.

Además, los estudios con una componente retrospectiva tienen siempre riesgos de sesgos, pues se trata de pacientes inicialmente observadas por

otros médicos, a veces con recursos de diagnóstico diferentes, llevando a registros de informaciones subjetivas.

La componente prospectiva y de seguimiento, aunque onerosa, permitió clarificar algunas dudas en relación a la historia de la enfermedad. Sin embargo, hubo casos en que se constató falta de información en algunos procesos clínicos y no siempre fue fácil encontrar a la paciente para obtenerlos. Además, la recogida de datos (directa o indirecta), relacionado con la actividad sexual (el número de parejas o la edad de inicio de actividad sexual) puede dar lugar a sesgos inevitables de información, de memoria o actitudes de rechazo por parte de las participantes, de tal modo que se puede obtener información incorrecta sobre estos parámetros. En este estudio no tuvimos casos de rechazo.

Aunque para los propósitos de este estudio se pudiese considerar un período de seguimiento de 5 años, el estudio empezó cuando las pacientes del Hospital del Mar ya eran observadas durante varios años. Hay pacientes con más de 7 años de seguimiento. Aunque para la muestra de Maputo ha sido posible seguir los casos, fue difícil determinar las recidivas y el tiempo libre de enfermedad ya que el que consta en los registros es la fecha en que la paciente acude a la consulta y esto puede haber acontecido varios meses después de iniciarse la recidiva.

Como se ha mencionado en el capítulo de metodología, para la descripción de la expresión de las proteínas se utilizó la técnica de Inmunohistoquímica. Este

es una técnica bastante utilizada en este tipo de estudios por tratarse de un ensayo rápido, simple y capaz de evaluar las características tumorales de una manera clara. Sin embargo, es una técnica con diversas limitaciones. Por ejemplo, algunos anticuerpos utilizados para la detección de la p53 (DO-7), no discriminan los tipos «selvagenes» y los mutantes de la proteína p53. Además se sabe que un 20% de las mutaciones del p53 resultan en proteínas no siempre identificables por la técnica inmunohistoquímica.

Según Mark HF y col (1999), para demostrar el estado de c-erbB-2 en tejidos, el FISH (hibridación in situ de fluorescencia) parece ser más confiable y rentable que la inmunohistoquímica. Sin embargo, Sharma A y, (1999), defienden que la técnica de hibridación in situ no fluorescente para la detección del c-erbB-2, parece ser más sensible que la técnica de «Southern blot» que podría detectar la amplificación en el 14% de los tumores de la misma cohorte. Hasta el momento no hay ninguna explicación para estas discrepancias.

Por lo tanto, los resultados dependen también de la técnica utilizada para la cuantificación de las proteínas.

Finalmente es necesario tener en cuenta que los casos estudiados resultan de una casuística de base hospitalaria, por lo que pueden no ser representativos de la población de las áreas de estudio (Maputo y Barcelona) y, por lo tanto, su extrapolación podría estar sesgada.

8.2. Discusión de los resultados

Estudiamos un total de 93 mujeres con cáncer de cérvix uterino, siendo 46 del Hospital Central de Maputo y 47 del Hospital del Mar, de Barcelona con características bastante heterogéneas en términos de edad, condiciones socio-económicas, historia gineco-obstétrica y fases evolutivas del tumor.

El grupo de mujeres del Hospital Central de Maputo es relativamente más joven que las mujeres del Hospital del Mar. Las primeras, con una edad media de 46 años (SD=14.9) y las segundas con una media de 58 años (SD=14.5); un 37% de las mujeres del Hospital Central de Maputo tenían menos de 39 años, frente al grupo del Hospital del Mar que solamente un 6.4% pertenecían a este grupo de edad.

Este resultado es congruente con otros estudios de cáncer de cérvix involucrando mujeres de países en desarrollo. Lo han demostrado los estudios de Lancaster EJ y col (1999) realizado en Sudáfrica, de Castañeda-Iniguez MS y col, (1998) realizado en México así como el de Mukherjee BM y col (1994) realizado en India.

Por otro lado, la tendencia observada de un aumento de casos con la edad avanzada en la muestra del Hospital del Mar, también es congruente con estudios previos que demostraran que al igual que en otros países desarrollados, el cáncer de cérvix uterino se presenta con mayor frecuencia entre la quinta y la sexta década de la vida (*Parazzini F y col, 1998; Biswas L y*

col, 1997). Esta diferencia es debida a varios factores destacándose sobretodo la práctica de *screening* regular a partir de los 35 años, que casi se tornó rutina en los países desarrollados, lo que permite hacer el diagnóstico precoz de los casos antes de que estos evolucionen a formas más complejas.

Es obvio que la evolución a carcinoma invasivo, en edad temprana, estaría ligada a la acción sinérgica de varios factores prevalecientes en este grupo de pacientes, siendo ejemplo de estas, la exposición a las ETS, la multiparidad y precocidad sexual, que facilitarían la persistencia de HPV.

La exposición, en simultaneo y o repetida, de las mujeres más jóvenes, a estos y otros factores de riesgo, lo que es común en los países en desarrollo, contribuye casi seguramente en el agravamiento de este problema (*Bosh FX y col, 1995*). Para confirmar este análisis, Rostad B, da Costa F, (2003), concluyeron en un estudio caso-control realizado en Maputo, que la prevalencia de cáncer de cérvix uterino en las mujeres jóvenes estaba asociada a factores de riesgo como el nivel de educación, el nivel socioeconómico, el número de partos, el comportamiento sexual y la experiencia previa de enfermedad de transmisión sexual.

En este estudio y en coincidencia con lo que observaron otros autores como Bosch y col, (2002); Hart KW y col, (2001) las dos muestras presentaron cerca de un 90% de infección con el virus del papiloma humano de alto riesgo.

En la actualidad, la asociación sólida y consistente entre la infección persistente por HPV y el cáncer de cérvix uterino, constituye uno de los avances más importantes para comprender la etiología de cáncer cervical (*Erik CT y col, 2000; Sellors JW y col, 2000; Bosch FX y col, 2002; Stoler MH y col, 2003*). En un estudio reciente realizado en Mozambique con colaboración del Instituto Karolinska de Suecia (*Naucner P; da Costa F y col, 2004*), involucrando 94 pacientes con cáncer de cérvix uterino invasor, también se encontró el HPV 16 y el HPV 18 como agente etiológico predominante. Sin embargo, persisten dudas sobre el papel de otros factores habitualmente descritos como implicados en la etiología del cáncer; sí la cuestión es saber si estos aspectos son un marcador de riesgo o si constituyen un evento causal por sí mismo.

Aunque el diseño de este estudio no sea apropiado para medir el peso de estos factores, hicimos un análisis descriptivo sobre comportamientos que pueden exponer a las mujeres a factores de riesgo asociados al cáncer de cérvix.

Hay autores que muestran asociación con la multiparidad. Estudios realizados en Nigeria, también encontraron asociación de esta enfermedad con la multiparidad (*Onwudiegwu U y col, 1999; Ijaiya MA y col, 2004*) y otros realizados en diferentes países (*Muñoz N y col, 2002*) que obtuvieran semejantes resultados. Entretanto, estos datos son difíciles de interpretar pues, aunque haya varios estudios sobre estos factores de riesgo (*Reeves WC y col, 1985; Brinton LA y col, 1987; Brinton LA y col, 1992*), la mayor parte utilizaron métodos y criterios diferentes, difícil de hacer la valoración apropiada. Además, otros estudios (*Castañeda-Iñiguez MS y col, 1998*) tienen sus limitaciones

puesto que se desarrollaron dentro de un marco de un programa de prevención y control de cáncer cérvico-uterino y no fueron representativos de la población de ese país.

En este estudio se verificó que un 74% de las mujeres del Hospital Central de Maputo tenían más de 3 hijos, mientras que en el grupo del Hospital del Mar ocurrió en 51%. Esta asociación entre la paridad y el riesgo de cáncer en Maputo fue mejor evidenciada en un estudio caso-control sobre los factores de riesgo asociados al cáncer de cérvix, realizado en Maputo, por la doctoranda y especialistas de la Universidad de Trondheim, involucrando 233 mujeres, donde, entre otros, se evaluó el peso de este indicador. El estudio demostró que entre los casos, un 46% de mujeres tenían más 5 hijos contra solamente 19% en el grupo de controle con una OR=4.0 con 95% IC (2.03 – 5.44)

Otros estudios han reportado que el embarazo provoca un estado de inmunosupresión que podría aumentar la susceptibilidad del organismo para la infección por HPV genital (*Kjellberg L y col, 2000; Muñoz N y col, 2002*) y que la neoplasia aparece con mayor frecuencia en el labio anterior del cérvix, zona donde el traumatismo obstétrico es más intenso, por lo que es plausible considerar al parto vaginal como factor de riesgo de cáncer de cérvix uterino (*Becker MT y col, 1994; Stewart WB y col, 2003*).

La asociación entre el inicio temprano de la actividad sexual y la ocurrencia de cáncer de cérvix uterino, es descrita por varios autores (*Rostad B y col, 2003; Waggoner SE y col, 2003; Castañeda-Iñiguez MS y col, 1998*) que lo

consideran estar asociado a la inmadurez del epitelio cervical que incrementa su susceptibilidad y vulnerabilidad a los agentes oncogénicos así como a la mayor facilidad de adquisición de enfermedad de transmisión sexual. En estudio se constató que un 33,3% de las mujeres del Hospital Central de Maputo, tuvieron el primero hijo con edad inferior a 17 años. El estudio caso-control anteriormente referido, mostró que la proporción de mujeres con inicio de actividades sexuales en edad igual o inferior a los 15 años era mayor entre las mujeres con cáncer (47%) frente a las mujeres de igual edad en el grupo de controles (19%) con una OR=4.8 y 95%IC (2.03 – 11.35).

Con relación a los anticonceptivos orales, a pesar de difícil valoración, puesto que para estudiar el uso de estos es necesario ajustar el comportamiento sexual y controlar el riesgo de exposición al HPV, recientemente, la Organización Mundial de la Salud, estableció que el uso prolongado de anticonceptivos orales constituye un factor de riesgo para cáncer cervical (*Stewart WB y col, 2003*). Algunos autores refieren que la asociación es más frecuente para el carcinoma de células escamosas (*Berrington de Gonzalez A y col, 2004*), mientras que otros reportan que es más frecuente en los adenocarcinomas (*Hopkins PM y col, 2004*). En España, el último censo pone de manifiesto las tasas bajas de natalidad y de acuerdo con la información de 2000, este país se sitúa entre los seis países más envejecidos de los quince que forman la Unión Europea. Quizás esto puede en parte, explicar el mayor porcentaje de mujeres encontradas en este estudio, con historia de uso de anticonceptivos orales como forma de planificación familiar.

Aunque en este estudio no se cuantificó el tiempo de uso de los anticonceptivos orales por parte de las pacientes, puesto que no era el objetivo del estudio y también porque en la mayor parte de los registros no constaba la duración del uso, es importante referir que la relación entre el uso prolongado de los anticonceptivos orales con el cáncer de cérvix uterino ha sido objeto de varios estudios y de algunas discrepancias en los resultados obtenidos. De hecho, algunos estudios demostraron un aumento de riesgo para el cáncer cervical (*Brinton LA y col, 1990; Ljuca D y col, 2000; Moreno V y col, 2002*), mientras que otros no la encontraron (*Irwin KL y col, 1988; Coker AL y col, 1992; Kjellberg L y col, 2000; Shields TS y col, 2004*). Uno de estos estudios, encontró que las mujeres que los usaban entre cinco y diez o más años tenían mayor riesgo cuando eran comparadas con las mujeres que nunca los han utilizado o los utilizaron por menos de cinco años (*Moreno V y col, 2002*).

El hecho de haber constatado que en la muestra de Maputo, un 60% de las mujeres que toman anticonceptivos orales son sero-positivas, puede ser sugerente de que estas mujeres no usan preservativos y por lo tanto se exponen al virus HIV. Sin embargo no se puede concluir nada definitivo porque se sabe poco si la toma sistemática de anticonceptivos orales es anterior o posterior a la infección por el HIV. Además, en las mujeres observadas en el Hospital del Mar, también se encontró un número considerable de mujeres que toma anticonceptivos orales y no hay casos de HIV.

Con respecto al tabaquismo, aún se cuestiona, a pesar de que estudios recientes sugieren una relación con la incidencia de cáncer del cérvix uterino.

El porcentaje de pacientes con historia de tabaquismo fue más evidente en las pacientes del H. del Mar, 22 casos (41.8%), cuando son comparadas con las del HCM (10.9%). Estos hallazgos son congruentes con los estudios de algunos autores que estudiaron los factores de riesgo asociados al cáncer en las mujeres, en los países desarrollados los cuales inciden más en el tabaquismo y en el uso prolongado de anticonceptivos orales. Para Boulanger JC (2004) el tabaco constituye un factor independiente de riesgo para el cáncer cervical. En el moco cervical de las fumadoras se han encontrado carcinógenos que pueden adherirse al ADN celular y dañarlo, cooperando de esta manera con el HPV para producir transformación celular maligna (Thun MJ y col, 2000). Además se postula que el tabaco induce un efecto inmunosupresor local (Serrano RO y col, 2004). Sin embargo hay estudios que son controvertidos.

En cuanto a los hábitos sexuales en la muestra del HCM, se observó que la mayoría (43,5%) tenía una sola pareja y 19,6% más de una pareja. En las pacientes del Hospital del Mar no había registro de este dato. Aunque sean datos que no se pueden comparar entre las dos muestras, grand parte de las pacientes del Hospital Central de Maputo tenían sólo una pareja. Está descrito en estudios previos que múltiples parejas sexuales (de ella o de su compañero) es un factor de riesgo para el desarrollo de cáncer de cérvix uterino. Según Lobatón AT y col (2004), las mujeres con más de tres compañeros sexuales tienen un riesgo tres veces mayor de contraer cáncer cérvico-uterino y Frias MM y cols, (1999), en su estudio de casos y de controles demostró un riesgo 4 veces mayor para las mujeres que referían tener más de una pareja sexual.

Sin embargo, algunos estudios han demostrado o contrario, es decir, no encontraron asociación con múltiples parejas. Peters RK y cols, (1987) realizó un estudio en mujeres latinoamericanas que vivían en California donde la incidencia de cáncer cervical es alta. En este estudio no encontró asociación significativa con el cáncer de cérvix, sólo observando que la escasa educación entre las mujeres latinas era el factor de riesgo más importante para explicar la alta incidencia de cáncer de cérvix uterino. De igual modo Shields TS y col, (2004), en un estudio de casos y de controles sobre los factores de riesgo en mujeres de US, encontraron que la escasa educación sexual tenía un significado predictivo importante en el incremento de cáncer cervical.

Otros autores han valorado más los antecedentes sexuales del varón; la conexión con el varón está reforzada por los estudios que encuentran relación entre la incidencia de cáncer de pene y de cuello de útero (Melbye M y col, 2002; Bosch FX y col, 1990), y un riesgo doble de cáncer cervical en mujeres casadas en segundas nupcias con varones cuya primera esposa había fallecido por cáncer cervical (Kessler II y col, 1977; Brinton LA, 1992). En nuestro estudio no evaluamos este indicador, pero en Mozambique, la poligamia es un fenómeno muy frecuente, particularmente en las zonas rurales, por lo que no se debe excluir la hipótesis de que el varón sea portador y vehículo de la infección por HPV que posteriormente transmite a la mujer.

En relación a los antecedentes de patología cervical y otras ETS, hemos constatado que un 23.4% de las pacientes vistas en el Hospital del Mar

tuvieron condilomas y solamente un 8.8%, en Maputo. Hay que tener en consideración que se trata de datos relativos a antecedentes por lo que la información que se registra depende de las informaciones aportadas por las pacientes y esto no siempre corresponde exactamente a la realidad.

Respecto de la inmunosupresión debida a la infección por el HIV, fue más frecuente entre los casos de Hospital Central de Maputo donde se presentaron 16 (34,8%) contra 2 (4,3%) en el Hospital del Mar de Barcelona.

Es sabido que el número de casos de cáncer de cérvix en mujeres jóvenes menores de 30 años así como el SIDA, han aumentado en los últimos años principalmente en los países en desarrollo, incluyendo Mozambique. Son varios los estudios que comprueban que las mujeres infectadas con HIV, tienen su sistema inmune deprimido y presentan un mayor riesgo de desarrollar una displasia y neoplasia que aquellas mujeres HIV negativas (*La Ruche G y col, 1998; Abercrombie PD y col 1998; Leroy V y col 1999*). Además algunos estudios sugieren que la displasia en las mujeres portadoras del HIV tiene una tendencia de persistir, progresar y de difícil tratamiento (*La Ruche G y col, 1999*). Sin embargo este estudio no mostró asociación entre el HIV y la neoplasia cervical. De cualquier modo no se pueden extraer conclusiones definitivas porque el tamaño de la muestra es pequeño.

El tipo histológico más predominante en ambas muestras fue el cáncer de tipo epidermoide, también conocido como cáncer de células escamosas, que correspondió a cerca de un 90%, frente a los otros tipos histológicos. Este

hallazgo es igual al referido en la literatura de varios estudios previos publicados (*Onwudiegwu U y col, 1999; Ndlovu N y col, 2003*).

En cuanto a los estadios FIGO, constatamos un predominio de las fases de evolución avanzadas del cáncer en la muestra de Mozambique, resultado que era de esperar (debido a los criterios de inclusión) ya que como hemos dicho en capítulos anteriores, contrariamente a lo que sucede en España, en Mozambique no se hace, de forma sistemática, testes para el diagnóstico precoz del cáncer uterino.

De igual modo se constató que en la muestra de Mozambique los tumores de grand tamaño son más frecuentes que en España; la invasión profunda del estroma y la infiltración vascular son también cuadros clínicos predominantes en la muestra del Hospital Central de Maputo. Estos datos son sugestivos de que las mujeres en Mozambique buscan los cuidados de salud relativamente tarde en relación a las mujeres en España, de lo que se puede deducir que el sistema de salud en Mozambique es poco eficaz en términos de recursos para el diagnóstico precoz del cáncer del cérvix uterino.

Es obvio que la exposición a factores de riesgo y la calidad de servicios de salud es distinta en los países desarrollados, comparados con lo que existen en los países en desarrollo y eso está condicionado por el nivel socio-económico, agravado por el nivel de educación y factores culturales de las pacientes. La condición socio-económico, cultural y educativa escasa implica mayor exposición al HPV, por dificultades para acceder a los servicios de detección

por falta de recursos; por la escasa educación, por ejemplo, es difícil que la mujer entienda las razones por las que debe acudir a la toma periódica de citología; nivel cultural, puede explicar por ejemplo, el rol pasivo de la mujer, donde el papel de ella en la sociedad es tener hijos, servir al marido y sin posibilidad de tomar decisiones sobre su propia vida. Por todo esto nos parece que la llegada relativamente tardía de las pacientes al hospital en Maputo, así como la ausencia de programas de cribado para el diagnóstico precoz del cáncer, pueden estar en la origen de los problemas antes reportados.

Otro indicador importante de calidad de los servicios prestados en Maputo, es la ausencia de un servicio de oncología con radioterapia, lo que puede haber contribuido para que en Maputo haya más muertes y recidivas, en relación a España.

• EXPRESIÓN DE LAS PROTEINAS ONCOLÓGICAS

p53

El valor pronóstico de la p53 ha sido un tema controvertido en el área de la investigación, con autores considerando que esta proteína es importante para hacer el pronóstico de los casos de cáncer de cérvix y otros negando su importancia. La inmunoreactividad para el p53 es frecuentemente encontrada en diferentes tumores malignos y en algunas lesiones pre-cancerosas en seres humanos (*Bosari S y col, 1993; Vecchione A y col, 1994; (Jeffers MD y col, 1994)*). Estudios realizados con el propósito específico de evaluar su expresión

en los tumores del cérvix, encontraron una alta prevalencia de la p53-inmunoreactiva (*Lakshmi S y col, 1997*).

En este estudio la expresión de la proteína p53 fue baja en la muestra del Hospital Central de Maputo pues no hubo expresión en un 71.1% y de igual modo, fue predominantemente negativa en los casos del Hospital del Mar, donde hubo un 53.2% sin expresión. Es probable que la diferencia encontrada entre ellas sea debida al hecho de que en la mayoría de los casos del Hospital Central de Maputo se encontraba ya en un estadio avanzado del cáncer, dado que, según algunos autores, la expresión de la proteína p53 es mayor en los casos de estadios precoces (*Kurvinen K y col, 1996*) antes de sufrir mutaciones o inactivación.

Aunque en las dos muestras se noten diferencias en las tasas de recidiva y de mortalidad de los casos sin expresión y los casos con expresión de la proteína p53, las diferencias son muy bajas y no son estadísticamente significativas.

De igual modo, la prueba de Kaplan-Meyer en las dos muestras no demostró diferencias significativas en las curvas de supervivencia de las mujeres sin expresión frente a las con expresión positiva de la p53 (Log rank=0.20; p=0.65 en el H. del Mar y Log rank = 2.98; p=0.08 en el H. Central de Maputo).

Estos resultados coinciden con los de otros estudios previos que tampoco encontraron una correlación de estas proteínas con la recidiva y la supervivencia (*Lakshmi S y col, 1997*). Aunque por un lado, el significado

pronóstico de las alteraciones de la p53 no esté completamente claro, por otro lado, permiten predecir el riesgo de malignización de una determinada lesión. Eso se debe al hecho de que la proteína p53 posee una vida-media bastante corta, siendo detectada solamente cuando hay alteraciones conformacionales, llevando a un considerable aumento de su vida-media (*Rodrigo CF y col, 1999*).

Esta falta de correlación entre la expresión de la proteína y el cuadro clínico, puede también ser debida a la distorsión de la expresión de la proteína P53 por el HPV-E5 y E6, pues es sabido que varios estudios muestran evidencias de que la proteína E6 del HPV 16 y 18 interacciona con la proteína del p53, pudiendo inactivarla y de este modo obtener el mismo efecto que con las mutaciones (*Scheffner M y col, 1990; Chen TM y col, 1993; werness BA y col, 1999; Antón M y col, 2000; Tjalma WA y col, 2001*) . En este sentido, si tenemos en cuenta que en ambas muestras más del 90% de los casos son positivos para el HPV, nos parece obvio que en este estudio la expresión de la p53 esté en proporción pequeña, ya que la mayoría de las pacientes son positivas para el HPV.

Varios estudios han investigado la posible correlación entre las mutaciones del p53, el estadio tumoral y las metástasis ganglionares. Aunque el método de detección varió de unos estudios a otros, (secuenciación directa o inmunohistoquímica) los resultados fueron muy similares: no se encontró relación con el estadio tumoral ni con la presencia de metástasis ganglionares (*Hunt CR y col, 1996; Kersemaekers AM y col, 1999*). Estos estudios, junto con otros que detectan mutaciones de p53 en lesiones displásicas adyacentes a

tumores invasivos y en carcinomas in situ, sugieren que las anomalías en la proteína p53 son un fenómeno de aparición temprana en la carcinogénesis del cáncer de cérvix uterino y que no son un epifenómeno de la progresión de la enfermedad. En este estudio no hay registros de ganglios en las mujeres del Hospital Central de Maputo. Las mujeres del Hospital del Mar presentan una distribución de los ganglios que no es proporcional al nivel de expresión de la proteína.

bcl-2

La bcl-2 puede desempeñar un papel importante en el desarrollo del cáncer cervical. Sin embargo, la expresión de la bcl-2 se pierde durante la progresión del tumor. Estudios realizados para evaluar los niveles de expresión de la proteína en lesiones pre-invasivas y en el carcinoma cervical invasivo concluyeron que las alteraciones de esta proteína están asociadas a fases más tempranas de evolución de cáncer cervical (Tjalma WA y col, 1997; Aletra C y col, 2000).

En este estudio, no hubo diferencias significativas entre las curvas de bcl-2 negativas y bcl-2 positivas, respectivamente.

Sin embargo, los cambios en las tasas de incidencia de recidiva al año, son más llamativos en la muestra del hospital del Mar frente al Hospital Central de Maputo, pues la tasa pasa de 0.01 a 0.09, cuando se cambia del grupo sin expresión al grupo con expresión, mientras que en la muestra del HCM reduce de 0.20 en los grupos sin expresión para 0.19 en los grupos con expresión. Estos resultados son

congruentes con la literatura, pues está descrito que las alteraciones de la bcl-2 están asociadas a procesos relativamente tempranos de la carcinogénesis cervical.

Si tenemos en cuenta que la expresión de la bcl-2 suele estar asociada con un comportamiento biológico menos agresivo en los diferentes grados de displasia y en los primeros estadios del carcinoma cervical (*Tjalma WA y col, 1997*), se puede concluir que los resultados de este estudio están en concordancia con algunos estudios previos sobre el tema; cabe mencionar que el 85% de los casos del Hospital del Mar están distribuidos entre los estadios Ia1 y Ib1 en la clasificación de FIGO, es decir, en los niveles precoz (Ia1, Ia2, Ib1) y en las primeras etapas del nivel localmente avanzado (Ib2, IIa).

Sería de esperar una correlación inversa entre la bcl-2 y la p53 (*Grace M y col, 2003*) debido a su mecanismo de acción en la apoptosis, donde actúa de forma opuesta (inhibidora) a la p53 que es inductora de la apoptosis. Sin embargo, este es un tema controvertido y se vuelve aún más discutible cuando se evalúa la correlación entre la oncoproteína bcl-2 y la presencia de HPV, habiendo estudios que no encontraron asociación mientras que otros describen una fuerte asociación con la infección de HPV y sugieren que la infección de riesgo elevado de HPV pueda ser responsable de la sobreexpresión de la p53 y de la bcl-2 en el cáncer cervical aunque los dos son antagónicos en su función. Una de las razones por que la asociación entre el estado de c-erbB-2 y el pronóstico no es unánime en una serie de estudios puede relacionarse con el método utilizado para detectar los niveles de este proto-oncogen.

En nuestro estudio no se encontró correlación entre estas proteínas, tanto en la muestra del Hospital del Mar como en la muestra del Hospital Central de Maputo.

Las tasas de incidencia de recidiva al año, en función de los niveles de expresión de la bcl-2, no son estadísticamente significativas.

En las tasas de mortalidad se observó un aumento en ambas muestras, al pasarse del grupo sin expresión de las proteínas para el grupo con expresión (RR=3.0).en las pacientes del Hospital Central de Maputo de 0.15 para 0.32 (RR=2.1),

Sin embargo las curvas de supervivencia no muestran diferencias significativas tanto en la muestra del H. del Mar (Log-rank=0.52; gl=1 p=0.47) ni en la muestra del H. Central de Maputo (Log rank=3.98 gl=1 p=0.05).

Por lo tanto, este estudio sugiere que la expresión de la bcl-2 no parece útil para preveer las recidivas, pero puede ser un indicador pronóstico para la progresión de la enfermedad en las fases precoces ya que presenta una mayor concentración para después disminuir en las fases avanzadas.

Aunque en este estudio no se encontró, sería de esperar una correlación inversa entre la oncoproteína bcl-2 y la p53, pues se sabe que estas proteínas

tiene efectos antagónicos en el proceso oncogénico; el gen bcl-2 puede contribuir para la oncogénesis al suplir la apoptosis inducida por la p53.

Ki-67

El análisis univariada da mayor proporción de casos con expresión de la Ki-67 en la muestra del Hospital Central de Maputo (73.9%) frente a un 49.9% de expresión positiva en la muestra del Hospital del Mar.

Estos resultados son congruentes con estudios que demostraron una correlación entre los parámetros inmuno-cuantitativos del Ki-67 y la presencia del HPV oncogénico (*Kruse AJ y col, 2001; Bar JK y col, 2001*) así como los que encontraron asociación con el carcinoma invasor de tipo escamoso (*Carrillo C y col, 2003*) que fue predominante en las dos muestras.

El análisis bivariada en este estudio demostró correlación con el tamaño del tumor ($r=0.41$; $p< 0.05$) y con la invasión de la estroma ($r=0.42$; $p=0.003$) en la muestra del Hospital del Mar de Barcelona.

De igual modo en la muestra del Hospital Central de Maputo también se encontró correlación positiva con la invasión del estroma ($r=0.35$; $p< 0.05$). Es un resultado similar al de otros estudios previos que muestran correlación directa de Ki-67 con estas variables clínico-patológicas y otros como el grado histológico y el estado ganglionar (*Graflund M y col, 2004*).

El análisis de Kaplan- Meier no muestra diferencias significativas entre las curvas de supervivencia de los casos con expresión de Ki-67 negativa y las que tienen expresión positiva en la muestra del Hospital del Mar.

Con relación a la muestra del Hospital del Mar se encontraron diferencias significativas entre las curvas de supervivencia (log rank=0.56; p=0.46). Es probable que esta diferencia sea debida al hecho de que los tumores del Hospital Central de Maputo se encontraron en fases de evolución más avanzadas siendo el índice de proliferación de la Ki-67 creciente a medida que el tumor se desarrolla.

Con relación a la supervivencia, los resultados de estudios anteriores son controvertidos; mientras Liu SS y cols, (2001), demostraron asociación positiva entre el bajo índice de la Ki-67 y la mayor supervivencia, Davidson B y col, (2000), no encontró correlación en este sentido.

La correlación positiva que se encontró entre la bcl-2 y la Ki-67 ($r=0.69$; $p<0.001$), puede ser debida al mecanismo de funcionamiento de estas proteínas pues, mientras la bcl-2 inhibe la apoptosis, es decir, impide la muerte celular, la Ki-67 estimula la proliferación celular; por lo tanto sus efectos son sinérgicos

c-erbB-2

Las tasas standardizadas de recidiva y de mortalidad por individuo al año, aunque no son estadísticamente significativas en este estudio, mostraron asociación positiva con la expresión de la proteína c-erbB-2 tanto en la muestra del Hospital del Mar, como en la muestra del Hospital Central de Maputo.

Analizando las curvas de supervivencia correspondientes a las pacientes c-erbB-2 positivas y las c-erbB-2 negativas, respectivamente, se constató diferencias significativas en ambas muestras, es decir, en la muestra del Hospital del Mar (Log rank=5.16; $p<0.05$) y en la muestra del Hospital Central de Maputo (Log-rank=11.44; $p<0.05$). En este sentido, los resultados sugieren que la oncoproteína c-erbB-2 puede dar información pronóstica para la progresión de las pacientes con cáncer de cérvix uterino.

Estos resultados son congruentes con estudios anteriores que detectaron un valor pronóstico de la c-erbB-2 para determinar la recurrencia del cáncer cervical (*Nishioka T y col, 1999*) y el mal pronóstico para la supervivencia de las pacientes (*Kihana T y col, 1994; Oka K y col, 1994; Crisano FD y col, 1996; Nevin J y col, 1999*).

De igual modo, Niibe Y e col, (2003), en estudios más recientes demostraron por técnicas inmunohistoquímicas que el índice de supervivencia a los 5 años de las pacientes con cáncer de cérvix positivas al c-erbB-2 fue de un 28%,

representando un pronóstico más pobre con relación al 52% de pacientes negativas.

Puede ser que el hecho de que la muestra de Hospital Central de Maputo tuviera un considerable número de mujeres con cáncer avanzado haya contribuido a los resultados obtenidos ya que esta proteína es más expresiva en las fases avanzadas de la evolución tumoral frente a la fase precoz, que fue predominante en la muestra del Hospital del Mar.

En lo que concierne a la correlación entre la c-erbB-2 y las variables anatómo-patológicas de las enfermas, se verificó que en la muestra del Hospital del Mar, esta proteína, se correlaciona con todas las variables estudiadas, a excepción de las características histológicas del tumor. En la muestra de Maputo fue más evidente con la infiltración vascular y con la invasión de los parametrios.

Hay entre tanto autores que no encontraron ningún significado pronóstico en la supervivencia de las pacientes en función de la expresión de proteína c-erbB-2 (*Ngan NY y col, 2001; Sharma A y col 1999*).

Por lo tanto, aunque el significado clínico de las alteraciones de la c-erbB-2 es algo controvertido, en este estudio se encontró valor pronóstico importante en ambas muestras, es decir, del H. del Mar de Barcelona y del H. Central de Maputo.

CICLINA-D1

De un modo general no se encontró en las dos muestras de este estudio, asociación entre la expresión de la Ciclina-D1 y las variables anatómo-patológicas estudiadas, es decir, con la infiltración vascular, la invasión del estroma, invasión de los parametrios, el tamaño del tumor, estadios FIGO, tipo histológico ni con los ganglios afectados. Excepto con la invasión de los parametrios en las pacientes del H. Central Maputo ($p = 0.01$)

El análisis de las tasas de incidencia de recidivas no muestra ninguna asociación entre los niveles de expresión de las proteínas y la incidencia de recidivas.

De igual modo, la asociación entre la acumulación de la proteína Ciclina-D1 y la supervivencia de estas pacientes, no fue evidenciada. En este estudio no se encontró diferencias significativas entre las curvas de supervivencia global de las enfermas con células tumorales sin expresión de la Ciclina-D1 y las que tuvieron expresión positiva, en la muestra del Hospital del Mar (Log rank=1.25; $p=0.27$).

En la muestra del Hospital Central de Maputo se encontró diferencia significativa entre las curvas de supervivencia de los dos grupos (expresión negativa y expresión positiva para la Ciclina-D1)

Estos hallazgos, de alguno modo, corroboran resultados de estudios anteriores. Estudios previos para evaluar comparativamente el nivel de expresión de la Ciclina-D1 en tejidos normales, tejidos con lesiones intraepiteliales cervical y con carcinomas de células escamosa, encontraron que la acumulación de esta proteína fue más acentuada en el epitelio normal que en el epitelio neoplásico, sugiriendo que en tejidos asociados con la presencia de HPV, la Ciclina-D1 es inactivada (*Cho NH y col, 1997*).

Southerin SA y col, (1998), también demostraron la ausencia de expresión de Ciclina-D1 en un 87% de un total de 29 casos infectados con HPV de alto riesgo.

En este sentido nos parece que la baja expresión de la Ciclina-D1 esté asociada con la presencia del virus del papiloma humano en cerca de 95.7% en ambas muestras.

Aunque algunos autores defienden que la Ciclina-D1 puede ser un marcador útil para predecir el pronóstico en los estadios precoces del cáncer de cérvix uterino, así como para la recurrencia, los resultados de este estudio, no lo demuestran.

REFERENCIAS

XI. REFERENCIAS

1. **Abercrombie PD, Korn AP.** Lower genital tract neoplasia in women with HIV infection. *Oncology (Huntingt)*. 1998 Dec; 12(12): 1735-9; discussion 1742, 1745, 1747. Review.
2. **ACCP** (Alliance for Cervical Cancer Prevention). Prevención del cáncer cervical en las comunidades de escasos recursos. *Outlook*. 18(1):1-8.
3. **Adelaide J, Monges G, Derderian C, Seitz JF, Birnbaum D.** Oesophageal cancer and amplification of the human cyclin D gene CCND1/PRAD1. *Br J Cancer*. 1995 Jan; 71(1):64-8.
4. **(AETS)** Agencia de Evaluación de Tecnología Sanitaria. Programa de detección de cáncer uterino. Madrid: AETS, Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Sanidad y Consumo, 1996.
5. **Aletra C, Ravazoula P, Scopa C, Kounelis S, Sotiropoulou G, Kourounis G, Ladopoulos I, Bonikos D.** Expression of bcl-2 and bax in cervical intraepithelial neoplasia and invasive squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2000; 21(5):494-8.
6. **Allan H, Mark S, Christina B, Sholom W, Rolando H, Ana CR, Maria Concepcion B, Mark E. S, Ulysses S, Quan-Qiu L, Masonoria T, Ronald L. B, Kenneth B, Raymond J. A, Robert D. B.** Human Papillomavirus Type 16 Variants and Risk of Cervical Cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 2001 Feb; 93 (4):315-318.
7. **Al-Nafussi AI, Klys HS, Rebello G, Kelly C, Kerr G, Cowie V.** The assesmente of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunostaining in the uterine cervix and cervical squamous neoplasia. *Int J Gynecol Cancer*. 2001; 3(3):154-158.
8. **Alonso AR, Fernández SP, Carreró GJ, March JLN.** Multivariate analysis of the recurrence and progression in stage T1 transitional cell bladder carcinoma. Prognostic value of p53 and Ki67. *Acta Urol Esp*. 2003; 27(2):132-141

9. **Alonso-de Ruiz P, Lazcano-Ponce E, Hernández-Avila M.** Cáncer cervico-uterino. Diagnóstico, prevención y control. *Salud Pública de México.* 2000 Nov-Dic; 42(6):554-55.

10. **Altekruse SF, Lacey JV Jr, Brinton LA, Gravitt PE, Silverberg SG, Barnes WA Jr, Greenberg MD, Hadjimichael OC, McGowan L, Mortel R, Schwartz PE, Hildesheim A.** Comparison of human papillomavirus genotypes, sexual, and reproductive risk factors of cervical adenocarcinoma and squamous cell carcinoma: Northeastern United States. *Am J Obstet Gynecol.* 2003; 188:657-663.

11. **Alvarez R.** *Salud Pública y Medicina Preventiva.* Mexico, D.F, Santafé de Bogotá: Editorial El Manual Moderno, S.A. 1998; 317-322.

12. **Ailhaud AP.** Oncogénesis de virus del papiloma humano. Centro de Endoscopia Avanzada y Láser Ginecológico SA de C.V. México.2003. *related:www.ranf.com/pdf/sesiones/ubiquitina.pdf*

13. **Ahdieh L, Munoz A, Vlahov D, Trimble CL, Timpson LA, Shah K.** Cervical neoplasia and repeated positivity of human papillomavirus infection in human immunodeficiency virus-seropositive and -seronegative women. *Am J Epidemiol.* 2000 Jun 15;151(12):1148-57.

13. **Ahdieh L, Gange SJ, Greenblatt R, Minkoff H, Anastos K, Young M, Nowicki M, Kovacs A, Cohen M, Munoz A.** Selection by indication of potent antiretroviral therapy use in a large cohort of women infected with human immunodeficiency virus. *Am J Epidemiol.* 2000 Nov 15; 152(10):923-23.

15. **Amérigo J.** Conceptos generales sobre la nomenclatura y clasificación de los tumores. En: *Manual de Oncología Básica.* Madrid; 1987.

16. **American Cancer Society:** *Manual de Oncología Clínica;* 1996.

17. **Antón M, Horky M, Blaha O.** The role of tumor suppressors and vir oncoproteins in cervical carcinogenesis. *Ceska Gynekol.* 2000 Jul; 65(4):275-8.

18. **Antonio A.N.** Aspectos epidemiológicos do cancer cervical. *Rev. Saúde Pública* vol 25 nº 4 1991.
19. **Anttila T, Saikku P, Koskela P, Bloigu A, Dillner J, Ikaheimo I, Jellum E, Lehtinen M, Lenner P, Hakulinen T, Narvanen A, Pukkala E, Thoresen S, Youngman L, Paavonen J.** Serotypes of Chlamydia trachomatis and risk for development of cervical squamous cell carcinoma. *JAMA*. 2001 Jan 3;285(1):47-51.
20. **Apgar BS, Zoschnick L, Wright TC Jr.** The 2001 Bethesda System terminology. *Am Fam Physician*. 2003 Nov 15;68(10):1992-8.
21. **Arrossi S, Sankaranarayanan R, Parkin DM.** Incidence and mortality of cervical cancer in Latin América. *Salud Publica Mex*. 2003; 45 Suppl 3:S306-14.
22. **Avall-Lundqvist EH, Silfversward C, Aspenblad U, Nilsson BR, Auer GU.** The impact of tumour angiogenesis, p53 overexpression and proliferative activity (MIB-1) on survival in squamous cervical carcinoma. *Eur J Cancer*. 1997 Oct;33(11):1799-804.
23. **Bachtiary B, Obermair A, Dreier B, Birner P, Breitenecker G, Knocke TH, Selzer E, Potter R.** Impact of multiple HPV infection on response to treatment and survival in patients receiving radical radiotherapy for cervical cancer. *Int J Cancer*. 2002 Nov 20; 102(3):237-43.
24. **Bae DS, Cho SB, Kim YJ, Whang JD, Song SY, Park CS, Kim DS, Lee JH.** Aberrant expression of cyclin D1 is associated with poor prognosis in early stage cervical cancer of the uterus. *Gynecol Oncol*. 2001 Jun; 81(3):341-7.
25. **Baldauf JJ, Ritter J.** Comparison of the risks of cytologic surveillance of women with atypical cells or low-grade abnormalities on cervical smear: review of the literature. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1998 Feb; 76(2):193-9.

26. **Baker SJ, Preisinger AC, Jessup JM, Paraskeva C, Markowitz S, Willson JK, Hamilton S, Vogelstein B.** p53 gene mutations occur in combination with 17p allelic deletions as late events in colorectal tumorigenesis. *Cancer Res.* 1990 Dec 1; 50(23):7717-22.
27. **Banuelos P, Reyes M, Monroy G, Weiss B, Gariglio P, Cicata IPN.** Caracterización oncogénica de 4 líneas Mexicanas de cáncer cervical. *Rev Salud Publica y Nutrición.* 2000 Octob nº2.
28. **Bar JK, Harlozinska A, Sedlaczek P, Kasiak J, Markowska J.** Relations between the expression of p53, c-erbB-2, Ki-67 and HPV infection in cervical carcinomas and cervical dysplasias. *Anticancer Res.* 2001 Mar-Apr; 21(2A):1001-6.
29. **Barron BA, Richart RM.** A statistical model of the natural history of cervical carcinoma based on a prospective study of 557 cases. *J Natl. Cancer Inst.* 1968. 41: 1343-53.
30. **Bartkova J, Zemanova M, Bartek J.** Abundance and subcellular localisation of cyclin D3 in human tumours. *Int J Cancer.* 1996 Jan 26; 65(3):323-7.
31. **Bartkova J, Lukas J, Muller H, Strauss M, Gusterson B, Bartek J.** Abnormal patterns of D-type cyclin expression and G1 regulation in human head and neck cancer. *Cancer Res.* 1995 Feb 15; 55(4): 949-56.
32. **Bartkova J, Lukas J, Strauss M, Bartek J.** Cyclin D1 oncoprotein aberrantly accumulates in malignancies of diverse histogenesis. *Oncogene.* 1995 Feb 16; 10(4):775-8.
33. **Becker MT, Wheeler C, McGough N, Stidley C, Parmenter C, Dorin M.** Contraceptive and reproductive risk for cervical dysplasia in Southwestern Hispanic and Non-Hispanic white women. *Int J Epidemiol.* 1994; 23(5):913-21.
34. **Benedet JL, Odicino F, Maisonneuve P, Beller U, Creasman WT, Heintz AP, Ngan HY, Sideri M, Pecorelli S.** Carcinoma of the cervix uteri. *J Epidemiol Biostat.* 2001; 6(1): 7-43.

35. **Beral V, Hermon C, Munoz N, Devesa SS.** Cervical cancer. *Cancer Surv.* 1994; 19-20:265-85.
36. **Berek JS.** Simplification of the new Bethesda 2001 classification system. *Am J Obstet Gynecol.* 2003 Mar; 188(3 Suppl): S2-5; discussion S6-7.
37. **Berek JS, Adashi EI, Hillard PA.** Novak - Tratado de Ginecologia. 12ª edición. Edit. GUANABARA KOOGAN S.A. 1998. pg 787-89.
38. **Bergeron C.** The 2001 Bethesda System. *Salud Publica Mex.* 2003; 45 Suppl 3: S340-4.
39. **Berkhof J, de Bruijne MC, Zielinski GD, Meijer CJ.** Natural history and screening model for high-risk human papillomavirus infection, neoplasia and cervical cancer in the Netherlands. *Int J Cancer.* 2005 Jun 1; 115(2):268-75.
40. **Berrington de Gonzalez A, Sweetland S, Green J.** Comparison of risk factors for squamous cell and adenocarcinomas of the cervix: a meta-analysis. *Br J Cancer.* 2004 May 4; 90(9):1787-91.
41. **Biswas LN, Manna B, Maiti PK, Sengupta. S.** Sexual risk factors for cervical cancer among rural Indian women: a case-control study. *Int J Epidemiol.* 1997 Jun; 26(3):491-5.
42. **Bonfiglio RT, Kurman R.** Histological typing of female genital tract tumors Segunda edición 1994 Berlin, Springer-Verlag.
43. **Bosari S, Roncalli M, Viale G, Bossi P, Cogí G.** P53 immunoreactivity in inflammatory and neoplastic diseases of the uterine cervix. *J Pathol.* 1993, 169: 425-30.

44. **Borrás JM, Iglesias X.** Cribado del cáncer de cuello de útero. *Med Clin (Barc)* 1994; 1:80-4.
45. **Bosch FX, Cardis E.** Cancer incidence correlations: genital, urinary and some tobacco-related cancers. *Int J Cancer.* 1990 Aug; 15; 46(2): 178-84.
46. **Bosch FX, Manos MM, Munoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, Schiffman MH, Moreno V, Kurman R, Shah KV.** Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group. *J Natl Cancer Inst.* 1995 Jun 7; 87(11):796-802.
47. **Bosch FX, Munoz N, de Sanjose S.** Human papillomavirus and other risk factors for cervical cancer. *Biomed Pharmacother.* 1997; 51(6-7):268-75.
48. **Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV.** The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol.* 2002 Apr; 55(4):499:244-65.
49. **Bosch FX, Munoz N.** The viral etiology of cervical cancer. *Virus Res.* 2002 Nov; 89(2):183-90.
50. **Bosch FX, de Sanjose S.** Chapter 1: Human papillomavirus and cervical cancer--burden and assessment of causality. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2003; (31):3-13.
51. **Boulanger JC, Sevestre H, Bauville E, Ghighi C, Harlicot JP, Gondry J.** [Epidemiology of HPV infection]. *Gynecol Obstet Fertil.* 2004 Mar;32(3):218-23.
52. **Boyes DA.** The British Columbia screening program. *Obstet Gynecol Surv.* 1969 Jul; 24(7 Pt 2):1005-11.

53. **Boyes DA, Nichols TM, Millner AM, Worth AJ.** Recent results from the British Columbia screening program for cervical cancer. *Am J Obstet Gynecol.* 1977 Jul 15; 128(6):692-3.
54. **Branca M, Costa S, Mariani L, Sesti F, Agarossi A, di Carlo A, Galati M, Benedetto A, Ciotti M, Giorgi C, Criscuolo A, Valieri M, Favalli C, Paba P, Santini D, Piccione E, Alderisio M, De Nuzzo M, di Bonito L, Syrjanen K.** Assessment of risk factors and human papillomavirus (HPV) related pathogenetic mechanisms of CIN in HIV-positive and HIV-negative women. Study design and baseline data of the HPV-PathogenISS study. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2004; 25(6):689-98.
55. **Brinton LA, Huggins GR, Lehman HF, Mallin K, Savitz DA, Trapido E, Rosenthal J, Hoover R.** Sexual and reproductive risk factors for invasive squamous cell cervical cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1987;79:23-30.
56. **Brinton LA, Reeves WC, Brenes MM, Herrero R, de Britton RC, Gaitan E, Tenorio F, Garcia M, Rawls WE.** Oral contraceptive use and risk of invasive cervical cancer. *Int J Epidemiol.* 1990 Mar; 19(1):4-11.
57. **Brinton LA.** Oral contraceptives and cervical neoplasia. *Contraception.* 1991 Jun; 43(6):581-95.
58. **Brinton LA.** Epidemiology of cervical cancer--overview. *IARC Sci Publ.* 1992; (119):3-23.
59. **Bristow RE, Montz FJ.** Workup of the abnormal Pap test. *Clin Cornerstone.* 2000; 3(1):12-24.
60. **Broders, A.C.** Carcinoma in situ contrasted with benign penetrating epithelium. *J. Am. Med. Assoc.* (1932), 99, 1670.

61. **Broso PR, Buffeti G.** -[George Nicholas Papanicolaou]. *Minerva Ginecol.* 1993 Oct; 45(10): 511-6.
62. **Buckley JD, Harris RW, Doll R, Vessey MP, Williams PT.** Case-control study of the husbands of women with dysplasia or carcinoma of the cervix uteri. *Lancet.* 1981 Nov 7; 2(8254):1010-5.
63. **Burghardt E.** Early histological diagnosis of cervical cancer. *Major Probl Obstet Gynecol.* 1973; 6:1-401.
64. **Burk RD, Terai M, Gravitt PE, Brinton LA, Kurman RJ, Barnes WA, Greenberg MD, Hadjimichael OC, Fu L, McGowan L, Mortel R, Schwartz PE, Hildesheim A.** Distribution of human papillomavirus types 16 and 18 variants in squamous cell carcinomas and adenocarcinomas of the cervix. *Cancer Res.* 2003 Nov 1; 63(21):7215-20.
65. **Burk RD.** Human papillomavirus and the risk of cervical cancer. *Hosp Pract.* 1999 Nov 15; 34(12):103-11.
66. **Cantalapiedra M.** El envejecimiento demográfico en España. *Revista Fuentes Estadísticas SEYDE.* 2002 Set-Oct; 68.
67. **Carrillo A, Rubí S, Lizano M, Garcia-Carrancá A, Vilar D, Sotelo R, Pérez V, Sierra J, Solorza G, Mohar A, Volkow P.** Prevalencia de papilomavirus humano en lesiones cervicales de mujeres infectadas con el virus de inmunodeficiencia adquirida. Inst Nacional de cancerología, San Fernando No.22. Tlalpan, México D.F.
68. **Carrilho C, Gouveia P, Cantel M, Alberto M, Buane L, David L.** Characterization of human papillomavirus infection, P53 and Ki-67 expression in cervix cancer of Mozambican women. *Pathol Res Pract.* 2003; 199(5):303-11.

69. **Castañeda-Iñiguez MS, Toledo-Cisneros R, Aguilera-Delgadillo M.** Risk factors for cervical cancer in women from Zacatecas, Mexico. *Salud Publica Mex.* 1998; 40:330-8.
70. **Cattoretti G, Becker MH, Key G, Duchrow M, Schluter C, Galle J, Gerdes J.** Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB 1 and MIB 3) detect proliferating cells in microwave-processed formalin-fixed paraffin sections. *J Pathol.* 1992 Dec; 168(4):357-63.
71. **Clarke B Chetty, R.** Postmodern cancer: the role of human immunodeficiency virus in uterine cervical cancer. *Mol Pathol.* 2002; Feb; 55(1): 19-24.
72. **Clifford GM, Smith JS, Aguado T, Franceschi S.** Comparison of HPV type distribution in high-grade cervical lesions and cervical cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer.* 2003; 89, 101-5.
73. **Chen MJ, Wu MY, Yang JH, Chao KH, Yang YS, Ho HN.** Increased frequency of genital human papillomavirus infection in human immunodeficiency virus-seropositive Taiwanese women. *J Formos Med Assoc.* 2005 Jan; 104(1):34-8.
74. **Chen T.M.; Chen C.-A.; Hsieh C.-Y.; Chang D.-Y.; Chen Y.-H.; Defendi V.** The state of p53 in primary human cervical carcinomas and its effects in human papillomavirus-immortalized human cervical cells. *Oncogene.* 1993, 8(6):1511-1518.
75. **Cheung TH, Yu MM, Lo KW, Yim SF, Chung TK, Wong YF.** Alteration of cyclin D1 and CDK4 gene in carcinoma of uterine cervix. *Cancer Lett.* 2001 May 26; 166(2):199-206.
76. **Chin-Hong PV, Vittinghoff E, Cranston RD, Buchbinder S, Cohen D, Colfax G, Da Costa M, Darragh T, Hess E, Judson F, Koblin B, Madison M, Palefsky JM.** Age-Specific prevalence of anal human papillomavirus infection in HIV-negative sexually active men who have sex with men: the EXPLORE study. *J Infect Dis.* 2004 Dec 15; 190(12):2070-6. Epub 2004 Nov 10.

77. **Cho NH, Kim YT, Kim JW.** Correlation between G1 cyclins and HPV in the uterine cervix. *Int J Gynecol Pathol.* 1997 Oct; 16(4):339-47.
78. **Cho NH, Kim YT, Kim JW.** Alteration of cell cycle in cervical tumor associated with human papillomavirus: cyclin-dependent kinase inhibitors. *Yonsei Med J.* 2002 Dec; 43(6):722-8.
79. **Chokunonga E, Levy LM, Bassett MT, Mauchaza BG, Thomas DB, Parkin DM.** Cancer incidence in the African population of Harare, Zimbabwe: second results from the cancer registry 1993-1995. *Int J Cancer.* 2000 Jan 1; 85(1):54-9.
80. **Christopherson WM, Mendez WM, Ahuja EM, Lundin FE Jr, Parker JE.** Cervix cancer control in Louisville, Kentucky. *Cancer.* 1970 Jul; 26(1):29-38.
81. **Cirisano FD, Karlan BY.** The role of the HER-2/neu oncogene in gynecologic cancers. *J Soc Gynecol Investig.* 1996 May-Jun; 3(3):99-105.
82. **Coker AL, Rosenberg AJ, McCann MF, Hulka BS.** Active and passive cigarette smoke exposure and cervical intraepithelial neoplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1992 Jul-Aug; 1(5):349-56.
83. **Coker AL, McCann MF, Hulka BS, Walton LA.** Oral contraceptive use and cervical intraepithelial neoplasia. *J Clin Epidemiol.* 1992 Oct; 45(10):1111-8.
84. **Coker AL, Bond SM, Williams A, Gerasimova T, Pirisi L.** Active and passive smoking, high-risk human papillomaviruses and cervical neoplasia. *Cancer Detect Prev.* 2002; 26(2):121-8.
85. **Connie P. Matthews, Katherine A. S, James K.M.** Genomic Changes and HPV Type in Cervical Carcinoma. *Experimental Biology and Medicine.* 2000, 223: 316-321.

86. **Costa MJ, Walls J, Trelford JD.** c-erbB-2 oncoprotein overexpression in uterine cervix carcinoma with glandular differentiation. A frequent event but not an independent prognostic marker because it occurs late in the disease. *Am J Clin Pathol.* 1995 Dec; 104(6):634-42.
87. **Craig RW.** The bcl-2 gene family. *Semin Cancer Biol.* 1995 Feb;6(1):35-43.
88. **Crawford RA, Caldwell C, Iles RK, Lowe D, Shepherd JH, Chard T.** Prognostic significance of the bcl-2 apoptotic family of proteins in primary and recurrent cervical cancer. *Br J Cancer.* 1998 Jul; 78(2):210-4.
89. **Critchlow CW, Kiviat NB.** Old and new issues in cervical cancer control. *J Natl Cancer Inst.* 1999 Feb 3; 91(3):200-1.
90. **Dal Maso L, Serraino D, Franceschi S.** Epidemiology of AIDS-related tumours in developed and developing countries. *Eur J Cancer.* 2001 Jul; 37(10):1188-201.
91. **Dal Maso L, Serraino D, Franceschi S.** Epidemiology of HIV-associated malignancies. *Cancer Treat Res.* 2001; 104:1-18.
92. **Davidson B, Goldberg I, Lerner-Geva L, Gotlieb WH, Ben-Baruch G, Novikov I, Kopolovic J.** Expression of topoisomerase II and Ki-67 in cervical carcinoma-clinicopathological study using immunohistochemistry. *APMIS.* 2000 Mar; 108(3):209-15.
93. **Dellas A, Schultheiss E, Almendral AC, Torhorts J, Gudat TF.** Assesment of Egfr and TGP alpha expression in relationship to VPH status and Ki-67 distribution intraepithelialneoplasm. *Int J Cancer.* 1996; 69(3): 165-166.

94. **Dellas A, Schultheiss E, Oberholzer M, Torhorst J, Gudat F.** Analysis of proliferative activity using Ki-67 on cervical precancerous lesions and the relationship to p53 expression. *Anticancer Res.* 1996 Nov-Dec; 16(6B): 3403-7.
95. **De Sanjose S, Bosch FX, Munoz N, Shah K.** Social differences in sexual behaviour and cervical cancer. *IARC Sci Publ.* 1997; (138):309-17.
96. **De Sanjose S, Valls I, Paz Canadas M, Lloveras B, Quintana MJ, Shah KV, Bosch FX.** [Human papillomavirus and human immunodeficiency virus infections as risk factors for cervix cancer in women prisoners] *Med Clin (Barc).* 2000 Jun 17; 115(3):81-4.
97. **De Sanjose S, Palefsky J.** Cervical and anal HPV infections in HIV positive women and men. *Virus Res.* 2002 Nov; 89(2):201-11.
98. **De Sanjose S, Almirall R, Lloveras B, Font R, Diaz M, Munoz N, Catala I, Meijer CJ, Snijders PJ, Herrero R, Bosch FX.** Cervical human papillomavirus infection in the female population in Barcelona, Spain. *Sex Transm Dis.* 2003 Oct; 30(10):788-93.
99. **Dimitrakakis C, Kymionis G, Diakomanolis E, Papaspyrou I, Rodolakis A, Arzimanoglou I, Leandros E, Michalas S.** The possible role of p53 and bcl-2 expression in cervical carcinomas and their premalignant lesions. *Gynecol Oncol.* 2000 Apr; 77(1):129-36.
100. **Dirección General INSALUD.** Memoria 2000.
101. **DNS (Direcção Nacional de Saúde).** Programa Nacional de Controle das DTS/HIV/SIDA. Grupo técnico. *Relatório de divulgação dos dados das taxas de prevalência do HIV/SIDA em Moçambique-Maputo.* 2001 Setembro.

102. **Dolei A, Curreli S, Marongiu P, Pierangeli A, Gomes E, Bucci M, Serra C, Degener AM.** Human immunodeficiency virus infection in vitro activates naturally integrated human papillomavirus type 18 and induces synthesis of the L1 capsid protein. *J Gen Virol.* 1999 Nov; 80 (Pt 11):2937-44.
103. **Dulce M.A, Hernández H, Teresa A.G, Isabel A.C, Alejandro G.C, Miriam C, Guido J, José Luis G.S, Fernando C.T, Olga A.M, Laura O.B, Sergio M.** Virus de papiloma humano de alto riesgo (VPH-ar) y Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC) en mujeres de dos hospitales de la ciudad de México. *Rev Invest Clín.* 2002; Vol. 54(4):299-306.
104. **ECCCE** (European Consortium for cervical cancer education). Prevención de cáncer de cérvix. Set. 2004. www.ecce-cervical-cancer.org
105. **Editorial Commite of Acta Cytol.** The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologyc Diagnoses. *Acta Cytol.* 37:115. 1993.
106. **Ellerbrock TV, Chiasson MA, Bush TJ, Sun XW, Sawo D, Brudney K, Wright TC Jr.** Incidence of cervical squamous intraepithelial lesions in HIV-infected women. *JAMA.* 2000 Feb 23; 283(8):1031-7.
107. **Einstein MH, Kadish AS.** Anogenital neoplasia in AIDS. *Curr Opin Oncol.* 2004 Sep; 16(5):455-62.
108. **Eliane Duarte-Franco and Eduardo L Franco.** Cancer of the Uterine Cervix. *BMC Women's Health.* 2004, 4(Suppl 1):S13 doi:10.1186/1472-6874-4-S1-S13
109. **Erik CT, Shannon L.M, David H.P, Gobinda S, Renee M.M, Bobbie S.G, David I.S.** Human papillomavirus type 16 integrations in cervical tumours frequently occur in common fragile sites. *Cancer Research.* 60, Nov 2000; 5916-5921.

110. **Ewing J.** Oncologia. Barcelona: Salvat; 1948. Historia: p.I-9.
111. **Fagundes, H., Perez, C.A., Grigsby, P.W., & Lockett, M.A.** Distant metastases after irradiation alone in carcinoma of the uterine cervix. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1992, 24, 197-204.
112. **Ferenczy A, Coutlee F, Franco E, Hankins C.** Human papillomavirus and HIV coinfection and the risk of neoplasias of the lower genital tract: a review of recent developments. *CMAJ.* 2003 Sep 2; 169(5): 431-4.
113. **Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. GLOBOCAN 2000:** Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide, version 1,0. *IARC Cancer Base* No. 5. Lyon: IARC press. 2001. *WWW.prb.org*
114. **Fidda N, Miron J, Rodgers WH, Rader A.** Impact of the new Bethesda System 2001 on specimen adequacy of conventional cervicovaginal smears. *Diagn Cytopathol.* 2004 Apr; 30(4):235-9.
115. **Franceschi S, Dal Maso L, Arniani S, Crosignani P, Vercelli M, Simonato L, Falcini F, Zanetti R, Barchielli A, Serraino D, Rezza G.** Risk of cancer other than Kaposi's sarcoma and non-Hodgkin's lymphoma in persons with AIDS in Italy. Cancer and AIDS Registry Linkage Study. *Br J Cancer.* 1998 Oct; 78(7):966-70.
116. **Franceschi S, Herrero R, La Vecchia C.** Cervical cancer screening in Europe. What next? *Eur J Cancer.* 2000 Nov; 36(17):2272-5.
117. **Franceschi S.** The IARC commitment to cancer prevention: the example of papillomavirus and cervical cancer. Recent Results. *Cancer Res.* 2005; 166:277-97.

118. **French AL, Kirstein LM, Massad LS, Semba RD, Minkoff H, Landesman S, Palefsky J, Young M, Anastos K, Cohen MH.** Association of vitamin A deficiency with cervical squamous intraepithelial lesions in human immunodeficiency virus-infected women. *J Infect Dis.* 2000 Oct; 182(4):1084-9. Epub 2000 Sep 1.
119. **Frias MM, Mohar BA, SÚchil BL, Ibarra RM, Ramírez GJ.** Factores de riesgo asociados a cáncer cervicouterino: Un estudio de casos y controles. *Cancerología.* 1999; 45:209-16.
120. **Frisch M, Biggar RJ, Goedert JJ.** Human papillomavirus-associated cancers in patients with human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome. *J Natl Cancer Inst.* 2000 Sep 20; 92(18):1500-10.
121. **Frisch M, Smith E, Grulich A, Johansen C.** Cancer in a population-based cohort of men and women in registered homosexual partnerships. *Am J Epidemiol.* 2003 Jun 1; 157(11):966-72.
122. **Gage JR, Sandhu AK, Nihira M, et al.** Effects of human papillomavirus-associated cells on human immunodeficiency virus gene expression. *Obstet Gynecol.* 2000; 96:879–85.
123. **Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H.** Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer.* 1983 Jan 15; 31(1):13-20.
124. **Gichangi P, De Vuyst H, Estambale B, Rogo K, Bwayo J, Temmerman M.** HIV and cervical cancer in Kenya. *Int J Gynaecol Obstet.* 2002 Jan; 76(1):55-63.
125. **Giménez JA, Moncasi PS, Torres JA, Horndler C, Marcilla EU.** Evaluación de dispositivos automatizados para diagnóstico citológico en la prevención del cáncer de cérvix. *Rev Esp Patol.* 2002; 35(3) – artículo en PDF.

126. **Gimeno O.A, Jiménez R.R, Campos P.B.** Cáncer de cuello uterino en Extremadura. *Rev Esp Hig y Salud Pú* 1993; 67:217-25.
127. **Goldstone S.** Anal dysplasia in men who have sex with men. *AIDS Read.* 1999 May-Jun; 9(3):204-8, 220.
128. **Goodman A.** Role o rutine human papillomavirus subtyping in cervical screning. *Obstet Gynecol.* 2000; 12:11-14.
129. **González MJ, González BJ, González BJ.** Ginecología. 8ª Edición MASSON, S.A 2003, pag 411-463.
130. **Gorey KM, Holowaty EJ, Fehringer G.** An international comparison of cancer survival: Toronto, Ontario and Detroit, Michigan, metropolitan areas. *Am J Public Health.* 1997; 87: 1156-63.
131. **Grace VM, Shalini JV, Iekha TT, Devaraj SN, Devaraj H.** Co-overexpression of p53 and bcl-2 proteins in HPV-induced squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Gynecol Oncol.* 2003 Oct; 91(1):51-8.
132. **Graflund M, Sorbe B, Sigurdardottir S, Karlsson MG.** Relation between HPV-DNA and expression of p53, bcl-2, p21WAF-1, MIB-1, HER-2/neu and DNA ploidy in early cervical carcinoma: correlation with clinical outcome. *Oncol Rep.* 2004 Jul; 12(1): 169-76.
133. **Greenberg ER, Vessey M, McPherson K, Yeates D.** Cigarette smoking and cancer of the uterine cervix. *Br J Cancer.* 1985 Jan; 51(1):139-41.
134. **Greenblatt MS, Bennett WP, Hollstein M, Harris CC.** Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. *Cancer Res.* 1994 Sep 15; 54(18):4855-78.
135. **Grimes DA.** Over-the-counter oral contraceptives: an idea whose time has not quite come! *Obstet Gynecol Surv.* 1995 Jun; 50(6):411-2.

136. **Grimes DA, Economy KE.** Primary prevention of gynecologic cancers. *Am J Obstet Gynecol.* 1995 Jan; 172(1 Pt 1):227-35.
137. **Grimes DA.** Emergency contraception--expanding opportunities for primary prevention. *N Engl J Med.* 1997 Oct 9; 337 (15):1078-9.
138. **Gustafsson L, Ponten J, Zack M, Adami HO.** International incidence rates of invasive cervical cancer after introduction of cytological screening. *Cancer Causes Control.* 1997 Sep;8(5):755-63.
139. **Hall P, Levinson DA, Woods AL, Yu CC, Kellock DB, Watkins JA.** Rapid communication proliferating cell nuclear antigen (PCNA). Immunolocalization in paraffin sections: An index of cell proliferation with evidence of deregulate expression in some neoplasms. *Pathology* 1990; 162: 185-194.
140. **Hakama M, Luostarinen T, Hallmans G, Jellum E, Koskela P, Lehtinen M, Thoresen S, Youngman L, Hakulinen T.** Joint effect of HPV16 with Chlamydia trachomatis and smoking on risk of cervical cancer: antagonism or misclassification (Nordic countries). *Cancer Causes Control.* 2000 Oct; 11(9):783-90.
141. **Hammond ME, Fitzgibbons PL, Compton CC, Grignon DJ, Page DL, Fielding LP, Bostwick D, Pajak TF.** College of American Pathologists Conference XXXV: solid tumor prognostic factors-which, how and so what? Summary document and recommendations for implementation. Cancer Committee and Conference Participants. *Arch Pathol Lab Med.* 2000 Jul; 124(7):958-65.
142. **Harris CC & Hollstein M.** Clinical implications of the p53 tumor suppressor gene. *N Eng J Med.* 1993, 329: 1318-1326.
143. **Hart KW, Williams OM, Thelwell N, Fiander AN, Brown T, Borysiewicz LK, Gelder CM.** Novel method for detection, typing, and quantification of human papillomaviruses in clinical samples. *J Clin Microbiol.* 2001 Sep; 39(9):3204-12.

144. **Heatley MK.** What is the value of proliferation markers in the normal and neoplastic cervix? *Histol Histopathol.* 1998 Jan; 13(1):249-54.
145. **He D, Huang S, Zhang C.** [Correlation between human papillomavirus type and grading of cervical intraepithelial neoplasia]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.* 1998 Jun; 27(3): 202-5.
146. **Herbsleb M, Knudsen UB, Orntoft TF, Bichel P, Norrild B, Knudsen A, Mogensen O.** Telomerase activity, MIB-1, PCNA, HPV 16 and p53 as diagnostic markers for cervical intraepithelial neoplasia. *APMIS.* 2001 Sep; 109(9):607-17.
147. **Hernandez-Avila M, Lazcano-Ponce EC, Berumen-Campos J, Cruz-Valdez A, Alonso de Ruiz PP, Gonzalez-Lira G.** Human Papilloma Virus 16-18 infection and cervical cancer in Mexico: a case-control study. *Arch Med Res.* 1997 Summer; 28(2):265-71.
148. **Hidalgo A, Monroy A, Arana R, Taja L, Vázquez G, Salcedo M.** Chromosomal imbalances in four new uterine cervi carcinoma derived cell lines. *BMC Cancer.* March 2003 3(1): 8.
149. **Hildesheim A, Brinton LA, Mallin K, Lehman HF, Stolley P, Savitz DA, Levine R.** Barrier and spermicidal contraceptive methods and risk of invasive cervical cancer. *Epidemiology.* 1990 Jul; 1(4):266-72.
150. **Ho GF, Burk RD, Klein S, Kadish AS, Chang CJ, Palan P, Basu J, Tachezy R, Lewis R, Romney S.** Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia. *J Natl Cancer Inst.* 87: 1365-1371, 1995.
151. **Holly EA, Petrakis NL, Friend NF, Sarles DL, Lee RE, Flander LB.** Mutagenic mucus in the cervix of smokers. *J Natl Cancer Inst.* 1986 Jun; 76(6):983-6.

152. **Holmes KK, Levine R, Weaver M.** Effectiveness of condoms in preventing sexually transmitted infections. *Bull World Health Organ.* 2004 Jun; 82(6):454-61.
153. **Holowaty P, Miller AB, Rohan T, To T.** RESPONSE: re: natural history of dysplasia of the uterine cervix. *J Natl Cancer Inst.* 1999 Aug 18; 91(16):1420-1421.
154. **Hopkins PM, Smith OH.** Adenocarcinoma of the cervix. In: Gershenson DM, et al. Editors. *Gynecologic cancer. Controversies in management.* Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone. 2004; 149-50.
155. **Horta MF; Young JDE.** APOPTOSE- quando a célula programa a própria morte. *Ciência hoje.* 1999; 150 (25).
156. **Hunt CR, Hale RJ, Buckley CH, Hunt J.** p53 expression in carcinoma of the cervix. *J Clin Pathol.* 1996 Dec; 49(12):971-4.
157. **IARC.** Cáncer de cervix uterino. Copyright 2005, International Agency for Research on Cancer.
158. **IARC.** (International Agency for Research on Cancer), 1996. Working group on the evaluation of carcinogenic risk to humans. Human Immunodeficiency Viruses and Human T-Cell Lymphotropic Viruses. *IARC Monographs*, vol. 66, Lyon, 1996.
159. **IARC.** Human papillomaviruses. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. *IARC Sci. Publ.*, 1995; 64: 35-260.
160. **Ijaiya MA, Aboyeji PA, Buhari MO.** Cancer of the cervix in Ilorin, Nigeria. *West Afr J Med.* 2004 Oct-Dec; 23(4):319-22.
161. **IDH** (Índice de Desarrollo Humano). Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. 2002. www.idescat.es

162. **INE** (Instituto Nacional de Estadística). Población. Características generales. Comunidades/Provincias de España. Base de datos INEbase. 2002. www.ine.es
163. **INE** (Instituto Nacional de Estadística). Anuário estadístico de Mozambique. 1997. Maputo. www.ine.gov.mz.
164. **Insinga RP, Glass AG, Rush BB.** Diagnoses and outcomes in cervical cancer screening: a population-based study. *Am J Obstet Gynecol.* 2004 Jul; 191(1):105-13.
165. **International Collaboration on HIV and Cancer, 2000.** Highly active antiretroviral therapy and incidence of cancer in human immunodeficiency virus-infected adults. *J Natl. Cancer Inst.* 92, 1823–1830.
166. **Irwin KL, Rosero-Bixby L, Oberle MW, Lee NC, Whatley AS, Fortney JA, Bonhomme MG.** Oral contraceptives and cervical cancer risk in Costa Rica. Detection bias or causal association? *JAMA.* 1988 Jan 1; 259(1):59-64.
167. **Isla Valeria.** El cancer que no debe matar. *Agenda Salud.* 2002, nº 25. Isis Internacional.
168. **Ivonte S. G. Kowalski¹, Clarilza P. de Sousa.** A disease with historically constructed representations. *Cancer.* Jun 2003.
169. **Jian Yu, Lin Zhang, Paul M. Hwang, Carlo Rago, Kenneth W. Kinzler, Bert Vogelstein.** Identification and classification of p53-regulated genes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999 December 7; 96 (25): 14517- 14522.
170. **Jeffers MD, Richmond J, Farquharson M, McNicol AM.** p53 immunoreactivity in cervical intraepithelial neoplasia and non-neoplastic cervical squamous epithelium. *J Clin Pathol.* 1994 Dec; 47(12): 1073-6.

171. **José AGM, Pilar SM, Jorge AT, Carlos H, Eduardo UM.** Evaluación de dispositivos automatizados para diagnóstico citológico en la prevención del cancer de cérvix. *Patología*. 2002 vol.35, nº3.
172. **Jung WW, Chun T, Sul D, Hwang KW, Kang HS, Lee DJ, Han IK.** Strategies against human papillomavirus infection and cervical cancer. *J Microbiol*. 2004 Dec; 42(4):255-66.
173. **Kaidanek TV, Efimov GE, Shliakhtenko LI, Kondrat'eva KF, Vorob'ev AS, Ruchkin VN.** [Epidemiologic indices of cervical cancer morbidity in areas with various levels of industrial pollution]. *Vopr Onkol*. 2004; 50(6):720-2.
174. **Kamoi S, Ohaki Y, Okada S, Matsushita N, Kawamura T, Araki T.** Mitotic index and ki-67 nuclear antigen labeling index as predictors of chemotherapy response in uterine cervical carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2001 Dec; 83(3):555-9.
175. **Kato J, Matsushime H, Hiebert SW, Ewen ME, Sherr CJ.** Direct binding of cyclin D to the retinoblastoma gene product (pRb) and pRb phosphorylation by the cyclin D-dependent kinase CDK4. *Genes Dev*. 1993 Mar; 7(3):331-42.
176. **Kauraniemi T.** Gynecological health screening by means of questionnaire and cytology. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1969; Suppl 4:1-224.
177. **Keating JT, Cviko A, Riethdorf S, Riethdorf L, Quade BJ, Sun D, Duensing S, Sheets EE, Munger K, Crum CP.** Ki-67, cyclin E, and p16INK4 are complimentary surrogate biomarkers for human papilloma virus-related cervical neoplasia. *Am J Surg Pathol*. 2001 Jul; 25(7):884-91.
178. **Kern G.** Preinvasive Carcinoma of the Cervix. Theory and Practice. Translated by Ralph M Wynn. *Springer-Verlag*; Berlim Heidelberg New York 1968; pag 1-2.
179. **Kersemaekers AM, Fleuren GJ, Kenter GG, Van den Broek LJ, Uljee SM, Hermans J, Van de Vijver MJ.** Oncogene alterations in carcinomas of the uterine cervix: overexpression of the epidermal growth factor receptor is associated with poor prognosis. *Clin Cancer Res*. 1999 Mar; 5(3):577-86.

180. **Kessler II.** Venereal factors in human cervical cancer: evidence from marital clusters. *Cancer*. 1977 Apr; 39(4 Suppl):1912-9.
181. **Kihana T, Tsuda H, Teshima S, Nomoto K, Tsugane S, Sonoda T, Matsuura S, Hirohashi S.** Prognostic significance of the overexpression of c-erbB-2 protein in adenocarcinoma of the uterine cervix. *Cancer*. 1994 Jan 1; 73(1):148-53.
182. **Kim YT, Cho NH, Park SW, Kim JW.** Underexpression of cyclin-dependent kinase (CDK) inhibitors in cervical carcinoma. *Gynecol Oncol*. 1998 Oct; 71(1):38-45.
183. **Kim JW, Kim YT, Kim DK.** Correlation between EGFR and c-erbB-2 oncoprotein status and response to neoadjuvant chemotherapy in cervical carcinoma. *Yonsei Med J*. 1999 Jun; 40(3):207-14.
184. **Kirsch D.G.; Kastan M.B.** Tumor-suppressor p53: implications for tumor development and prognosis. *Journal of Clinical Oncology*. Volume 16, Issue 9, 1998, Pages 3158- 3168.
185. **Kjaer SK, van den Brule AJ, Paull G, Svare EI, Sherman ME, Thomsen BL, Suntum M, Bock JE, Poll PA, Meijer CJ.** 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 Sep 14; 325(7364):572.
186. **Kjellberg L, Hallmans G, Ahren AM, Johansson R, Bergman F, Wadell G, Angstrom T, Dillner J.** Smoking, diet, pregnancy and oral contraceptive use as risk factors for cervical intra-epithelial neoplasia in relation to human papillomavirus infection. *Br J Cancer*. 2000 Apr; 82(7): 1332-8.
187. **Klencke BJ, Palefsky JM.** Anal cancer: an HIV-associated cancer. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2003 Jun; 17(3):859-72.

188. **Koprowska I.** Concurrent discoveries of the value of vaginal smears for diagnosis of uterine cancer. *Diagn Cytopathol.* 1985 Jul-Sep; 1(3): 245-8.
189. **Koskela P, Anttila T, Bjorge T, Brunsvig A, Dillner J, Hakama M, Hakulinen T, Jellum E, Lehtinen M, Lenner P, Luostarinen T, Pukkala E, Saikku P, Thoresen S, Youngman L, Paavonen J.** Chlamydia trachomatis infection as a risk factor for invasive cervical cancer. *Int J Cancer.* 2000 Jan 1; 85(1):35-9.
190. **Koulibaly M, Kabba IS, Cisse A, Diallo SB, Diallo MB, Keita N, Camara ND, Diallo MS, Sylla BS, Parkin DM.** Cancer incidence in Conakry, Guinea: first results from the Cancer Registry 1992-1995. *Int J Cancer.* 1997 Jan 6; 70(1):39-45.
191. **Koutsky L.** Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Am J Med.* 1997 May 5; 102(5A):3-8.
192. **Kruse AJ, Baak JP, de Bruin PC, Jiwa M, Snijders WP, Boodt PJ, Fons G, Houben PW, The HS.** Ki-67 immunoquantitation in cervical intraepithelial neoplasia (CIN): a sensitive marker for grading. *J Pathol.* 2001. Jan; 193(1):48-54.
193. **Kruse AJ, Baak JP, de Bruin PC, van de Goot FR, Kurten N.** Relationship between the presence of oncogenic HPV DNA assessed by polymerase chain reaction and Ki-67 immunoquantitative features in cervical intraepithelial neoplasia. *J Pathol.* 2001. Dec; 195(5):557-62.
194. **Kruse AJ, Baak JP, Janssen EA, Bol MG, Kjellevoid KH, Fianne B, Lovslett K, Bergh J.** Low- and high-risk CIN 1 and 2 lesions: prospective predictive value of grade, HPV, and Ki-67 immuno-quantitative variables. *J Pathol.* 2003 Apr; 199(4):462-70.
195. **Kurman RJ, Malkasian GD Jr, Sedlis A, Solomon D.** From Papanicolaou to Bethesda: the rationale for a new cervical cytologic classification. *Obstet Gynecol.* 1991 May; 77(5):779-82.

196. **Kurvinen K, Syrjanen K, Syrjanen S.** p53 and bcl-2 proteins as prognostic markers in human papillomavirus-associated cervical lesions. *J Clin Oncol.* 1996 Jul;14(7):2120-30
197. **Kurzrock R, Ku S, Talpaz M.** Abnormalities in the PRAD1 (CYCLIN D1/BCL-1) oncogene are frequent in cervical and vulvar squamous cell carcinoma cell lines. *Cancer.* 1995 Jan 15; 75(2):584-90.
198. **Laara E, Day NE, Hakama M.** Trends in mortality from cervical cancer in the Nordic countries: association with organised screening programmes. *Lancet.* 1987 May 30; 1(8544): 1247-9.
199. **Lakshmi S, Nair MB, Jayaprakash PG, Rajalekshmy TN, Nair MK, Pillai MR.** P53 protein and tumorigenesis in the uterine cervix. *General and Diagnostic Pathology.* 1997. 142(5-6):281-87.
200. **Lancaster EJ, Banach L, Lekalakala T, Mandiwana I.** Carcinoma of the uterine cervix: results of Ka-Ngwane screening programme and comparison between the results obtained from urban and other unscreened rural communities. *East Afr Med J.* 1999 Feb; 76(2): 101-4.
201. **La Ruche G, You B, Mensah-Ado I, Bergeron C, Montcho C, Ramon R, Toure-Coulibaly K, Welffens-Ekra C, Dabis F, Orth G.** Human papillomavirus and human immunodeficiency virus infections: relation with cervical dysplasia-neoplasia in African women. *Int J Cancer.* 1998 May 18; 76(4):480-6.
202. **La Ruche G, Ramon R, Mensah-Ado I, Bergeron C, Diomande M, Sylla-Koko F, Ehouman A, Toure-Coulibaly K, Welffens-Ekra C, Dabis F.** Squamous intraepithelial lesions of the cervix, invasive cervical carcinoma, and immunosuppression induced by human immunodeficiency virus in Africa. Dyscer-CI Group. *Cancer.* 1998 Jun 15; 82(12):2401-8.
203. **La Ruche G, You B, Leroy V, Welffens-Ekra C, Dabis F.** Correspondence re: J. S. Mandelblatt et al., Is HIV infection a cofactor for cervical squamous cell neoplasia? *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*, 8: 97-106, 1999. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1999 Aug, 8(8): 729-30.

204. **Launay O, Guillevin L.** [Epidemiology of HIV-associated malignancies]. *Bull Cancer*. 2003 May; 90(5):387-92.
205. **Lazcano-Ponce E, Herrero R, Munoz N, Hernandez-Avila M, Salmeron J, Leyva A, Meijer CJ, Walboomers JM.** High prevalence of human papillomavirus infection in Mexican males: comparative study of penile-urethral swabs and urine samples. *Sex Transm Dis*. 2001 May; 28(5):277-80.
206. **Ledger Wj, Jeremias J, Witkin SS.** Testing for high-risk human papillomavirus types will become a standard of clinical care. *Am J Obstet Gynecol*. 2000; 182:860-865.
207. **Lee JS, Kim HS, Jung JJ, Lee MC, Park CS.** Expression of vascular endothelial growth factor in adenocarcinomas of the uterine cervix and its relation to angiogenesis and p53 and c-erbB-2 protein expression. *Gynecol Oncol*. 2002 Jun; 85(3): 469-75.
208. **Levi JE, Kleter B, Quint WG, Fink MC, Canto CL, Matsubara R, Linhares I, Segurado A, Vanderborght B, Neto JE, Van Doorn LJ.** High prevalence of human papillomavirus (HPV) infections and high frequency of multiple HPV genotypes in human immunodeficiency virus-infected women in Brazil. *J Clin Microbiol*. 2002 Sep; 40(9): 3341-5.
209. **Lewis C. Scheffey,; Dr. Karl A. Bolten and Warren R. Lang.** "Colposcopy: Aid in diagnosis of cervical cancer". *Obstetrics and Gynecology*; vol 5, n3, March 1955.
210. **Lewis MJ.** Análisis de la situación del cancer cervicouterino en América Latina y el caribe. *Organización Panamericana de la Salud (OPS)*, 2004.
211. **Lera JM, Napal C, Delgado MG, García GL, Abascal L, Vicente F.** Detección de mutaciones en el gen p53 en el cancer de mama familiar y esporádico en la población Navarra. *ANALES Sis San Navarra*. 1997, 20(Supl.3):39-43.

212. **Leroy V, Ladner J, De Clercq A, Meheus A, Nyiraziraje M, Karita E, Dabis F.** Cervical dysplasia and HIV type 1 infection in African pregnant women: a cross sectional study, Kigali, Rwanda. The Pregnancy and HIV Study Group (EGE). *Sex Transm Infect.* 1999 Apr, 75(2):103-6.
213. **Liu SS, Tsang BK, Cheung AN, Xue WC, Cheng DK, Ng TY, Wong LC, Ngan HY.** Anti-apoptotic proteins, apoptotic and proliferative parameters and their prognostic significance in cervical carcinoma. *Eur J Cancer.* 2001 Jun;37(9):1104-10.
214. **Ljuca D, Fatusic Z, Mujagic H, Ljuca F, Alispahic N.** [Precarcinoma and early carcinomatous lesions in the uterine cervix and the use of oral contraceptives]. *Med Arh.* 2000; 54(2):71-3.
215. **Lobatón Torres A, Rojo Herrera G, Torres Rojo A, Hurtado Estrada G, Roman Bassaure E.** [Cervical cancer. Current view of its epidemiology and risk factors]. *Ginecol Obstet Mex.* 2004 Sep; 72:466-74.
216. **Lo Muzio L, Mignogna MD, Pannone G, Rubini C, Grassi R, Nocini PF, Ferrari F, Serpico R, Favia G, De Rosa G, Maiorano E.** Expression of bcl-2 in oral squamous cell carcinoma: an immunohistochemical study of 90 cases with clinico-pathological correlations. *Oncol Rep.* 2003 Mar-Apr; 10(2):285-91.
217. **Luque AE, Demeter LM, Reichman RC.** Association of human papillomavirus infection and disease with magnitude of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) RNA plasma level among women with HIV-1 infection. *J Infect Dis* 1999; 179:1405-9.
218. **Luque EH, Munoz de Toro M, Hammond ME, Fitzgibbons PL, Compton CC, Grignon DJ, Page DL, Fielding LP, Bostwick D, Pajak TF.** College of American Pathologists Conference XXXV: solid tumor prognostic factors-which, how and so what? Summary document and recommendations for implementation. Cancer Committee and Conference Participants. *Arch Pathol Lab Med.* 2000 Jul; 124(7):958-65.

219. **Madeleine MM, Shera K, Schwartz SM, Daling JR, Galloway DA, Wipf GC, Carter JJ, McKnight B, McDougall JK.** The p53 Arg72Pro polymorphism, human papillomavirus, and invasive squamous cell cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2000 Feb; 9(2):225-7.
220. **Mandelblatt JS, Kanetsky P, Eggert L, Gold K.** Is HIV infection a cofactor for cervical squamous cell neoplasia? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1999 Jan; 8(1):97-106.
221. **Manjarrez ME, Rosete DP, Rincon M, Villalba J, Cravioto A, Cabrera R.** Comparative viral frequency in Mexican children under 5 years of age with and without upper respiratory symptoms. *J Med Microbiol.* 2003 Jul; 52(Pt 7):579-83.
222. **Mansour EG, Ravdin PM, Dressler L.** Prognostic factors in early breast carcinoma. *Cancer.* 1994 Jul 1; 74(1 Suppl):381-400.
223. **Mark HF, Feldman D, Das S, Sun CL, Samy M, Lathrop J.** HER-2/neu oncogene amplification in cervical cancer studied by fluorescent in situ hybridization. *Genet Test.* 1999; 3(2):237-42.
224. **Martin J, Mínguez JA, Otero JA.** Detección precoz del cancer de cuello de útero. *FMC* 1995; 2:249-56.
225. **Martinez JF, Antó JM, Castellanos PL, Gili M, Maset P, Navarro V.** Salud Pública. Madrid. McGraw- Hill- Interamericana de España, S.A.U; 1998. p591-611.
226. **Massad LS, Riester KA, Anastos KM, Fruchter RG, Palefsky JM, Burk RD, Burns D, Greenblatt RM, Muderspach LI, Miotti P.** Prevalence and predictors of squamous cell abnormalities in Papanicolaou smears from women infected with HIV-1. Women's Interagency HIV Study Group. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 1999 May 1; 21(1):33-41.

227. **Massad LS, Evans CT, Minkoff H, Watts DH, Strickler HD, Darragh T, Levine A, Anastos K, Moxley M, Passaro DJ.** Natural history of grade 1 cervical intraepithelial neoplasia in women with human immunodeficiency virus. *Obstet Gynecol.* 2004 Nov; 104(5 Pt 1):1077-85.
228. **Massad LS, Schneider MF, Watts DH, Strickler HD, Melnick S, Palefsky J, Anastos K, Levine AM, Minkoff H.** HPV testing for triage of HIV-infected women with papanicolaou smears read as atypical squamous cells of uncertain significance. *J Womens Health (Larchmt).* 2004 Mar; 13(2):147-53.
229. **Matsushime H, Ewen ME, Strom DK, Kato JY, Hanks SK, Roussel MF, Sherr CJ.** Identification and properties of an atypical catalytic subunit (p34PSK-J3/cdk4) for mammalian D type G1 cyclins. *Cell.* 1992 Oct 16; 71(2):323-34.
230. **Matsushime H, Roussel MF, Ashmun RA, Ser CJ.** Colony-stimulating factor 1 regulates novel cyclins during the G1 phase of the cell cycle. *Cell.* 1991; 65:701.
231. **Mayaud P, Weiss HA, Lacey CJ, Gill DK, Mabey DC.** Genital human papillomavirus genotypes in northwestern Tanzania. *J Clin Microbiol.* 2003 Sep; 41(9):4451-3.
232. **McPartland TS, Weaver BA, Lee SK, Koutsky LA.** Men's perceptions and knowledge of human papillomavirus (HPV) infection and cervical cancer. *J Am Coll Health.* 2005 Mar-Apr; 53(5):225-30.
233. **Meijer CJ, Snijders PJ, van den Brule AJ.** Screening for cervical cancer: should we test for infection with high-risk HPV? *CMAJ.* 2000 Sep 5; 163(5):535-8.
234. **Melbye M, Svare EI, Kjaer SK, Frisch M.** [Human papillomavirus and the risk of anogenital cancer]. *Ugeskr Laeger.* 2002 Dec 9; 164(50):5950-3.

235. **Meisels A, Fortin R.** Condylomatous lesions of the cervix and vagina. I. Cytologic patterns. *Acta Cytol.* 1976 Nov-Dec; 20(6):505-9.
236. **Meisels A, Fortin R.** Condylomatous lesions of the cervix and vagina. I. Cytologic patterns. *Acta Cytol.* 1977 May-Jun; 21(3):379-90.
237. **Meri T, Jokiranta TS, Suhonen L, Meri S.** Resistance of trichomonas vaginalis to metronidazole: report of the first three cases from Finland and optimization of in vitro susceptibility testing under various oxygen concentrations. *J Clin Microbiol.* 2000 Feb; 38(2):763-7.
238. **Mindel A, Tideman R.** HPV transmission--still feeling the way. *Lancet.* 1999 Dec 18-25; 354(9196):2097-8.
239. **Ministerio de Sanidad y Consumo. Instituto Nacional de la Salud:** «Plan integral de la atención a la mujer». Madrid, 1998. www.madrimasd.org/www.msc.es/sida/
240. **MISAU – Direccção Nacional de saúde.** Dep. Epidemiologia: Epidemiologia e controle das doenças de transmissão sexual. Relatório Anual, 1999. Maputo. www.policyproject.com
241. **Mirhashemi R, Ganjei-Azar P, Nadji M, Lambrou N, Atamdede F, Averette HE.** Papillary squamous cell carcinoma of the uterine cervix: an immunophenotypic appraisal of 12 cases. *Gynecol Oncol.* 2003 Sep; 90(3):657-61.
242. **Mitchell MF, Hittelman WK, Lotan R, Nishioka K, Tortolero-Luna G, Richards-Kortum R.** Chemoprevention Trials and Surrogate end points Biomarkers in the cervix. *Cancer.* 1995 (10 Suppl); 76: 1956-1977.
243. **Mittal K.** Proliferating Cell Nuclear Antigen expression in normal cervix and in cervical dysplasia. *Hum Patol.* 1994; 25(9): 964-966.

244. **Miyashita, T; Krajewski, S; Krajewska, M; Wang H.G; Lin, H.K.; Liegermann, D.A.** Hoffman, B; reed, J.C. Tumor supressor p53 is a regulator of bcl-2 and bax gene expression in vitro and in vivo. *Oncogene*. Volume 9, Issue 6, June 1994, Pages 1799-1805.
245. **Molano M, Weiderpass E, Posso H, Morre SA, Ronderos M, Franceschi S, Arslan A, Meijer CJ, Munoz N, van den Brule AJ.** HPV Study Group. Prevalence and determinants of Chlamydia trachomatis infections in women from Bogota, Colombia. *Sex Transm Infect*. 2003 Dec; 79(6):474-8.
246. **Morales MRC.** Cáncer cervicouterino y el VPH. Opciones de detección. *Rev Fac Med UNAM*. 2003 Marzo-Abril, 46(2).
247. **Moreno V, Bosch FX, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV, Walboomers JM, Herrero R, Franceschi S.** International Agency for Research on Cancer. Multicentric Cervical Cancer Study Group. Effect of oral contraceptives on risk of cervical cancer in women with human papillomavirus infection: the IARC multicentric case-control study. *Lancet*. 2002 Mar 30; 359(9312):1085-92.
248. **Moreno V, González JR, Soler M, Bosch FX, Kogevinas M, Borrás JM, en nombre del Grupo de Estudio de las Causas del Cáncer en España (GECCE).** *Gac sanit*. 2001, 15(5): 380-88.
249. **Moscicki AB, Hills N, Shiboski S, Powell K, Jay N, Hanson E, Miller S, Clayton L, Farhat S, Broering J, Darragh T, Palefsky J.** Risks for incident human papillomavirus infection and low-grade squamous intraepithelial lesion development in young females. *JAMA*. 2001 Jun 20; 285(23):2995-3002.
250. **Moscicki AB, Shiboski S, Hills NK, Powell KJ, Jay N, Hanson EN, Miller S, Canjura-Clayton KL, Farhat S, Broering JM, Darragh TM.** Regression of low-grade squamous intra-epithelial lesions in young women. *Lancet*. 2004 Nov 6; 364(9446):1678-83.
251. **Mukherjee BN, Chaudhury S, Sengupta S.** A case cancer control study of reproductive in breast cancer. *Indian J Cancer*. 1994 Sep; 31(3):147-59.
252. **Muñoz N, Bosch FX, De Sanjosé S, Shah KV.** The role of HPV in the etiology of cervical cancer. *Mutat Res*. 1994; 305:293-301.

253. **Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ; 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 Feb 6; 348(6):518-27.
254. **Muñoz N, Franceschi S, Bosetti C, Moreno V, Herrero R, Smith JS, Shah KV, Meijer CJLM, Bosch FX and the International Agency for Research on Cancer (IARC) Multicenter Cervical Cancer Study Group.** Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicenter case-control study. *The Lancet.* 2002 Mar; 359(9312): 1093-1101.
255. **Nagai N.** [Gene diagnosis of uterine cervical cancer]. *Rinsho Byori.* 1994 Apr; 42(4):372-9.
256. **Nagai Y, Kishimoto T.** [The mechanism of cyclin degradation]. *Tanpakushitsu Kakusan Koso.* 1997 Oct; 42(14 Suppl):2225-32.
257. **Nakamura T, Nomura S, Sakai T, Nariya S.** Expression of bcl-2 oncoprotein in gastrointestinal and uterine carcinomas and their premalignant lesions. *Hum Pathol.* 1997 Mar; 28(3): 309-15.
258. **Nakano T, Oka K, Ishikawa A, Morita S.** Correlation of cervical carcinoma c-erb B-2 oncogene with cell proliferation parameters in patients treated with radiation therapy for cervical carcinoma. *Cancer.* 1997 Feb 1; 79(3):513-20.
259. **Nakopoulou L, Vourlakou C, Zervas A, Tzonou A, Gakiopoulou H, Dimopoulos MA.** The prevalence of bcl-2, p53, and Ki-67 immunoreactivity in transitional cell bladder carcinomas and their clinicopathologic correlates. *Hum Pathol.* 1998 Feb; 29(2):146-54.
260. **Naucler P, da Costa FM, Ljunberg O, Bugalho A, Dillner J.** Human papillomavirus genotypes in cervical cancers in Mozambique. *J of General Virology.* 2004, 85.

261. **Ndlovu N, Kambarami R.** Factors associated with tumour stage at presentation in invasive cervical cancer. *Cent Afr J Med.* 2003 Sep-Oct; 49(9-10): 107-11.
262. **Ndubisi B, Sanz S, Lu L, Podczaski E, Benrubi G, Masood S.** The prognostic value of HER-2/neu oncogene in cervical cancer. *Ann Clin Lab Sci.* 1997 Nov-Dec; 27(6):396-401.
263. **Neto AA.** Epidemiological aspects of cervical cancer. *Rev Saúde Pública.* 1991, 25(4):download article in PDF format. <http://www.sciel.../scielo.php>.
264. **Nevin J, Laing D, Kaye P, McCulloch T, Barnard R, Silcocks P, Blackett T, Paterson M, Sharp F, Cruse P.** The significance of Erb-b2 immunostaining in cervical cancer. *Gynecol Oncol.* 1999 Jun; 73(3): 354-8.
265. **Newton R, Ziegler J, Beral V, Mbidde E, Carpenter L, Wabinga H, Mbulaiteye S, Appleby P, Reeves G, Jaffe H; Uganda Kaposi's Sarcoma Study Group.** A case-control study of human immunodeficiency virus infection and cancer in adults and children residing in Kampala, Uganda. *Int J Cancer.* 2001 Jun 1; 92(5): 622-7.
266. **Ngan HY, Cheung AN, Liu SS, Cheng DK, Ng TY, Wong LC.** Abnormal expression of epidermal growth factor receptor and c-erbB2 in squamous cell carcinoma of the cervix: correlation with human papillomavirus and prognosis. *Tumour Biol.* 2001 May-Jun; 22(3): 176-83.
267. **Niibe Y, Nakano T, Ohno T, Suzuki Y, Oka K, Tsujii H.** Prognostic significance of c-erbB-2/HER2 expression in advanced uterine cervical carcinoma with para-aortic lymph node metastasis treated with radiation therapy. *Int J Gynecol Cancer.* 2003 Nov-Dec; 13(6):849-55.
268. **Nishioka T, West CM, Gupta N, Wilks DP, Hendry JH, Davidson SE, Hunter RD.** Prognostic significance of c-erbB-2 protein expression in carcinoma of the cervix treated with radiotherapy. *J Cancer Res Clin Oncol.* 1999; 125(2):96-100.

269. **Nobbenhuis MA, Walboomers JM, Helmerhorst TJ, Rozendaal L, Remmink AJ, Risse EK, van der Linden HC, Voorhorst FJ, Kenemans P, Meijer CJ.** Relation of human papillomavirus status to cervical lesions and consequences for cervical-cancer screening: a prospective study. *Lancet*. 1999 Jul 3; 354(9172): 20-5.
270. **Oka K, Nakano T, Arai T.** c-erbB-2 Oncoprotein expression is associated with poor prognosis in squamous cell carcinoma of the cervix. *Cancer*. 1994 Feb 1; 73(3):664-71.
271. **Olsen AO, Gjoen K, Sauer T, Orstavik I, Naess O, Kierulf K, Sponland G, Magnus P.** Human papillomavirus and cervical intraepithelial neoplasia grade II-III: a population-based case-control study. *Int J Cancer*. 1995; 61:312-15.
272. **Onwudiegwu U, Bako A, Oyewumi A.** Cervical cancer--a neglected health tragedy. *J Obstet Gynaecol*. 1999 Jan; 19(1):61-4.
273. **Ostor AG.** Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: A critical review. *Int J Gynecol Pathol*. 1993; 12: 186-92.
274. **Ozalp SS, Yalcin OT, Tanir HM, Dundar E, Yildirim S.** Bcl-2 expression in preinvasive and invasive cervical lesions. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2002; 23(5):419-22.
275. **Pablo Marcos Brillard Pocard, Ariel Braverman, Marcos Nahuel Cabrera, Viviana Vanesa Chapier.** Cáncer de cervix: Incidencia según edad y estado tumoral. *Revista de Posgrado de la VI Cátedra de Medicina – nº141 – Enero 2005*. Pag 7-10.
276. **Palacios LV.** Problemática actual del VPH y su prevención. *Revisión*. 2001 Mayo; 4(4): 243-47.
277. **Palefsky JM.** Human papillomavirus infection and anogenital neoplasia in human immunodeficiency virus-positive men and women. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 1998; 23:15-20.

278. **Palefsky JM, Minkoff H, Kalish LA, Levine A, Sacks HS, Garcia P, Young M, Melnick S, Miotti P, Burk R.** Cervicovaginal human papillomavirus infection in human immunodeficiency virus-1 (HIV)-positive and high-risk HIV-negative women. *J Natl Cancer Inst.* 1999 Feb 3; 91(3):226-36.
279. **Parazzini F, Chatenoud L, La Vecchia C, Negri E, Franceschi S, Bolis G.** Determinants of risk of invasive cervical cancer in young women. *Br J Cancer.* 1998 Mar; 77(5):838-41.
280. **Parkin DM, Muir Cs, Whelan SL, Gao YT, Ferlay J, Powell J.** Cancer incidence in five continents. Vol VI. editores. Lyon: *International Agency for research on Cancer*, 1992.
281. **Parkin DM, Whelan S.L, Ferlay J, Raymond L. Young J.** Cancer Incidence in Five Continents, Vol. VII, IARC Scientific Publications No 143. , *International Agency for Research on Cancer (IARC)*, Lyon (1997).
282. **Parkin DM.** Personal communication, *IARC* (July 2000).
283. **Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P.** Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer.* 2001 Oct 15; 94(2): 153-6.
284. **Passey M, Mgone CS, Lupiwa S, Suve N, Tiwara S, Lupiwa T, Clegg A, Alpers MP.** Community based study of sexually transmitted disease in rural women in the highlands of Papua New Guinea: prevalence and risk factors. *Sex Trans Infect.* 1998 Apr; 74(2): 120-7.
285. **Passey M, Mgone CS, Lupiwa S, Suve N, Tiwara S, Lupiwa T, Clegg A, Alpers MP.** Screening for sexually transmitted diseases in rural women in the Papua New Guinea: are WHO therapeutic algoritms appropriate for case detection? *Bulltin of the World Health Organization.* 1998 Jul; 76(4): 401-417.
286. **PATH** (Program for Appropriate technology in Health), programa para una tecnologia apropiada en salud), 2000. *OUTLOOK/Vol 18, N° 1.*

287. **PATH** (Program for Appropriate Technology in Health). Planning Appropriate Cervical Cancer Prevention Programs. 2nd Edition Seattle: *PATH*, 2001.
288. **Pelea César Lacruz**. Nomenclatura de las Isiones cervicales (de Papanicolau a Bethesda 2001). *Rev Esp Patol.* 36(1), 2003.
289. **Pereira R, Renard A, Boulbair F, Touboul E, Lefranc JP**. [Infiltrating carcinoma of the uterine cervix: epidemiology, prognostic factors, and therapeutic strategies]. *Bull Cancer.* 1998 Nov; Suppl 2:25-36.
290. **Persaud V**. Geographical pathology of cancer of the uterine cervix. *Trop Geogr Med.* 1977 Dec; 29(4): 335-45.
291. **Peters RK, Thomas D, Hagan DG, Mack TM, Henderson BE**. Risk factors for invasive cervical cancer among Latinas and non-Latinas in Los Angeles County. *J Natl Cancer Inst.* 1986, Nov; 77(5): 1063-77.
292. **Piketty C, Darragh TM, Heard I, Da Costa M, Bruneval P, Kazatchkine MD, Palefsky JM**. High prevalence of anal squamous intraepithelial lesions in HIV-positive men despite the use of highly active antiretroviral therapy. *Sex Transm Dis.* 2004 Feb; 31(2):96-9.
293. **Pinho MSL**. Proteína p53: algum valor clínico ou apenas pesquisa? Uma revisão da literatura. *Rev bras. Coloproct.* 2000, 20(4).
294. **Pisani P, Parkin DM, Bray F, Ferlay J**. Estimates of the worldwide mortality from 25 cancers in 1990. Erratum in: *Int J Cancer.* 1999 Dec 10; 83(6):870-3. *Int J Cancer.* 1999 Sep 24; 83(1): 18-29.
295. **Pisani S, Imperi M, Seganti L, Superti F, Tinari A, Bucci M, Degener AM**. Effect of HSV-2 infection on the expression of HPV 16 genes in CaSki cells. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2004 Jan-Apr; 17(1):65-70.

296. **Plummer M, Herrero R, Franceschi S, Meijer CJ, Snijders P, Bosch FX, de Sanjose S, Munoz N.** IARC Multi-centre Cervical Cancer Study Group. Smoking and cervical cancer: pooled analysis of the IARC multi-centric case-control study. *Cancer Causes Control*. 2003. Nov; 14(9):805-14.
297. **PNUD** (Programa das Nações Unidas Unidas para o Desenvolvimento) Moçambique. Relatório Nacional de Desenvolvimento Humano. Maputo; 1997.
298. **Poccard PMB, Braverman A, Cabrera MN, Chapier VV.** Cáncer de cérvix. Incidencia según edad y estado tumoral. *Rev posgrado de la Vla Cátedra de Medicina*. 2005 Enero; 141:7-10.
299. **Ponten J, Adami HO, Bergstrom R, Dillner J, Friberg LG, Gustafsson L, Miller AB, Parkin DM, Sørensen P, Trichopoulos D.** Strategies for global control of cervical cancer. *Int J Cancer*. 1995 Jan 3; 60(1):1-26.
300. **Prokopczyk B, Cox JE, Hoffmann D, Waggoner SE.** Identification of tobacco-specific carcinogen in the cervical mucus of smokers and nonsmokers. *J Natl Cancer Inst*. 1997 Jun 18; 89(12):868-73.
301. **Quinn M, Babb P, Jones J, Allen E.** Effect of screening on incidence and mortality from cervical cancer in England: Evaluation based on routinely collected statistics. *BMJ* 1999; 318:904.
302. **Raharisolo Vololonantenaina CR, Rabarijaona LP, Soares JL, Rasendramino M, Pecarrere JL, Khun H, Huerre M.** [Cervical cancers diagnosed at the Pasteur Institute of Madagascar from 1992 to 2002]. *Arch Inst Pasteur Madagascar*. 2003; 69(1-2):77-81.
303. **Raju GC, Al-Saleh W, Delvenne P, Greimers R, Fridman V, Doyen J, Boniver RJ.** Expression of the proliferating cell nuclear antigen in cervical neoplasia. *Int J Gynecol Patol*. 1994; 13(4): 337-341.

304. **Ramin Mirhashemi, Parvin Ganjei-Azar, Mehrdad Nadji, Nicholas Lambrou, Fikret Atamdede, Hervy E. Avarette.** Papillary squamous cell carcinoma of the uterine cervix: an immunophenotypic appraisal of 12 cases. *Gynecologic Oncology*. 2003 September; 90(3):657-661.
305. **Reeves WC, Brinton LA, Brenes MM, Quiroz E, Rawls WE.** Case- control study of cervical cancer in Herrera Province, Republic of Panama. *Int J Cancer*. 1985; 36: 55-60.
306. **Reis AJ.** Treatment of vaginal infections: candidiasis, bacterial vaginosis and trichomoniasis. *J Am Pharma Associat*. 1997 Jun; 37(5):563-9.
307. **Remmink AJ, Walboomers JM, Helmerhorst TJ, Voorhorst FJ, Rozendaal L, Risse EK, Meijer CJ, Kenemans P.** The presence of persistent high-risk HPV genotypes in dysplastic cervical lesions is associated with progressive disease:natural history up to 36 months. *Int J Cancer*.1995 May 4; 61(3):306-11.
308. **Richart RM, Barron BA.** A follow-up study of patients with cervical dysplasia. *Am J Obst Gyn*. 1969. 105: 386-93.
309. **RHO** (Reproductive Health Outlook). Cancer cervical. rho@path.org. 2002.
310. **Rodrigo CF, Mauricio CF, Michael EB.** Inactivation of tumor suppressor genes in uterine cervix carcinogenesis /Inactivación de genes supresores de tumores en la carcinogénesis del cuello uterino. Artículo de revision. *Rev méd Chile*. 1999, 127(12).
311. **Rogo KO, Omany J, Onyango JN, Ojwang SB, Stendahl U.** Carcinoma of the cervix in the African setting. *Int J Gynaecol Obstet*. 1990 Nov; 33(3):249-55.
312. **Rosales SM, Morales SO, Araujo FD.** Evaluación de los marcadores inmunohistoquímicos PCNA y MIB-1 en el diagnóstico de lesiones de bajo grado del cuello uterino. *Invest. Clín*. Maracaibo. 2004 Set; 45(3)

313. **Rosemberg SK, Herman G, Elfont E.** Sexually transmitted papilloma viral infection in the male. VII. Is cancer of penis sexually transmitted? *Urology*. 1991 May; 37(5):437-40.
314. **Rosemberg SK.** Sexually transmitted papillomaviral infection in men. An update. *Dermatol Clin*. 1991 Apr; 9(2):317-31.
315. **Rostad B, Schei B, da Costa F.** Risk factors for cervical cancer in Mozambican women. *Int J Gynecology & Obstetrics*. 2003, 80; 63-65.
316. **Roteli-Martins CM, Panetta K, Alves VA, Siqueira SA, Syrjanen KJ, Derchain SF.** Cigarette smoking and high-risk HPV DNA as predisposing factors for high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN) in young Brazilian women. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1998 Jul; 77(6):678-82.
317. **Runowicz CD, Fields AL.** Screening for gynecologic malignancies: A continuing responsibility. *Surg Oncol Clin N Am*. 1999 Oct; 8(4):703-23, vii.
318. **Sánchez-Seco PH.** Cáncer de cervix uterino. SEMERGEN –2002 Marzo; 28(3):145-152.
319. **Sancllemente G.** Lo que los clínicos deben saber acerca de las vacunas contra el virus del papiloma humano. *Gac Méd Méx*. 2003; 139(2): 173-83.
320. **Sankaranarayanan R, Black RJ, Swaminathan R, Parkin DM.** An overview of cancer survival in developing countries. *IARC Sci Publ*. 1998; (145):135-73.
321. **Sauter ER, Nesbit M, Litwin S, Klein-Szanto AJ, Cheffetz S, Herlyn M.** Antisense cyclin D1 induces apoptosis and tumor shrinkage in human squamous carcinomas. *Cancer Res*. 1999 Oct 1; 59(19):4876-81.
322. **Sauter ER, Herlyn M, Liu SC, Litwin S, Ridge JA.** Prolonged response to antisense cyclin D1 in a human squamous cancer xenograft model. *Clin Cancer Res*. 2000 Feb; 6(2): 654-60.

323. **Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ, Howley PM.** The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell*. 1990 Dec 21; 63(6):1129-36.
324. **Schiff M, Becker TM, Masuk M, van Asselt-King L, Wheeler CM, Altobelli KK, North CQ, Nahmias AJ.** Risk factors for cervical intraepithelial neoplasia in southwestern American Indian Women. *Am J Epidemiol*. 2000; 152: 716-26.
325. **Schiffman MH, Haley NJ, Felton JS, Andrews AW, Kaslow RA, Lancaster WD, Kurman RJ, Brinton LA, Lannom LB, Hoffmann D.** Biochemical epidemiology cervical neoplasia: measuring cigarette smoke constituents in the cervix. *Cancer Res*. 1987, 47:3886-88.
326. **Schiffman MH, Brinton LA.** The epidemiology of cervical carcinogenesis. *Cancer*. 1995 Nov 15; 76(10 Suppl):1888-901.
327. **Schiffman, M.H.** New epidemiology of human papillomavirus infection and cervical neoplasia. *J Natl Cancer Inst*. 1995 Sep 20; 87(18):1345-7.
328. **Schiffman MH, Castle P.** Epidemiologic studies of a necessary causal risk factor: human papillomavirus infection and cervical neoplasia. *J Natl Cancer Inst*. 2003 Mar 19; 95(6):E2.
329. **Schlecht NF, Platt RW, Duarte-Franco E, Costa MC, Sobrinho JP, Prado JC, Ferenczy A, Rohan TE, Villa LL, Franco EL.** Human papillomavirus infection and time to progression and regression of cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst*. 2003 Sep 3; 95(17):1336-43.
330. **Scholzen T, Gerdes J.** The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol*. 2000 Mar; 182(3):311-22.
331. **S.E.G.O (Documentos de Consenso SEGO)- Grupo Câncer de cuello uterino.** 2000. www.sego.es/actualización
332. **Selik RM, Rabkin CS.** Cancer death rates associated with human immunodeficiency virus infection in the United States. *J Natl Cancer Inst*. 1998 Sep 2; 90(17):1300-2.

333. **Sellors, J W; Mahony, J B; Kaczorowski, J; Lytwyn, A; Bangura, H; Chong, S; Lorincz, A; Dalby, D M; Janjusevic, V; Keller, J L.** Prevalence and predictors of human papillomavirus infection in women in Ontario, Canada. Survey of HPV in Ontario Women (SHOW) Group. *Canadian Medical Association Journal*. 2000 Sep 5; 163(5): 503-8.
334. **Serman F.** Cancer cervicouterino: Epidemiologia, historia natural y rol del virus papiloma humano. Perspectivas en prevención y tratamiento. *Rev. Chil. Obstet. Ginecol.* 2002; 67(4): 318-323.
335. **Serraino D, Carrieri P, Pradier C, Bidoli E, Dorrucchi M, Ghetti E, Schiesari A, Zucconi R, Pezzotti P, Dellamonica P, Franceschi S, Rezza G.** Risk of invasive cervical cancer among women with, or at risk for, HIV infection. *Int J Cancer*. 1999 Jul 30; 82(3):334-7.
336. **Serraino D, Dal Maso L, La Vecchia C, Franceschi S.** Invasive cervical cancer as an AIDS-defining illness in Europe. *AIDS*. 2002 Mar 29; 16(5):781-6.
337. **Serrano RO, Pérez CJU, Martínez LAD, Romero YRD.** Factores de riesgo para cancer de cuello uterino/ Risk factors for uterine cervical cancer. *Rev Colomb Obstet Ginecol*. 2004 Apr/June; 55(2): 146-160.
338. **Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ, Howley PM.** The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell*. 1990 Dec 21; 63(6):1129-36.
339. **Scheffner M, Munger K, Byrne JC, Howley PM.** The state of the p53 and retinoblastoma genes in human cervical carcinoma cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991 Jul 1; 88(13): 5523-7.
340. **Sharma A, Pratap M, Sawhney VM, Khan IU, Bhambhani S, Mitra AB.** Frequent amplification of C-erbB2 (HER-2/Neu) oncogene in cervical carcinoma as detected by non-fluorescence in situ hybridization technique on paraffin sections. *Oncology*. 1999; 56(1):83-7.

341. **Shepherd J, Weston R, Peersman G, Napuli IZ.** Interventions for encouraging sexual lifestyles and behaviours intended to prevent cervical cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000; (2):CD001035.
342. **Shields TS, Brinton LA, Burk RD, Wang SS, Weinstein SJ, Ziegler RG, Studentsov YY, McAdams M, Schiffman M.** A case-control study of risk factors for invasive cervical cancer among U.S. women exposed to oncogenic types of human papillomavirus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004 Oct; 13(10):1574-82.
343. **Shingleton HM, Bell MC, Fremgen A, Chmiel JS, Russell AH, Jones WB, Winchester DP, Clive RE.** Is there really a difference in survival of women with squamous cell carcinoma, adenocarcinoma, and adenosquamous cell carcinoma of the cervix? *Cancer.* 1995 Nov 15; 76(10 Suppl): 1948-55.
344. **Sicard A.** [Introduction of cervico-vaginal smears in France]. *Bull Acad Natl Med.* 1996 May; 180(5): 1109-13.
345. **Sigurdsson K.** Cervical cancer, Pap smear and HPV testing: an update of the role of organized Pap smear screening and HPV testing. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1999; 78:467-77.
346. **Silvia S.** Cervical and anal HPV infections in HIV positive women and men. *Virus Research.* 2002; 89: 201-11.
347. **Sitas F, Pacella-Norman R, Carrara H, Patel M, Ruff P, Sur R, Jentsch U, Hale M, Rowji P, Saffer D, Connor M, Bull D, Newton R, Beral V.** The spectrum of HIV-1 related cancers in South Africa. *Int J Cancer.* 2000 Nov 1; 88(3):489-92.
348. **Smith JS, Munoz N, Franceschi S, Eluf-Neto J, Herrero R, Peeling RW.** Chlamydia trachomatis and cervical squamous cell carcinoma. *JAMA.* 2001 Apr 4; 285(13):1704; author reply 1705-6.
349. **Sociedad Española de Medicina Familiar y Comunitaria.** Programa de Actividades Preventivas y de Promoción de la Salud. *SEMFYC*, 1999.

350. **Sobhani I, Walker F, Roudot-Thoraval F, Abramowitz L, Johanet H, Henin D, Delchier JC, Soule JC.** Anal carcinoma: incidence and effect of cumulative infections. *AIDS*. 2004 Jul 23; 18(11):1561-9.
351. **Soh LT, Heng D, Lee IW, Ho TH, Hui KM.** The relevance of oncogenes as prognostic markers in cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2002 Sep-Oct; 12(5):465-74.
352. **Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, Raab S, Sherman M, Wilbur D, Wright T Jr, Young N.** Forum Group Members; Bethesda 2001 Workshop. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA*. 2002 Apr 24; 287(16):2114-9.
353. **Sonnex C, Strauss S, Gray JJ.** Detection of human papillomavirus DNA on the fingers of patients with genital warts. *Sex Transm Infect*. 1999 Oct; 75(5):317-9.
354. **Sosa MB.** Colposcopia: Repasando la historia.2002. Internet: Gineconet.com
355. **Southern SA, Herrington CS.** Differential cell cycle regulation by low- and high-risk human papillomaviruses in low-grade squamous intraepithelial lesions of the cervix. *Cancer Res*. 1998 Jul 15; 58(14):2941-5.
356. **Southern SA, Herrington CS.** Disruption of cell cycle control by human papillomavirus with special reference to cervical carcinoma. *International Journal of Gynecological Cancer*. 2000; 10:263-74.
357. **Stadler RF, Gregorcyk SG, Euhus DM, Place RJ, Huber PJ, Simmang CL.** Outcome of HIV-infected patients with invasive squamous-cell carcinoma of the anal canal in the era of highly active antiretroviral therapy. *Dis Colon Rectum*. 2004 Aug; 47(8):1305-9.
358. **Steinbeck RG.** Proliferation and DNA aneuploidia in mild dyaplasia imply early steps of cervical carcinogenesis. *Acta Oncol*. 1997; 36(1):3-12.

359. **Stewart WB, Keihues P.** Cervical cancer. In: Cancers of the female reproductive tract. World Cancer Report. Lyon: *World Health Organization, IARC press.* 2003; pp: 215-7.
360. **Stoler MH.** A brief synopsis of the role of the human papillomavirus in cervical carcinogenesis. *Am J Obstet Gynecol.* 1996 Oct; 175(4 Pt 2):1091-8.
361. **Stoler MH.** The virology of cervical neoplasia: an HPV-associated malignancy. *Cancer J.* 2003 Sep-Oct; 9(5):360-7.
362. **Storey A, Thomas M, Kalita A, Harwood C, Gardiol D, Mantovani F, Breuer J, Leigh IM, Matlashewski G, Banks L.** Role of a p53 polymorphism in the development of human papillomavirus-associated cancer. *Nature.* 1998 May 21; 393(6682):229-34.
363. **Strickler HD, Burk RD, Fazzari M, Anastos K, Minkoff H, Massad LS, Hall C, Bacon M, Levine AM, Watts DH, Silverberg MJ, Xue X, Schlecht NF, Melnick S, Palefsky JM.** Natural history and possible reactivation of human papillomavirus in human immunodeficiency virus-positive women. *J Natl Cancer Inst.* 2005 Apr 20; 97(8):577-86.
364. **Sun XW, Kuhn L, Ellerbrock TV, Chiasson MA, Bush TJ, Wright TC Jr.** Human papillomavirus infection in women infected with the human immunodeficiency virus. *N Engl J Med.* 1997 Nov 6; 337(19):1343-9.
365. **Suteliffe J, Duin N.** A history of medicine. New York: Barnes & Noble; 1992. *Fighting cancer: from cocktails to cure.* P. 194-9.
366. **Suzuki Y, Nakamo T, Kato S, Ohno T, Tsujii H, Oka K.** Immunohistochemical study of cell cycle-associated proteins in adenocarcinoma of the uterine cervix treated with radiotherapy alone: p53 status has a strong impact on prognosis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004 Sep 1; 60(1): 231-6.
367. **Tang ZH, Cai QF, Ye Xa.** Expresión of bcl-2, C-erbB2, and p53 protein in cervical epithelial carcinogenesis. *Ai Zheng.* 2003 Oct; 22(10):1057-61.

368. **Tervahauta AI, Syrjanen SM, Antyjarvi R, Syrjanen J.** Detection of P53 during protein and Ki-67 proliferation antigen in human papilloma-Virus (HPV) positive and HPV-negative cervical lesions by immunohistochemical double staining. *Cytopathology*. 1994; 5(5): 282-93.
369. **Tervel JAL.** P53: La vida o la muerte. Biología Molecular y Celular. *Ciencia y Salud*. 08-11-1996.
370. **Thomas DB, Ray RM.** Oral contraceptives and invasive adenocarcinomas and adenosquamous carcinomas of the uterine cervix. The World Health Organization Collaborative Study of Neoplasia and Steroid Contraceptives. *Am J Epidemiol*. 1996 Aug 1; 144(3):281-9.
371. **Thomas DB, Ray RM, Pardthaisong T, Chutivongse S, Koetsawang S, Silpisornkosol S, Virutamasen P, Christopherson WM, Melnick JL, Meirik O, Farley TM, Riotton G.** Prostitution, condom use, and invasive squamous cell cervical cancer in Thailand. *Am J Epidemiol*. 1996 Apr 15; 143 (8):779-86.
372. **Thomas, D. B., Ray, R. M., Koetsawang, A., Kiviat, N., Kuypers, J., Qin, Q., Ashley, R. L., Koetsawang, S.** Human Papillomaviruses and Cervical Cancer in Bangkok. I. Risk Factors for Invasive Cervical Carcinomas with Human Papillomavirus Types 16 and 18 DNA. *Am. J Epidemiol*. 2001. 153:723-31.
373. **Thomas, D. B., Ray, R. M., Kuypers, J., Kiviat, N., Koetsawang, A., Ashley, R. L., Qin, Q., Koetsawang, S.** Human Papillomaviruses and Cervical Cancer in Bangkok. III. The Role of Husbands and Commercial Sex Workers. *Am. J. Epidemiol*. 2001. 153: 740-48.
374. **Thun MJ, Glynn TJ.** Health consequences of eclipse cigarettes *JAMA*. 2000 Dec 20; 284(23):2995-6.
375. **Timonen S, Nieminen U, Kauraniemi T.** Letter: Cervical screening. *Lancet*. 1974 Mar 9; 1(7854):401-2.
376. **Tjalma WA, Weyler JJ, Bogers JJ, Pollefliet C, Baay M, Goovaerts GC, Vermorken JB, van Dam PA, van Marck EA, Buytaert PM.** The importance of biological factors (bcl-2, bax, p53, PCNA, MI, HPV and angiogenesis) in

- invasive cervical cancer. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2001 Aug; 97(2):223-30.
- 377. Tjalma W, Weyler J, Goovaerts G, De Pooter C, Van Marck E, van Dam P.** Prognostic value of bcl-2 expression in patients with operable carcinoma of the uterine cervix. *J Clin Pathol.* 1997 Jan; 50(1):33-6.
- 378. Toy EP, Rodriguez-Rodriguez L, McCance D, Ludlow J, Planelles V.** Induction of cell-cycle arrest in cervical cancer cells by the human immunodeficiency virus type 1 viral protein R. *Obstet Gynecol.* 2000 Jan;95(1):141-6.
- 379. Vall Mayans M, de Sanjose Llongueras S.** [Cancer of the cervix uteri and impact of HIV on its development in socially disadvantaged young women]. *Med Clin (Barc).* 2000 May 6; 114(17):656-7.
- 380. Vaux DL, Cory S, Adams JM.** Bcl-2 gene promotes hemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature.* 1988, 335: 440-42.
- 381. Vecchione A, Cermele C, Giovagnoli MR, Valli C, Alimandi M, Carico E, Esposito DL, Mariani-Costantini R, French D.** p53 expression and genetic evidence for viral infection in intraepithelial neoplasia of the uterine cervix. *Gynecol Oncol.* 1994 Dec; 55(3 Pt 1):343-8.
- 382. Vermillion ST, Holmes MM, Soper DE.** Adolescents and sexually transmissible diseases. *Obstet Gynecol Clinics of North America.* 1999 Jan; 27(1):163-79.
- 383. Viguer JM, Moral RG.** Laboratorio y atlas de citología. 1ª edición. McGraw-Hill. Interamericana de España, S.A.U. 1998; pag 78-81.
- 384. Viikki M, Pukkala E, Nieminen P, Hakama M.** Gynaecological infections as risk determinants of subsequent cervical neoplasia. *Acta Oncol.* 2000; 39(1):71-5.

385. **Vilos GA.** The history of the Papanicolaou smear and odyssey of George and Andromache Papanicolaou. *Obstet Gynecol.* 1998 Mar; 91(3): 479-83.
386. **Vincent T De Vita, Samuel JR Hellman, Steven A. Rosenberg.** Cancer Principios y Práctica de oncología. Cap: Biología molecular del cáncer: oncogenes. *Editorial Médica-Panamericana ARAN*, ediciones, S.A. 5ª edición, Vol -1, 2000, pag 79 – 100.
387. **Wabinga HR, Parkin DM, Wabwire-Mangen F, Namboze S.** Trends in cancer incidence in Kyadondo County, Uganda, 1960-1997. *Br J Cancer.* 2000 May; 82(9):1585-92.
388. **Waggoner SE, Anderson SM, Eyck SV, Fuller J, Luce MC, Herbst AL.** Human papillomavirus detection and p53 expression in clear-cell adenocarcinoma of the vagina and cervix. *Obstet Gynecol.* 1994; 84: 404-8.
389. **Waggoner SE.** Cervical cancer. *Lancet.* 2003; 361: 2217-25.
390. **Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJ, Peto J, Meijer CJ, Munoz N.** Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999 Sep; 189(1):12-9.
391. **Wallin, K.-L., Wiklund, F., Angstrom, T., Bergman, F., Stendahl, U., Wadell, G., Hallmans, G., Dillner, J.** Type-Specific Persistence of Human Papillomavirus DNA before the Development of Invasive Cervical Cancer. *N Engl J Med.* 1999; 341: 1633-1638.
392. **Wang PD, Lin RS.** Risk factors for cervical intraepithelial neoplasia in Taiwan. *Gynecol Oncol.* 1996 Jul; 62(1):10-8.
393. **Wang CC, Celum CL.** Global risk of sexually transmitted diseases. *Med Clin North Am.* 1999 Jul; 83(4):975-95, vi.

394. **Wang M, Wang B, Wang X.** [A novel antiapoptosis gene, survivin, bcl-2, p53 expression in cervical carcinomas]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* 2001 Sep; 36(9):546-8.
395. **Ward LS.** Entendendo o processo molecular da tumorigênese. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2002 Ago; 46(4) – artículo en el formato PDF.
396. **Wen LM, Estcourt CS, Simpson JM, Mindel A.** Risk factors for the acquisition of genital warts: are condoms protective? *Sex Transm Infect.* 1999 Oct; 75(5):312-6.
397. **Werness BA, Afify AM, Eltabbakh GH, Huelsman K, Piver MS, Paterson JM.** p53, c-erbB, and Ki-67 expression in ovaries removed prophylactically from women with a family history of ovarian cancer. *Int J Gynecol Pathol.* 1999 Oct; 18(4):338-43.
398. **White E.** Life, death, and the pursuit of apoptosis. *Genes Dev.* 1996 Jan 1; 10(1):1-15.
399. **WHO** (World Health Organization) – Cervical cancer screening in developing countries – *Report of WHO consultation.* 2002.
400. **Wilkin TJ, Palmer S, Brudney KF, Chiasson MA, Wright TC.** Anal intraepithelial neoplasia in heterosexual and homosexual HIV-positive men with access to antiretroviral therapy. *J Infect Dis.* 2004 Nov 1; 190(9):1685-91. Epub 2004 Oct 1.
401. **Winkelstein W.** Smoking and cervical cancer- current status: a review. *Am J Epidemiol.* 1990, 131:945-57.
402. **Wright TC, Sun XW, Koulos J.** Comparison of management algorithms for the evaluation of women with low-grade cytologic abnormalities. *Obstet Gynecol.* 1995 Feb; 85(2): 202-10.
403. **Wu JT.** Review of circulating tumor markers: from enzyme, carcinoembryonic protein to oncogene and suppressor gene. *Ann Clin Lab Sci.* 1999; 29:106-111.

404. **Yamauchi H, Stearns V, Hayes DF.** When is a tumor marker ready for prime time? A case study of c-erbB-2 as a predictive factor in breast cancer. *J Clin Oncol.* 2001; 19: 2334-2356.
405. **Yamamoto LSV, Maeda MYS, Pittoli JE, Mello ES, Leandro LO, Wakamatsu A, Loreto C.** Cellular Kinetics in preinvasive and invasive lesions of cervical squamous epithelium: morfologic and immunohistochemical study. *Rev Inst. Adolfo Lutz.* 61(2): 97 –101, 2002.
406. **Yao J, Lin H, Song H.** [Apoptosis and uterine cervical carcinogenesis]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* 2000 Nov; 22(6):480-2. Abstract
407. **Yasuko Koyamatsu, Masatoshi Yokoyama, Yoshifumi Nakao, Kouichi Fukuda, Toshiaki Saito, Keita Matsukuma, Tsuyoshi Iwasaka.** A comparative analysis of human papillomavirus types 16 and 18 and expression of p53 gene and Ki-67 in cervical, vaginal, and vulvar carcinomas. *Gynecologic Oncology.* 2003 Sept; 90(3): 547-551.
408. **Yepes HC.** Papilomavirus in cervical carcinoma. *Rev Colomb Obstet Ginecol.* 2003 Apr/June; 54(2):45-8.
409. **Ylitalo N, Josefsson A, Melbye M, Sorensen P, Frisch M, Andersen PK, Sparen P, Gustafsson M, Magnusson P, Ponten J, Gyllensten U, Adami HO.** A prospective study showing long-term infection with human papillomavirus 16 before the development of cervical carcinoma in situ. *Cancer Res.* 2000 Nov 1; 60(21):6027-32.
410. **Zavalishina LE, Andreeva Lulu, Petrov AN, Frank GA.** Immunohistochemical analysis of cyclin D1 in cervical adenocarcinoma. *Arkh Patol.* 2000 Mar-Apr; 62(2):31-3.
411. **Zenilman JM.** Chlamydia and cervical cancer: a real association? *JAMA.* 2001 Jan 3; 285(1):81-3.

412. **Zhang ZF, Graham S, Yu SZ, Xu JL.** Trichomonas vaginalis and cervical cancer. A prospective study in China. *Ann Epidemiol.* 1995, 5:325-32.
413. **Zunzunegui MV, King MC, Coria CF, Charlet J.** Male influences on cervical cancer risk. *Am J Epidemiol.* 1986 Feb; 123(2):302-7.
414. **Zur Hausen H.** Papillomaviruses Causing Cancer: Evasion From Host-Cell Control in Early Events in Carcinogenesis. *Journal of the National Cancer Institute.* 2000 May 3; 92(9): 690-698.