

**PROCESAMIENTO DE TEJIDO DE CUELLO UTERINO PARA ESTUDIO
PILOTO DE DETECCIÓN TEMPRANA DE CÁNCER CERVICAL BASADO EN
ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA**

ELGA JOHANNA VARGAS CARREÑO
CARLOS JAVIER ZAMORA RANGEL

Grupo de Investigación: CIMBIOS



UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE SALUD
ESCUELA DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA
BUCARAMANGA
2007

**PROCESAMIENTO DE TEJIDO DE CUELLO UTERINO PARA ESTUDIO
PILOTO DE DETECCIÓN TEMPRANA DE CÁNCER CERVICAL BASADO EN
ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA**

ELGA JOHANNA VARGAS CARREÑO
CARLOS JAVIER ZAMORA RANGEL

Trabajo de grado para optar por el Título de Patólogo

Director MD. Patólogo Jorge Humberto Echeverri Perico
Codirector Físico & Ing. David Alejandro Miranda Mercado

Grupo de Investigación: CIMBIOS



UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE SALUD
ESCUELA DE MEDICINA
POSTGRADO EM PATOLOGÍA
BUCARAMANGA
2007

RESUMEN

TÍTULO:

PROCESAMIENTO DE TEJIDO DE CUELLO UTERINO PARA ESTUDIO PILOTO DE DETECCIÓN TEMPRANA DE CÁNCER CERVICAL BASADO EN ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA.*

AUTOR:

*VARGAS CARREÑO ELGA JOHANNA. Médica.***

*ZAMORA RANGEL CARLOS JAVIER. Médico.***

PALABRAS CLAVE:

Cáncer cervical, detección temprana, neoplasia intraepitelial, bioimpedancia eléctrica, espectro de impedancia eléctrica, tamizaje, cáncer de cuello uterino, modelo Cole-Cole.

DESCRIPCIÓN:

Se reporta un método de toma y procesamiento de tejido cervical para el estudio piloto de detección temprana del cáncer cervical usando Espectroscopía de Impedancia Eléctrica (EIE). El objetivo de esta investigación fue garantizar la calidad del material de prueba y desarrollar un protocolo para el procesamiento y lectura del tejido cervical que pueda emplearse de forma rutinaria en estudios de validación de nuevas técnicas diagnósticas.

Se practicó evaluación histopatológica de 108 muestras cervicales provenientes de histerectomías, conizaciones y biopsias de pacientes del Hospital Universitario de Santander y el Hospital San Juan de Dios de Floridablanca previa medición del espectro de impedancia eléctrica empleando el impedanciómetro monocanal MARK III, desarrollado en la Universidad de Sheffield (UK), y una sonda tetrapolar previamente calibrada. Este dispositivo inyecta una corriente de 20 μ A al tejido y mide la respuesta en voltaje del mismo, cumpliendo con las normas internacionales de seguridad eléctrica para el paciente, BS5724 e IEC601, incluidas en la norma Colombiana NTC-IEC 60601.

El análisis de las curvas ROC de los datos obtenidos mostró, para el parámetro Ro del modelo de Cole-Cole, una sensibilidad entre 82.6% y 87.0% y una especificidad entre 70.8% y 75.0% para el tamizaje de cáncer cervical.

* Trabajo de Investigación

** Facultad de Salud. Especialización en Patología. Director: Jorge Humberto Echeverri Perico, MD. Patólogo. Codirector: David Alejandro Miranda Mercado, MsC.

ABSTRACT

TITLE:

*UTERINE CERVICAL TISSUE PROCESSING TO STUDY EARLY CANCER DETECTION USING ELECTRIC IMPEDANCE SPECTRUM**.

AUTHOR:

*VARGAS CARREÑO ELGA JOHANNA. Médica.***
*ZAMORA RANGEL CARLOS JAVIER. Médico.***

KEYWORDS:

Cervical cancer, early detection, intraepithelial neoplasia, electric bioimpedance, electric impedance spectrum, Screening, uterine cancer, Cole-Cole model

DESCRIPTION:

A new method of sampling and processing cervical tissue, to be used in an experimental study of early detection of cervical cancer using Electric Impedance Spectroscopy, is described in this paper. The main goal of the research was to be able to obtain samples without compromising their integrity. This can be translated into developing a protocol that can be used as a regular practice in the validation of new diagnostic techniques.

Histopathologic evaluation was performed on 108 cervical samples obtained performing hysterectomies, conizations and biopsies procedures on patients hospitalized in the Hospital Universitario de Santander and the Hospital de Foridablanca. Prior to extracting the samples, the electric impedance was measured using a single channel impedancíometer (MARK III), which was developed in the University of Sheffield (UK). A previously calibrated tetrapolar probe was also used. This device injects a 20 μ A current into the tissue and measures its voltage response. These devices comply with BS5724 and IEC601 which are international regulations on electric safety for patients. They also comply with NTC-IEC 60601 which is a Colombian technical standard related to patient safety.

The analysis of ROC curves of the data set, for the parameter Ro of the Cole-Cole model, show a sensibility between 82.6% and 87.0%, and a specificity between 70.8% and 75.0% to the cervical cancer screening.

* Trabajo de Investigación

** Facultad de Salud. Especialización en Patología. Director: Jorge Humberto Echeverri Perico, MD. Patólogo. Codirector: David Alejandro Miranda Mercado, MSc.

AGRADECIMIENTOS

A Dios todo poderoso

Agradecemos a Jorge Humberto Echeverri Perico por su decidido trabajo interdisciplinario y visión para plantear este tema de trabajo; la ayuda incondicional, disciplina, orientación y enseñanzas de David Alejandro Miranda Mercado.

Igualmente, agradecemos a Carlos González Correa y Clara González Correa, quienes facilitaron el BIOIMPEDANCIOMETRO MARK III fabricado en la Universidad de Sheffield. Al doctor Jairo Corso Salamanca y Jorge Mejía por su invaluable colaboración en la toma de datos, envío de especímenes y acceso a sus pacientes quienes participaron de la realización del estudio. Al Doctor Gabriel Eduardo Pérez por su valiosa ayuda en las lecturas histopatológicas de todas las muestras examinadas. A la doctora Clara Vargas por sus atinados y valiosos comentarios, sugerencias y recomendaciones.

Por último, y no menos agradecidos con Ernesto García Ayala, quién depositó su confianza en nosotros, transmitiéndonos sus conocimientos y brindándonos su valiosa amistad. Y a todos nuestros compañeros de residencia, profesores y técnicos del laboratorio de histopatología quienes de una u otra forma nos colaboraron en el desarrollo de este trabajo y contribuyeron en nuestra formación profesional y personal.

TABLA DE CONTENIDO

“Pág.”

AGRADECIMIENTOS

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	11
1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	12
1.1. ANTECEDENTES DEL PROYECTO	12
1.1.1 Espectro de impedancia eléctrica y el bioimpedanciómetro	12
1.1.2 Nuestro proyecto	13
1.2. GENERALIDADES	13
1.2.1 Anatomía e histología del cérvix	13
1.2.2 Cáncer cervical	20
1.3 MEDIOS DIAGNÓSTICOS DEL CÁNCER CERVICAL	42
1.3.1 Diagnóstico citológico e histopatológico de las lesiones cervicales: de Papanicolau a Bethesda 2001	42
1.3.2 Nuevas técnicas diagnósticas	51

1.4	INTERACCIÓN DE LA ELECTRICIDAD CON LOS TEJIDOS BIOLÓGICOS	52
1.5	MEDICIÓN DE LA BIOIMPEDANCIA ELÉCTRICA	53
2.	PROTOCOLO DE MEDICIÓN DEL ESPECTRO DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA	54
2.1.	SEGURIDAD ELÉCTRICA PARA LA PACIENTE	54
2.2.	SEGURIDAD BIOLÓGICA	54
2.2.1.	Seguridad Biológica en la Sala de Procesamiento	54
2.2.2.	Seguridad Biológica en el Quirófano	54
2.3.	PROCEDIMIENTO PARA LA CALIBRACIÓN DE LA SONDA DE MEDICIÓN	55
2.4.	PROCEDIMIENTO PARA LA MEDICIÓN DEL ESPECTRO DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA (EIE) EN TEJIDO CERVICAL	57
2.4.1.	Medidas Ex-Vivo	57
2.4.2.	Mediciones in vivo	60
2.5.	PROCEDIMIENTO PARA PROCESAMIENTO DE TEJIDO CERVICAL	60
2.6.	PROCEDIMIENTO DE LECTURA E INFORME HISTOPATOLÓGICO	72

2.7.	DISCUSIÓN	76
3.	RESULTADOS	77
3.1.	BIOPSIAS	80
3.2.	CONIZACIONES	86
3.3.	HISTERECTOMÍAS	88
4.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	102
4.1.	MODELO COLE-COLE	102
4.2.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	103
4.3.	DISCUSIÓN	111
5.	CONCLUSIONES	112
5.1.	IMPORTANCIA DEL PROTOCOLO DE PROCESAMIENTO Y LECTURA DEL TEJIDO CERVICAL.	112
5.2.	RELACIÓN ENTRE MEDIDAS ELÉCTRICAS Y ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO	112
5.3.	POSIBILIDADES DE UTILIZAR LOS RESULTADOS OBTENIDOS COMO TÉCNICA DE TAMIZAJE	113

RECOMENDACIONES	114
LISTADO DE FIGURAS	115
LISTADO DE TABLAS	119
BIBLIOGRAFÍA	121

INTRODUCCIÓN

Nuestro trabajo reporta el protocolo de procesamiento y lectura de tejido cervical empleado en el estudio piloto de detección temprana del cáncer cervical usando Espectroscopía de Impedancia Eléctrica (EIE). El objetivo de este proyecto fue estandarizar las normas para el procesamiento y lectura del material biológico a emplearse de forma rutinaria en estudios de validación de nuevas técnicas diagnósticas.

Se practicó evaluación histopatológica de 108 muestras cervicales provenientes de histerectomías, conizaciones y biopsias de pacientes del Hospital Universitario de Santander y el Hospital San Juan de Dios de Floridablanca, previa medición del espectro de impedancia eléctrica empleando el bioimpedanciómetro monocanal MARK III y una sonda tetrapolar calibrada.

Los resultados obtenidos mostraron que los parámetros R_0 y T del modelo Cole-Cole discriminan las lesiones intraepiteliales e infiltrantes –clasificados de manera semejante al Sistema Bethesda- de los tejidos normales correlacionándose con los reportes histopatológicos empleados como estándar de oro.

El primer capítulo contiene los fundamentos teóricos del proyecto y los antecedentes relacionados con nuevas técnicas diagnósticas de cáncer cervical haciendo énfasis en la impedancia eléctrica. El capítulo dos desarrolla el protocolo de medición de la impedancia eléctrica, -incluyendo el método de calibración de la sonda de medición- y se explica el procesamiento, coloración y lectura del material histopatológico.

El tercer capítulo muestra los resultados de las mediciones del EIE y los reportes histopatológicos, y en el cuarto se analizan los resultados obtenidos. Se concluye que el nuevo método diagnóstico presenta una sensibilidad y especificidad cercana al 80%; hallazgo que corrobora la utilidad y pertinencia de los protocolos de toma de datos, procesamiento y lectura del material histopatológico.

Por último, en el capítulo Cinco se muestran las conclusiones generadas a partir del desarrollo del trabajo y el análisis estadístico de los resultados enfatizando la posibilidad de emplear el EIE como prueba de tamizaje para Cáncer de Cérvix.

1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

1.1. ANTECEDENTES DEL PROYECTO

Según la American Cancer Society¹, el cáncer es la segunda causa de muerte a nivel mundial, superada sólo por la enfermedad cardiovascular; razón por la cual, la comunidad científica centra sus esfuerzos en la creación e implementación de estrategias y nuevos métodos diagnósticos que permitan su detección temprana.

A nivel internacional existen grupos que estudian las propiedades eléctricas y ópticas de los tejidos, entre los cuales se destaca el fundado por el profesor Brian Brown de la Universidad de Sheffield, Reino Unido, el cual estudia la espectroscopía de impedancia eléctrica como técnica para el tamizaje de cáncer de cuello uterino. [BROWN_94], [RIGAUD_96], [BROWN_98], [BROWN_00].

En nuestro departamento, algunos investigadores de la Universidad Industrial de Santander estudian las propiedades eléctricas y ópticas del tejido epitelial con el fin de adaptar e implementar en un futuro técnicas alternativas que contribuyan a la detección precoz de la enfermedad neoplásica.

Se destaca la labor desarrollada por el grupo de investigación CIMBIOS (UIS) el cual realizó un estudio piloto de detección temprana de cáncer de cuello uterino basado en espectroscopía de impedancia eléctrica en el que se obtuvieron resultados promisorios con alta sensibilidad y especificidad (superior al 80%); pero cuya realización estuvo supeditada al desarrollo de un protocolo de toma y procesamiento de las muestras que aseguraran calidad y reproducibilidad; de modo, que pueda ser empleado de manera rutinaria en otros estudios de validación de nuevas técnicas diagnósticas comparables. [MIRANDA_05].

1.1.1. Espectro de Impedancia Eléctrica y el Bioimpedanciómetro. El espectro de impedancia eléctrica, aclara [GIMNES_00], es el término acuñado en bioingeniería para referirse a la resistividad eléctrica medida con excitación sinusoidal a diferentes frecuencias. Su uso como herramienta para la caracterización de tejidos biológicos data de principios del siglo XX, como reporta [SCHWAN_57]; sin embargo, el interés en el estudio de las propiedades eléctricas de los tejidos se

¹ www.cancer.org/downloads/STT/Cancer_Statistics_2006 Última visita 11 de Enero de 2007.

remonta a 1786 cuando Galvani mostró experimentalmente el efecto de la electricidad en las funciones motoras de animales.

[RIGAUD_96] et. al. presenta una recopilación de los trabajos realizados hasta el año 1996 empleando el espectro de impedancia eléctrica para la caracterización de tejido biológico; mencionando su uso como herramienta clínica - diagnóstica, y [MILNES_05] et. al. reporta el uso del espectro de impedancia eléctrica como medio para el diagnóstico de algunas patologías.

El instrumento empleado en la medición de la impedancia eléctrica se denomina bioimpedanciómetro. Este dispositivo excita al tejido con una corriente sinusoidal de frecuencia variable y amplitud constante y mide la respuesta en voltaje del tejido, la cual es previamente amplificada y filtrada. [RIGAUD_96] presentó una revisión de diferentes configuraciones para un sistema de medición de bioimpedancia eléctrica y [TSANAMI_04] reportó un diseño de un bioimpedanciómetro utilizando circuitos integrados de la MAXIM.

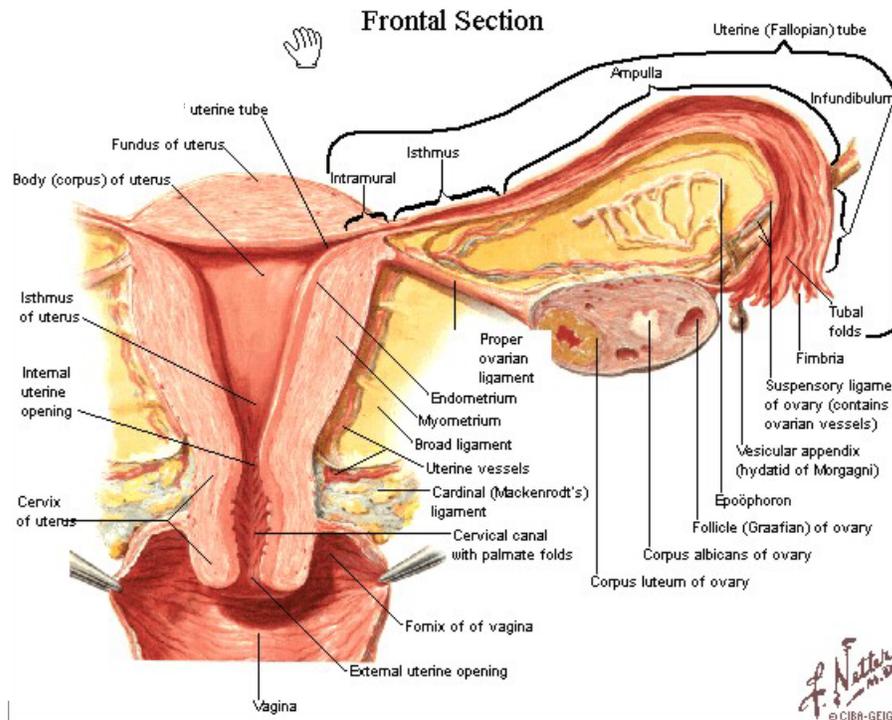
1.1.2. Nuestro proyecto. El objetivo de nuestro trabajo es desarrollar un protocolo para la toma y procesamiento del tejido de cuello cervical que garantice la calidad del material de prueba para la realización de estudios de espectroscopía de impedancia eléctrica; así como, su reproducibilidad; de modo que pueda ser empleado de manera rutinaria en otros estudios de validación de nuevas técnicas diagnósticas comparables. De este modo, la patología puede contribuir en la validación de nuevas técnicas de tamizaje y/o diagnóstico que cumplan con las expectativas internacionales (mayor sensibilidad, especificidad, bajo costo y reporte inmediato) que impacten positivamente en el descenso de las tasas de incidencia de cáncer de cérvix en nuestra población.

1.2. GENERALIDADES

1.2.1. Anatomía e Histología del Cérvix.

❖ Introducción. El cuello uterino, la parte fibromuscular inferior del útero, mide de 3 a 4 cm. de longitud y 2,5 cm. de diámetro, aunque su tamaño varía según la edad, el número de partos y el momento del ciclo menstrual de la mujer. El exocérvix es la parte más fácilmente visualizable del cuello uterino y está recubierto por un epitelio plano escamoso estratificado. El endocérvix, en gran parte no visualizable; es contiguo al orificio cervical externo y esta revestido por epitelio cilíndrico de una única capa. Figura 1.1.

Figura 1.1. Anatomía del Aparato Genital Femenino.



Fuente: Netter FH, Kirschner CG. Netter's Atlas of Human Anatomy for CPT coding. American Medical Association. 2005. ISBN 1579476694

La ubicación de la unión escamoso-cilíndrica con relación al orificio cervical externo varía según la edad, el momento del ciclo menstrual y otros factores como el embarazo y el uso de anticonceptivos orales. Como condición normal se puede presentar eversión del epitelio cilíndrico sobre el exocérvis, cuando el cuello uterino crece rápidamente y se agranda por influencia estrogénica, a partir de la menarquia y en el embarazo; en estos casos le asignamos el nombre de ectropión.

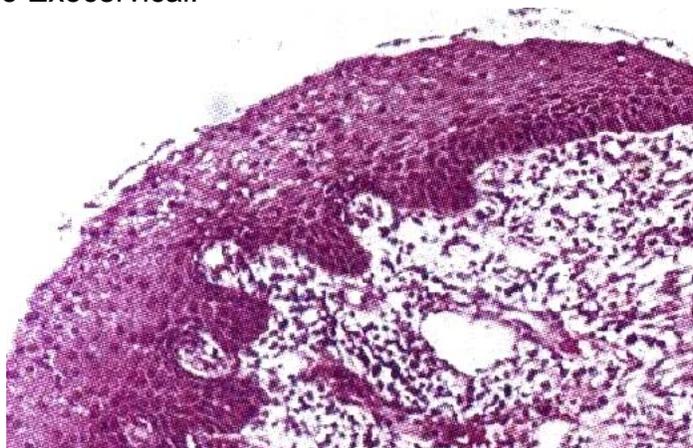
La metaplasia escamosa del cuello uterino consiste en el reemplazo fisiológico del epitelio cilíndrico evertido al exocérvis por un epitelio escamoso neoformado a partir de células de reserva subyacentes a las cilíndricas. La parte del cuello uterino en la que se produce la metaplasia escamosa se denomina zona de transformación. Identificar esta zona de transformación tiene gran importancia en la colposcopia, pues casi todas las manifestaciones de carcinogénesis cervical ocurren en ella.

❖ Histología. Normalmente el exocérnix está recubierto por epitelio escamoso estratificado no queratinizante que contiene glucógeno. Es opaco, tiene varias capas celulares (de 15 a 20) y es de color rosado pálido. Este epitelio puede corresponder al de origen, formado durante la vida embrionaria, o ser una neoformación metaplásica de los primeros años adultos. En las mujeres premenopáusicas el epitelio escamoso original es rosado, mientras que el neoformado presenta un aspecto rosado blanquecino a la exploración visual.

La arquitectura histológica del epitelio escamoso cervical presenta, en el fondo, una única capa de células basales redondas, con núcleos grandes de coloración oscura y poco citoplasma, unidas a la membrana basal, la cual separa el epitelio del estroma subyacente. La unión epitelio-estromal es ligeramente ondulada, con cortas proyecciones de estroma a intervalos regulares denominadas papilas. Las partes del epitelio introducidas entre las papilas se denominan invaginaciones.

Las células basales se dividen y maduran para formar la siguiente capa celular, llamada parabasal, que también tienen núcleos relativamente grandes y oscuros, y citoplasma basófilo de color azul verdoso. Estas células siguen diferenciándose hasta constituir capas intermedias de células poligonales con citoplasma abundante y núcleos redondos pequeños que forman un entramado a manera de cesta. Al proseguir la maduración, se forman células grandes y planas, de núcleo pequeño, denso, picnótico y citoplasma transparente, correspondiente a las capas superficiales. En términos generales, de la capa basal a la superficial, estas células aumentan de tamaño mientras se reduce el de su núcleo. Figura 1.2.

Figura 1.2. Epitelio Exocervical.



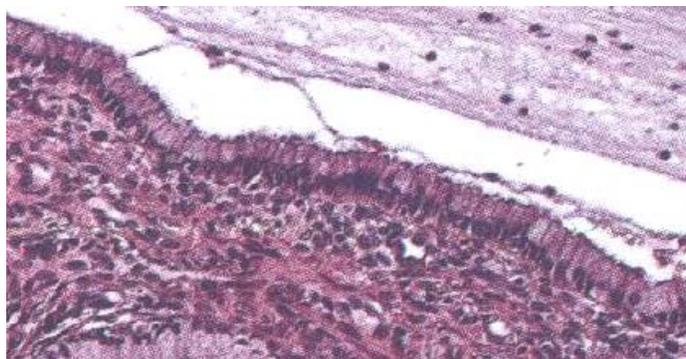
Fuente: BURKITT HG. et al. "Histología Funcional de Wheather". Texto y Atlas. Churchill Livingstone. 3ª edición. 1994.

Las células de las capas intermedia y superficial contienen glucógeno abundante en su citoplasma, que se tiñe intensamente de color pardo-caoba o negro, después de aplicar solución yodo-yodurada de Lugol con ácido peryódico de Schiff en los cortes histológicos. La presencia de glucógeno en las capas intermedia y superficial es signo de maduración y desarrollo normal del epitelio escamoso. La maduración anormal o alterada se caracteriza por la ausencia de glucogénesis.

La maduración del epitelio escamoso del cuello uterino depende de la presencia de estrógeno. En ausencia de esta hormona, no se produce maduración ni glucogénesis totales. En consecuencia, después de la menopausia, las células no maduran más allá de la capa parabasal y no se acumulan en capas múltiples de células planas. El epitelio se vuelve atrófico. A la inspección visual aparece pálido, con manchas petequiales subepiteliales.

El conducto cervical está recubierto por epitelio cilíndrico (a veces denominado epitelio mucíparo o glandular). Está compuesto de una única capa de células altas, con núcleos oscuros, cerca de la membrana basal. El epitelio cilíndrico presenta pliegues longitudinales múltiples que sobresalen en la luz del conducto, dando lugar a proyecciones papilares. También forma invaginaciones en el estroma cervical, dando lugar a las criptas endocervicales (glándulas endocervicales). Las criptas pueden llegar a tener entre 5 y 8 mm. de profundidad medidas desde la superficie del cuello uterino. Esta arquitectura compleja, con pliegues mucosos y criptas, da al epitelio cilíndrico una apariencia granular a la inspección visual. En el epitelio cilíndrico no se produce glucogénesis. Debido a la falta de glucógeno citoplasmático, el epitelio cilíndrico no cambia de color tras aplicación de Lugol, o retiene una leve capa de la solución yodo-yodurada. Figura 1.3.

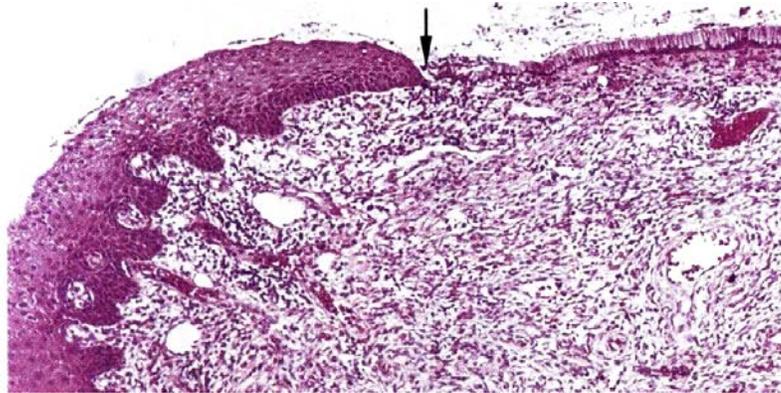
Figura 1.3. Epitelio endocervical.



Fuente: BURKITT HG. et al. "Histología Funcional de Wheather". Texto y Atlas. Churchill Livingstone. 3ª edición. 1994.

❖ Unión Escamocolumnar. La unión escamoso-cilíndrica se presenta como una línea bien trazada como un escalón, por la diferente altura del epitelio plano estratificado y del cilíndrico. La ubicación de la unión escamoso-cilíndrica con relación al orificio cervical externo varía en la vida de la mujer y depende de factores como la edad, el momento del ciclo hormonal, los traumatismos del parto, el uso de anticonceptivos orales o el embarazo. La unión escamoso-cilíndrica visualizable en la niñez y peri menarquia, se denomina “Unión Escamocolumnar Original” -UEC original-, pues representa el empalme entre el epitelio cilíndrico y el epitelio plano ‘original’ de la embriogénesis y la vida intrauterina. Figura 1.4.

Figura 1.4. Unión escamocolumnar.



Fuente: BURKITT HG. et al. “Histología Funcional de Wheather”. Texto y Atlas. Churchill Livingstone. 3ª edición. 1994.

Durante la niñez y la perimenarquia, la UEC original, se encuentra en el orificio cervical externo, o muy cerca de él. Tras la pubertad y durante el período reproductivo, los genitales femeninos crecen por influencia estrogénica. El cuello uterino aumenta de volumen, el conducto cervical se alarga y el epitelio cilíndrico de la parte inferior del conducto se evierte hacia el exocérnix. Así, la UEC original está ubicada en el exocérnix, muy lejos del orificio externo.

La acción del tapón de moco que cubre las células cilíndricas se perturba cuando el epitelio cilíndrico del ectropión se ve expuesto al entorno vaginal ácido. Esto conduce a la destrucción y, en último término, al reemplazo del epitelio cilíndrico por epitelio escamoso metaplásico neoformado. Por metaplasia entendemos el reemplazo de un tipo de epitelio maduro por otro.

El proceso metaplásico suele comenzar en la UEC original y desplazarse centrípetamente hacia el orificio cervical externo durante el período reproductivo

hasta la perimenopausia. De este modo se forma una nueva UEC entre el epitelio escamoso metaplásico neoformado y el epitelio cilíndrico persistente en el exocérnix. Conforme la mujer se acerca a la menopausia, la nueva UEC avanza en el exocérnix hacia el orificio externo y se posiciona a distancias variables del mismo, como resultado de la formación progresiva del nuevo epitelio escamoso metaplásico en las zonas expuestas del epitelio cilíndrico en el exocérnix.

A partir del período perimenopáusico, el cuello uterino va reduciéndose por la falta de estrógeno, con lo cual se acelera el desplazamiento de la nueva UEC hacia el orificio externo. En las mujeres posmenopáusicas, la UEC suele no visualizarse dada su localización en el canal endocervical.

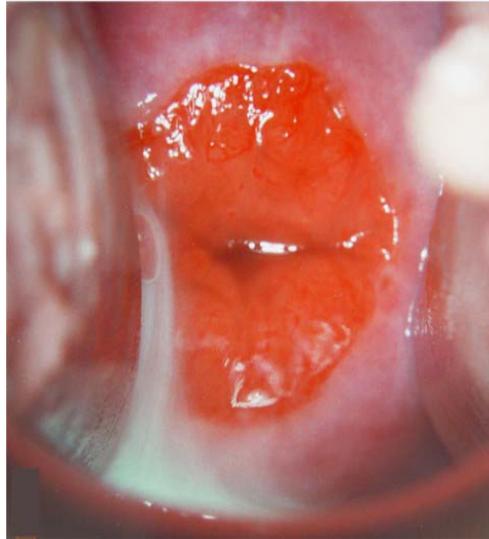
A esta nueva UEC es a la que nos referiremos de aquí en adelante en este trabajo cuando hablemos simplemente de unión escamoso-cilíndrica (UEC). Para referirnos a la UEC original la mencionaremos explícitamente como UEC original.

❖ Ectropión. El ectropión o ectopia se define como la eversión del epitelio cilíndrico endocervical hacia el exocérnix. Se presenta como una zona rojiza grande en el exocérnix que rodea el orificio externo. La eversión del epitelio cilíndrico es más pronunciada en los bordes anterior y posterior del exocérnix, menos en los laterales y ocasionalmente, el epitelio cilíndrico se extiende hacia el fondo de saco vaginal. Es un proceso fisiológico en la vida de la mujer. Figura 1.5.

En el ectropión se desplaza toda la mucosa endocervical hacia el exocérnix, donde el tejido se expone a la acidez vaginal, la cual provoca, destrucción reiterada del epitelio cilíndrico y reemplazo por epitelio metaplásico neoformado a partir de las células de reserva subyacentes. No se conoce el origen exacto de las células de reserva, aunque suele considerarse que proceden del epitelio cilíndrico.

❖ Metaplasia Escamosa. El primer signo de metaplasia escamosa es la aparición y proliferación de las células de reserva. Inicialmente, se observa una única capa de células pequeñas, redondas, de núcleos oscuros, situados muy cerca de los núcleos de las células cilíndricas. Morfológicamente, las células de reserva tienen una apariencia similar a las células basales del epitelio escamoso original, con núcleos redondos y poco citoplasma. Según progresa el proceso metaplásico, las células de reserva proliferan y se diferencian, formando un epitelio delgado, multicelular, de células escamosas inmaduras sin que se observe estratificación.

Figura 1.5. Visualización durante Especuloscopia del Ectropión.



Fuente: HUGHEY, MJ. "Military Obstetrics & Gynecology Cervical Disease and Neoplasia". Brookside Associates. Medical education Division. Winnetka, 2005.

Este neopitelio metaplásico se denomina inmaduro cuando presenta poca o ninguna estratificación. Las células del epitelio metaplásico escamoso inmaduro no producen glucógeno y en consecuencia, no se tiñen de marrón o negro con la solución yodo-yodurada de Lugol. En esta fase pueden verse grupos de células cilíndricas mucinosas incluidas en el epitelio metaplásico escamoso inmaduro. Pueden surgir a la vez muchos campos, aislados o contiguos, o focos de metaplasia escamosa incipiente. Se ha sugerido que la membrana basal del epitelio cilíndrico original se disuelve y vuelve a formarse entre las células de reserva, que están proliferando y diferenciándose, y el estroma cervical. La metaplasia escamosa suele comenzar en la unión escamoso-cilíndrica original, en el borde distal de la ectopia, pero también puede producirse en el epitelio cilíndrico cercano a la UEC o como islotes esparcidos en el epitelio cilíndrico expuesto.

A medida que continúa el proceso, las células escamosas metaplásicas inmaduras evolucionan a epitelio metaplásico estratificado maduro. Para efectos prácticos, este último es idéntico al epitelio escamoso estratificado original que se tiñe de marrón o negro con el Lugol. Pueden verse algunas células cilíndricas residuales o vacuolas de moco; así como, quistes de Naboth.

Los quistes de Naboth se forman por retención de moco, como resultado de la oclusión de una cripta endocervical por el epitelio escamoso metaplásico que se superpone. El epitelio cilíndrico encerrado sigue secretando moco, que con el tiempo llena y distiende la cripta. El moco atrapado confiere al quiste un color

blanco marfil visualizable. El epitelio cilíndrico de la pared del quiste se aplana y acaba destruyéndose por la presión del moco. La mejor manera de evaluar el límite más lejano del epitelio metaplásico del exocérnix es localizar la cripta que se abre más lejos de la unión escamoso-cilíndrica.

La metaplasia escamosa es un proceso irreversible; el epitelio transformado (que ahora es plano) no puede volver a convertirse en cilíndrico. La metaplasia escamosa puede avanzar en grados diversos en distintas zonas del mismo cuello uterino, por lo que pueden visualizarse múltiples zonas de madurez muy dispar en el epitelio escamoso metaplásico, con o sin islotes de epitelio cilíndrico. El epitelio metaplásico adyacente a la UEC es inmaduro, mientras que el epitelio metaplásico maduro se encuentra cerca de la UEC original.

❖ Zona de Transformación. La zona del cuello uterino donde el epitelio cilíndrico ha sido reemplazado o está reemplazándose por el nuevo epitelio escamoso metaplásico se denomina zona de transformación (ZT). Corresponde al área del cuello uterino limitada distalmente por la UEC original y proximalmente por el límite más lejano del epitelio metaplásico, definido por la nueva UEC. En las mujeres premenopáusicas, la zona de transformación está plenamente ubicada en el exocérnix. A partir de la menopausia, el cuello uterino se reduce de tamaño, conforme descienden los niveles de estrógeno y en consecuencia, la zona de transformación puede desplazarse, parcialmente o totalmente al conducto cervical. Identificar la zona de transformación tiene gran importancia en la colposcopia, pues casi todas las manifestaciones de carcinogénesis cervical ocurren en esta zona.

1.2.2. Cáncer Cervical. La organización mundial de la salud incluye como tumores del cuello uterino a todas las neoplasias primarias benignas y malignas subdivididas según la histología en epiteliales, mesenquimales, mixtas (epiteliales y mesenquimales), melanocíticas, linfoides/hematopoyéticas, misceláneas, y finalmente; bajo la denominación de tumores secundarios, considera las lesiones metastásicas. [TAVASSOLI_03]

Sin embargo, cuando hacemos referencia al término “cáncer cervical” generalmente nos limitamos a las lesiones epiteliales malignas infiltrantes y especialmente, al carcinoma escamocelular debido a su alta incidencia (60 al 80% de los casos diagnosticados).

❖ Epidemiología. Para 1990, el cáncer cervical comprendía el 10% de los cánceres en mujeres con un cálculo aproximado para el año 2000 de 470.606

nuevos casos y 233.372 defunciones a nivel mundial; localizándose en tercer lugar de frecuencia en países en desarrollo [FERLAY_00]. [COX_06].

Para América, se pronosticaron aproximadamente 92.136 nuevos casos y 37.640 defunciones, de las cuales el 83.9% y 81.2% corresponderían a América Latina y el Caribe, respectivamente; situándonos entre las tasas más altas a nivel mundial, superadas únicamente por África y Melanesia. [LEWIS_04]. Figura 1.6.

En nuestro país, para el mismo año; se reportaban 5.901 casos nuevos por año y 2.339 defunciones, con tasa de incidencia de 32,9 y tasa de mortalidad de 13,7 - estandarizadas por edades por cada 100.000 habitantes- [LEWIS_04]. Para el 2006, el cáncer cervical es la segunda causa de muerte por neoplasia en mujeres colombianas (16 x 1000.000). [SIERRA_06].

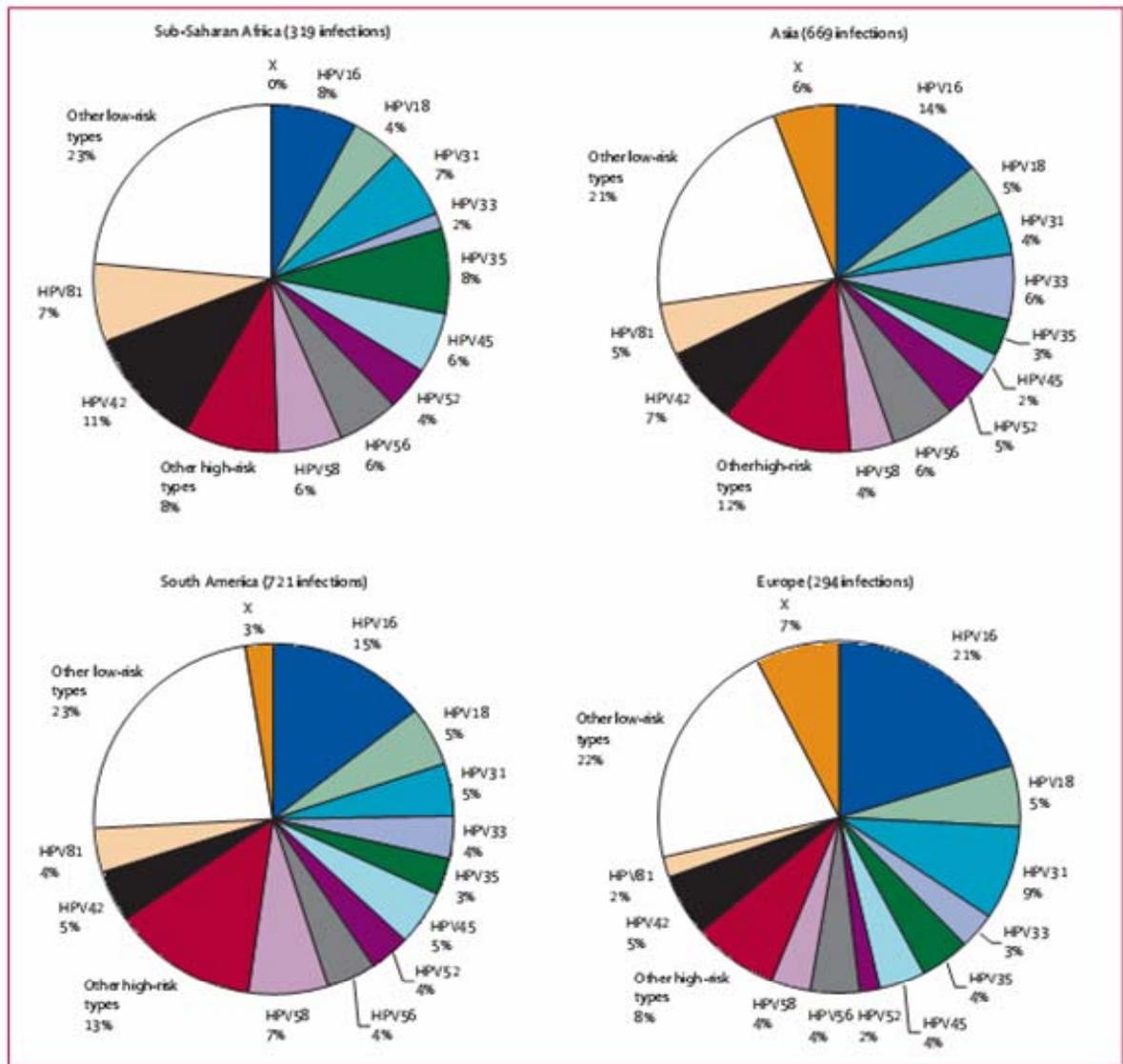
Durante los últimos cuarenta años, la reducción en la incidencia de cáncer cervical ha dado lugar a tasas significativamente bajas, inferiores a 10 casos por cada 100.000 mujeres en Canadá, Estados Unidos y otros países desarrollados, pero en la mayoría de los países de América Latina y el Caribe las tasas anuales de cáncer se mantienen altas, generalmente por arriba de 20 casos por cada 100.000 mujeres. Estas variaciones de incidencia y mortalidad pueden relacionarse con diferencias en el acceso y calidad de los servicios de salud, la ubicación geográfica, situación socioeconómica, educación, aspectos culturales y psicosociales de las poblaciones. [LEWIS_04].

Igualmente, las tasas de supervivencia del cáncer cervicouterino, son significativamente más bajas en los países en desarrollo. Para los EEUU, la tasa de supervivencia se sitúa en 70.1 en contraste con el 28 a 64.9 % de los países subdesarrollados. [LEWIS_04].

El Virus del Papiloma Humano (VPH), desempeña un rol fundamental en la carcinogénesis del cérvix. La proporción de mujeres infectadas, así como, los tipos específicos de VPH que poseen, varían significativamente en los diversos estudios poblacionales. Figura 1.7. y Tabla 1. 1.

La prevalencia de VPH varía casi 20 veces; desde 1.4% (95% CI 0.5 a 2.2) en España a 25.6% (22.4-28.8) en Nigeria y es 5 veces más alta en África Sub-Sahariana que en Europa con una prevalencia intermedia en Suramérica y Asia. El VPH 16, es el tipo más común seguido del VPH 42, 58, 31, 18, 56, 81, 35, 33 y 45. [CLIFFORD_05].

Figura 1.7. Infección por VPH según tipo y región. Estudio IARC HPV.

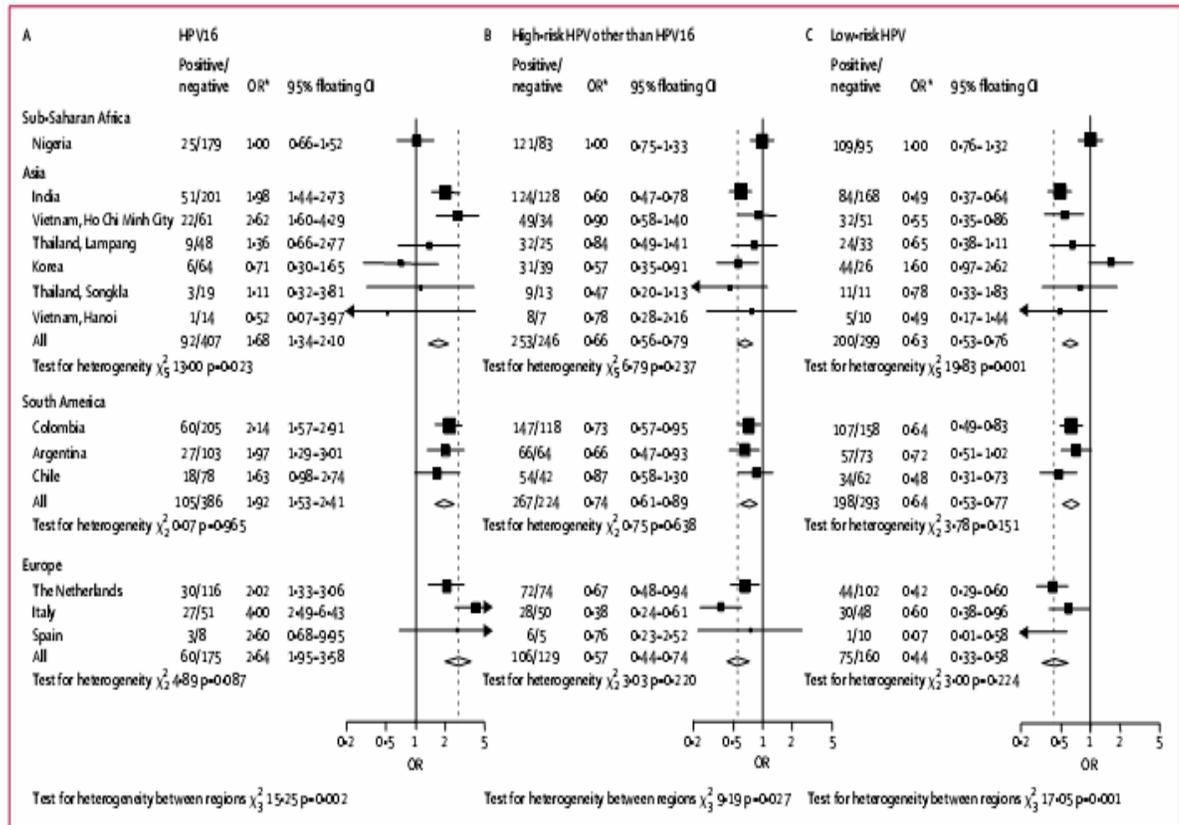


Fuente: GM CLIFFORD, S GALLUS, R HERRERO, N MUÑOZ, et al. "Worldwide distribution of human Papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis". Lancet 366: 991–98.2005.

La prevalencia de la infección por VPH también varía con la edad; por ejemplo, en EEUU, el 64% de las adolescentes sexualmente activas (mediante TEST de DNA-HPV); el 36% de las mujeres jóvenes y el 2.8% de las mujeres mayores de 45 años presentan VPH. [COX_06]. Afortunadamente, el 80% de las mujeres jóvenes

que contraen VPH presentan infecciones transitorias que se resuelven en el espacio de 12 a 18 meses. [SPENCE_05]. [CLIFFORD_05]. Tabla 1.2.

Tabla 1.1. Frecuencia de infección por HPV según tipo y región. Estudio IARC HPV.



Fuente: GM CLIFFORD, S GALLUS, R HERRERO, N MUÑOZ, et al. "Worldwide distribution of human Papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis". Lancet 366: 991-98.2005.

❖ Etiología del Cáncer Cervical. El Virus del Papiloma Humano (VPH) es el principal agente etiológico implicado en el desarrollo de cáncer de cérvix. Se estima que el 95% de las lesiones premalignas y malignas escamosas del cérvix son causadas por el VPH y la prevalencia del VPH en el cáncer infiltrante es del 99.7%. [SPENCE_05], [LEDGER_05], [COX_06].

Esta vinculación etiológica del VPH ha sido determinada por estudios estadísticos que demuestran la presencia de DNA viral en especímenes con cáncer cervical, el aumento de 70 veces el riesgo relativo (RR) de cáncer cervical con la presencia de infección de VPH de alto riesgo y RR de 10 para mujeres con infección por VPH en estudios de cohortes. [GENDER_99], [MUÑOZ_00], [CHICHAREON_00], [WOODMAN_01], [FECHNER_05].

Tabla 1.2. Edad de Distribución, prevalencia cruda y estandarizada de infección por VPH en mujeres sin anomalías citológicas. Estudio IARC HPV.

	Number in age-group (years)							HPV prevalence				Age-standardised* prevalence for any HPV (95% CIs)
	15-24	25-34	35-44	45-54	55-64	65-74	Total	Single HPV	Multiple HPV		Number with any HPV (%)	
									2	≥3		
Sub-Saharan Africa												
Nigeria	113	174	125	172	151	91	826	16.5%	5%	3.3%	204 (24.7%)	25.6% (22.4-28.8)
Asia												
India	321	804	424	215	35	0	1799	11.5%	2.1%	0.4%	252 (14.0%)	14.2% (12.0-16.4)†
Vietnam, Ho Chi Minh	157	170	182	154	160	80	903	5.3%	2.0%	1.9%	83 (9.2%)	10.6% (0.7-24)
Thailand, Lampang	122	171	167	154	180	160	954	4.3%	1.2%	0.5%	57 (6.0%)	7.2% (5.3-9.2)
Korea	7	141	258	228	156	31	821	6.9%	0.9%	0.7%	70 (8.5%)	13.3% (4.7-21.9)
Thailand, Songkhi	67	110	119	124	140	98	658	2.7%	0.5%	0.2%	22 (3.3%)	3.6% (1.9-5.4)
Vietnam, Hanoi	122	182	181	162	210	108	965	1.2%	0.2%	0.1%	15 (1.6%)	1.6% (0.7-2.4)
Sub-total Asia												8.7% (7.9-9.5)
South America												
Colombia	412	728	477	97	65	37	1816	10.4%	2.8%	1.4%	265 (14.6%)	13.9% (12.1-15.7)
Argentina	139	182	184	180	105	49	839	8.9%	3.3%	3.2%	130 (15.5%)	16.3% (13.7-18.9)
Chile	118	178	210	165	152	68	891	8%	2.2%	0.6%	96 (10.8%)	11.9% (9.6-14.3)
Sub-total South America												14.3% (13.1-15.5)
Europe												
Netherlands	26	432	994	1138	696	13	3299	3.4%	0.8%	0.3%	146 (4.4%)	7.7% (4.1-11.3)
Italy	0	219	224	225	228	101	997	6.9%	0.8%	0.1%	78 (7.8%)	9.2% (7.5-11.0)†
Spain	150	144	161	142	140	108	845	1.0%	0.4%	0.0%	11 (1.3%)	1.4% (0.5-2.2)
Sub-total Europe												5.2% (4.2-6.2)
All areas	1754	3635	3706	3156	2418	944	15613	6.6%	1.7%	0.9%	1429 (9.2%)	10.5% (9.9-11.0)

Based on world standard population reported by Doll and colleagues. †For women aged 15-64 years only. ‡For women aged 25-74 years only.

Table 1: Age distribution, crude and age-standardised prevalence of HPV in women without cervical abnormalities in IARC HPV prevalence surveys by study area

Fuente: GM CLIFFORD, S GALLUS, R HERRERO, N MUÑOZ, et al. "Worldwide distribution of human Papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis". Lancet 366: 991-98.2005.

Estudios multicéntricos más recientes, como el liderado por la Internacional Agency for Research on Cancer (IARC), estimó una odds ratio entre HPV-DNA y Carcinoma Escamocelular Cervical entre 109 y 277 [MUÑOZ_03] y una revisión extensa de la literatura realizada por [BOSCH_02] empleando los criterios de

causalidad de Hill, muestra la relación más fuerte existente hasta el momento entre un factor etiológico y un cáncer humano.

El VPH es un virus epiteliotrófico con amplia distribución y altamente especie-específico sin infección cruzada; el cual pertenece a la familia papovaviridae. Debido a la alta conservación de las proteínas antigénicas de la cápside viral entre las especies, el VPH no se clasifica en serotipos; sino se divide, en genotipos y subtipos. Se requiere que exista divergencia mínimo del 10% en el DNA de un virus comparado con un tipo previamente clasificado por hibridación del DNA, para que pueda ser considerado como nuevo. Actualmente, se han descrito en humanos más de 130 tipos de VPH. [TJOUNG-WON_95], [STOLER_00] [FECHNER_05].

El grupo epidermotrópico incluye el VPH 1 (agente etiológico de las verrugas plantares), HPV 2 y HPV 4 (hallados en las verrugas comunes) y un gran grupo mayor de 20 tipos asociados a la Epidermodisplasia Verruciforme. [STOLER_00], [SPENCE_05].

El grupo mucosotrópico se divide tradicionalmente de acuerdo al riesgo de progresión a cáncer en bajo, intermedio y alto riesgo. Los tipos 6, 11, 26, 42, 43, 44, 53, 54, 55, 62 y 66 incluidos en el grupo de bajo riesgo, producen verrugas genitales (se encuentra VPH 6 y 11 en el 90% de estos casos) y se asocian a LSIL. Por el contrario, los tipos HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 58, 59, 67 y 68 se encuentran en HSIL y cánceres invasores. Los tipos 16 y 18 están presentes en casi el 70% de los carcinomas infiltrantes del cérvix. [STOLER_00], [FECHNER_05], [SPENCE_05].

Sin embargo; hoy en día se considera incorrecto limitar las infecciones por VPH de bajo riesgo a las LSIL dado que estudios recientes, como el análisis del “Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion Triage Study -ATLS-“correspondiente a 642 mujeres con LSIL por Hybrid Capture II, mostró que el 82.9% de la población tenía infección por VPH de alto riesgo (Intervalo de confianza del 95% = 79.7 a 85.7%). Esta alta frecuencia fue confirmada con PCR de un subgrupo de 210 pacientes con 100% de concordancia. [RICHART _98]

El genoma del VPH está compuesto por una doble cadena circular de DNA de 8000 pares de bases en el que se identifican tres regiones diferentes: la Región Temprana (ER del inglés Early Region), la región tardía (LR del inglés Late Region) y la Región de Control Larga (LCR del inglés Long Control Region o URR

del inglés Noncoding Upstream Regulatory Region). [TJOUNG-WON_95], [STOLER_00], [SPENCE_05], [VILLA_06]. Figura 1.8.

La URR esta compuesta por aproximadamente 1000 pares de bases adyacentes al sitio de inicio de la replicación viral, entre la ER y la LR. Esta región no codifica proteínas pero contiene complejos de unión para activadores y represores transcripcionales (como por ejemplo el AP1 del inglés Activador Protein, el KRF1 del inglés Keratinocitic-specific Trascrption Factor 1 y el NF-I/CTF del inglés Nuclear Factor); así como, secuencias promotoras que juegan un papel crítico en la unión al hospedero. [TJOUNG-WON_95], [STOLER_00], [FECHNER_05], [SPENCE_05].

La ER esta regulada por URR y consiste en seis segmentos de DNA llamados ORFs (del inglés Open Reading Frames) designados como E1, E2, E4, E5 , E6 y E7 que son unidades transcripcionales capaces de codificar proteínas involucradas en la replicación viral -como E1 y E2- y oncoproteínas críticas en la inmortalización de la célula huésped como E6 y E7. [TJOUNG-WON_95], [STOLER_00], [SPENCE_05], [VILLA_06].

El gen E1 codifica dos proteínas requeridas para la replicación extracromosomal del DNA y E2 codifica 2 proteínas que interactúan con E1; sin embargo su mayor papel lo desempeña al actuar en toda su longitud como un activador transcripcional que se une a secuencias específicas del DNA de URR para aumentar la transcripción de la ER. [TJOUNG-WON_95], [STOLER_00], [FECHNER_05].

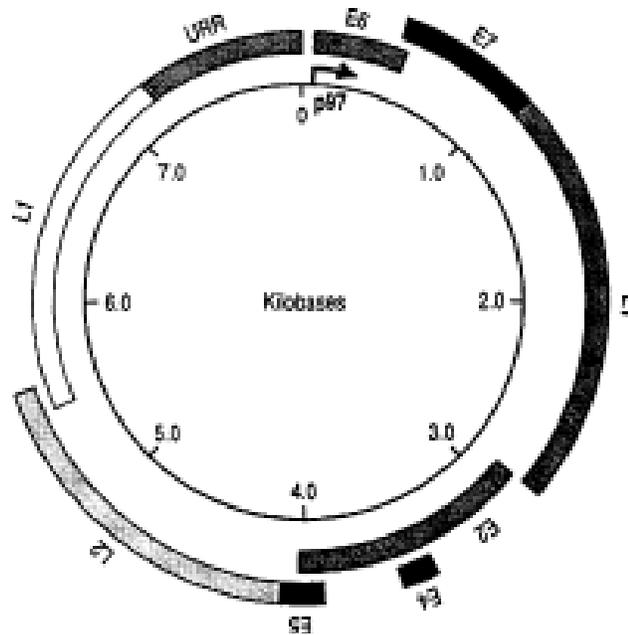
La proteína E4 es importante en la maduración y replicación del virus y se expresa en los estadios tardíos de infección cuando los viriones han sido ensamblados. En los humanos, la proteína E4 del HPV 16 produce el colapso de la red de citoqueratinas citoplasmáticas para facilitar la replicación de las partículas virales y el aspecto microscópico del halo claro perinuclear. [TJOUNG-WON_95], [STOLER_00].

E5 codifica una pequeña proteína que interactúa con receptores de membrana celular y se sugiere que estimula la proliferación de las células infectadas; sin embargo existe controversia sobre el papel de E5 en la carcinogénesis, debido a la pérdida de su expresión durante la integración viral. [TJOUNG-WON_95], [FECHNER_05]. Sólo los tipos de VPH de alto riesgo producen las oncoproteínas E6 y E7. [TJOUNG-WON_95], [STOLER_00], [VILLA_06].

La LR contiene dos ORFs denominados L1 y L2 los cuales codifican las proteínas de la cápside viral. L1 codifica la proteína mayor de la cápside y es altamente

conservada; por lo que se usa en la elaboración de anticuerpos para HPV tipo específico y tanto L1 como L2 se emplean como antígenos para la elaboración de vacunas. [STOLER_00], [BIDDLECOM_05], [FECHNER_05], [AULT_06], [HARPER_06].

Figura 1.8. Organización Genómica del VPH.



Fuente: KURMAN R J. "Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract". New York: Springer Verlag, 5ta edición. 2002. ISBN: 0387952039.

Funciones transformantes del VPH. El VPH infecta las células basales o "stem" en la zona de transformación donde su expresión genética es inhibida, manteniendo la programación morfológica y molecular de maduración epitelial cervical y por tanto el aspecto microscópico usual. [FECHNER_05].

La "producción genética del VPH" sólo es permitida en la zona intermedia donde empieza la maduración celular y se pierde el potencial proliferativo. Se da inicio a la expresión de las regiones tempranas del genoma viral y a medida que las células se diferencian, se produce la síntesis de DNA viral, llegando a la producción de viriones justo cerca de la superficie epitelial. [STOLER_00], [FECHNER_05]. El DNA del VPH puede encontrarse episomal (molécula circular monomérica o plásmido extracromosómico) como usualmente es observado en las lesiones cervicales de bajo grado o integrado al DNA cerca de oncogenes

como c-myc y N-myc, en el núcleo de las células infectadas donde genera la inestabilidad genómica o la activación de oncogenes, dando paso al desarrollo de lesiones cervicales de alto grado. Se requiere la disrupción de las regiones E1-E2 que codifican la transcripción de proteínas regulatorias para que el genoma del HPV se integre a la célula huésped y se sobreexpresen las proteínas de los ORFs E6 y E7 que son similares a la ciclina D1 de las células humanas. [TJOUNG-WON_95], [STOLER_00], [FECHNER_05], [VILLA_06].

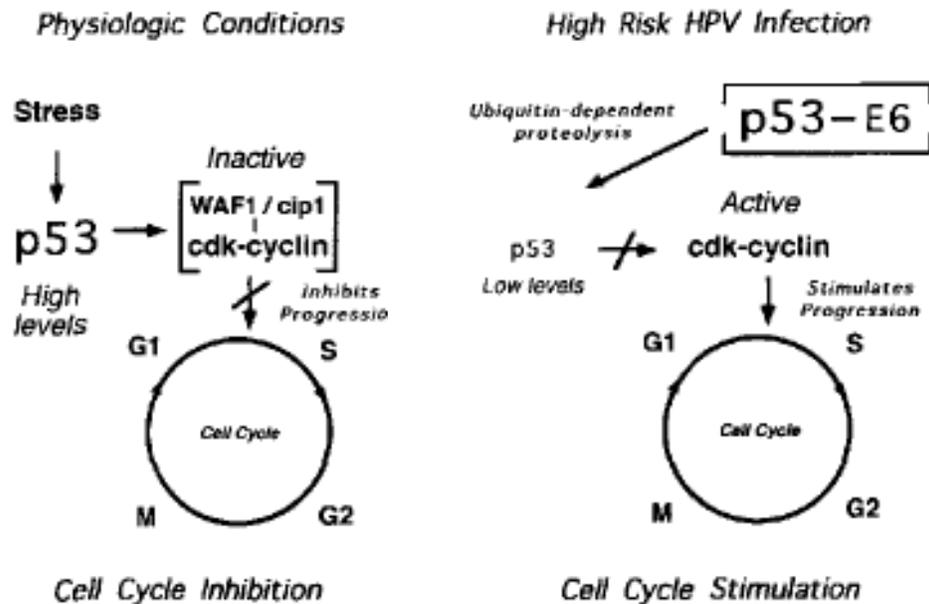
El ORF E6 codifica una proteína unida a zinc de aproximadamente 150 aminoácidos llamada E6AP (Del inglés E6-Associated Protein) la cual se une y degrada el p53 de la célula a través del sistema proteolítico de la Ubiquitina. [STOLER_00], [FECHNER_05], [SPENCE_05].

En condiciones normales el p53 es una proteína nuclear que regula negativamente el crecimiento y la división celular. Cuando se observa daño del DNA celular se acumula el p53 y se inactiva el WAF1/cip1 (Inhibidor de Ciclina dependiente de Quinasa) sinónimo de p21, para inducir el arresto en G1 y permitir la reparación celular. Cuando se disminuyen los niveles de p53 por efecto de E6AP, se producen altos niveles de WAF1/cip1 permitiendo la progresión del ciclo celular y la acumulación de mutaciones genéticas. Adicionalmente, otros posibles mecanismos de acción de E6, es la disrupción del complejo p53-DNA con desregulación transcripcional – transactivación del p53 vs. la pérdida de la afinidad de la unión p53-DNA- los cuales se encuentran en estudio. [TJOUNG-WON_95], [KURMAN_02], [FECHNER_05]. Figura 1.9.

La proteína E7 codifica una fosfoproteína nuclear unida a zinc de aproximadamente 98 aminoácidos la cual posee sitios de unión al gen Rb, (del inglés Retinoblastoma Gene Product) y proteínas relacionadas como p107 y p130. [STOLER_00],[FECHNER_05] , [SPENCE_05]. Figura 1.10.

En las células normales, las formas hipofosforiladas de la proteína Rb, p107 y p130 forman complejos con los factores de transcripción de la familia E2F. La unión de Rb-E2F es regulada por la acción de ciclinas dependiente de Quinasas del ciclo celular. En la fase G0 y G1 del ciclo celular, el complejo es regulado negativamente por represión de la transcripción de E2F dependiente de genes. En este grupo se encuentran proteínas requeridas para la síntesis de DNA como Timina Quinasa, Dihidrofolato Reductasa y la DNA α -polimerasa; así como, los protooncogenes c-myc y N-myc. Para que la célula progrese de G1 a S se requiere la disociación del complejo Rb-E2F. La E2F liberada, estimula la transcripción de genes dependientes-E2F necesarios para la replicación del DNA. [KURMAN_02], [VILLA_06].

Figura 1.9. Efecto de la unión de E6 al P53.



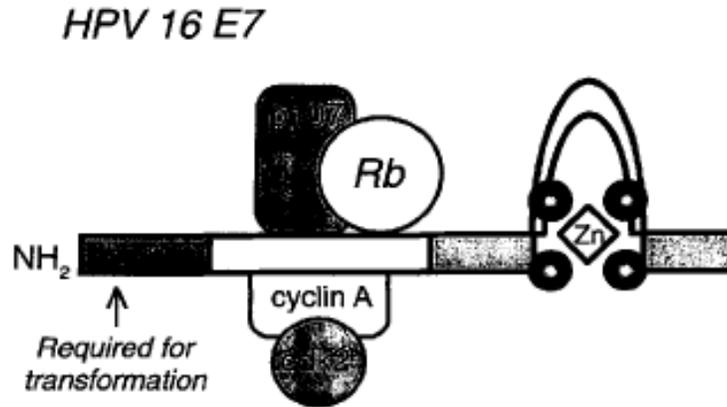
Fuente: KURMAN R J. "Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract". New York: Springer Verlag, 5ta edición. 2002. ISBN: 0387952039.

La importancia de la unión Rb-E7 radica en la alta afinidad observada en los tipos de VPH de alto riesgo; así como, la marcada estimulación del ciclo celular. [TJOUNG-WON_95]. Figura 1.11.

Por último; queda el interrogante: ¿Por qué se desarrollan las lesiones de alto grado a partir de lesiones de bajo grado donde la expresión genética del VPH esta regulada? La respuesta está en el desacople entre la diferenciación de la célula huésped y la expresión temprana de la genética viral. Los oncogenes E6 y E7 son inapropiadamente expresados en las células epiteliales con capacidad replicativa debido a una pérdida temprana de la regulación por E2. ¿Cómo ocurre esta incoordinación? Aún no se conoce; pero, debe ser un evento inusual, dada la relativa baja frecuencia -si comparamos las frecuencias de LSIL con las de HSIL-.

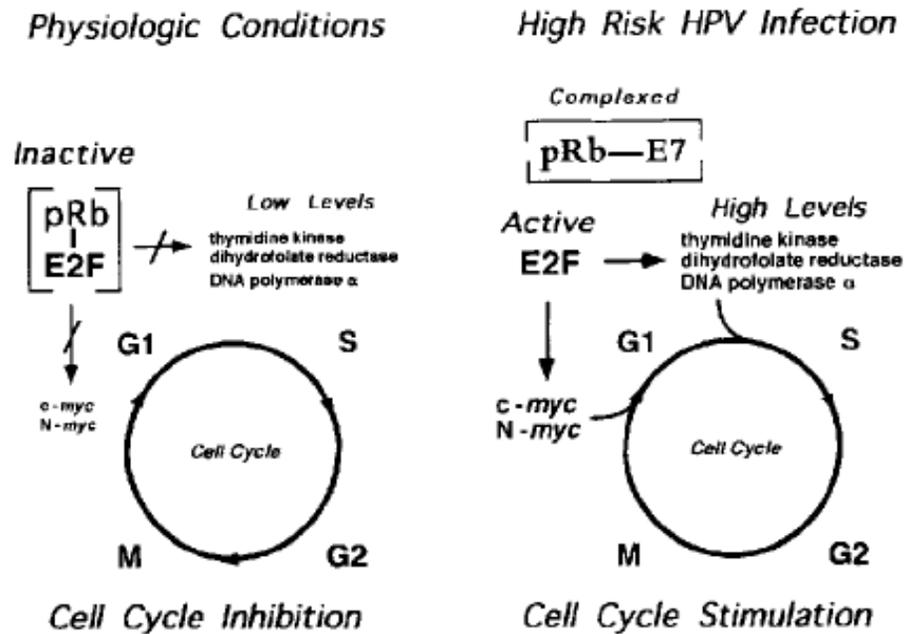
En teoría, la sobreexpresión precoz de E6 y E7 aumenta el riesgo de alteraciones genéticas adicionales que bajo la influencia de mutágenos externos y la predisposición del hospedero promuevan el desarrollo del cáncer. [FECHNER_05].

Figura 1.10. Estructura de la Proteína E7 del VPH 16.



Fuente: TJOUNG-WON P, HISAYA F, WRIGHT T. "Molecular Biology of Cervical Cancer and its precursors". Cancer supplement 76:10.1902-13. 1995.

Figura 1.11. Efecto de la unión E7 al Rb.



Fuente: KURMAN R J. "Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract". New York: Springer Verlag, 5ta edition. 2002. ISBN: 0387952039.

❖ Futuro de la investigación sobre VPH. Investigaciones recientes muestran la expresión aumentada de oncogenes por tipos de VPH de alto riesgo en la displasia y cáncer cervical, resultando en la sobre expresión específica del p16^{INK4a} evidenciada mediante anticuerpos monoclonales específicos. Estudios preliminares reportan en el 100% de las lesiones de alto grado y cánceres infiltrantes expresión de altos niveles de p16^{INK4a}, con ausencia de inmunomarcación en el epitelio cervical no displásico. Este hallazgo, permitiría la identificación de células displásicas con alta sensibilidad, especificidad, reproducibilidad y muy buen potencial diagnóstico. [FECHNER_05].

Igualmente, se avanza en el desarrollo de vacunas profilácticas para el VPH: una vacuna VPH 16 usando la proteína de la cápside L1 (VLP) en Fase II mostró efectividad del 100% para prevenir el desarrollo de SIL. [KOUTSKY_02]. Otra vacuna bivalente VPH 16/18 ha mostrado efectividad similar [HARPER_04] y una vacuna tetravalente VPH 6/11/16/18 en fase III previno 90% de verrugas genitales y casi 70% de los cánceres cervicales. [FECHNER_05], [COX_06].

❖ Otros factores de riesgo. El desarrollo del cáncer cervical se encuentra relacionado con la vida sexual. [STOLER_00]. El primer coito antes de los 18 años – OD 2.8 -, el número de compañeros sexuales y el comportamiento sexual de la pareja masculina son reconocidos factores de riesgo; pero en últimas relacionados con la adquisición del VPH. [MATOS_05], [SPENCE_05], [COX_06].

Aunque se considera necesaria la infección por VPH para el desarrollo de cáncer, los largos periodos de latencia entre la infección por VPH y el desarrollo del mismo; la evidencia de mujeres infectadas por VPH de alto riesgo que no desarrollan cáncer, [TJOUNG-WON_95] y el aclaramiento de las infecciones por VPH hasta en el 80% de las mujeres jóvenes en lapsos de 12 a 18 meses -debido a la respuesta inmune mediada por linfocitos T citotóxicos-; se sugiere la necesidad de otros cofactores. [SPENCE_05].

Hoy en día se aceptan como cofactores el tabaquismo, el uso prolongado de anticonceptivos orales, las enfermedades de transmisión sexual no-VPH; además de factores endógenos como la respuesta inmune del hospedero, el primer embarazo antes de 21 años – OD de 2.6 - y la alta paridad – OD 1.9-. [CASTLE_04]. Estos últimos relacionados con la inmunosupresión fisiológica del embarazo que facilita la infección por VPH. [STOLER_00], [SPENCE_05]. [COX_06].

La nicotina y sus derivados, son agentes ambientales carcinogénicos de acción directa que disminuyen la población de células T CD4+ -invirtiendo la relación CD4+/CD8+- alterando la respuesta inmune in vivo e in vitro, y poseen la capacidad de inhibir la apoptosis epitelial. Estudios recientes sobre la exposición al humo de tabaco proveen evidencia que los fumadores pasivos también presentan mayor riesgo de cáncer cervical. [STOLER_00], [LEWIS_04]., [SPENCE_05], [COX_06].

El uso prolongado de anticonceptivos orales (más de 5 años) aumenta el riesgo 2 veces - incluso hasta 4 veces si su uso se extiende a 10 años- de desarrollar cáncer cervical. La razón; la presencia de esteroides, los cuales pueden activar eventos relacionados con la oncogénesis viral que promueven la integración del DNA viral al hospedero. [SPENCE_05],[LEWIS_04]., [COX_06].

En América latina, mujeres seropositivas para HSV-2 (del inglés Herpes simples virus – 2) e infección concomitante con VPH 16 o 18 tienen incremento de 2 veces el riesgo de desarrollar CA comparadas con las mujeres que solo tenían la infección por VPH. [MUÑOZ_92], [TJOUNG-WON_95], [SPENCE_05].

El incremento del riesgo de cáncer cervical en mujeres infectadas con el Virus de Inmunodeficiencia adquirida (VIH) ha sido ampliamente demostrado mediante investigaciones de casos y controles tanto en América como en Europa; por ejemplo, el estudio de Conti et al, (Italia, 1993) que muestra SIL en 42% de las mujeres infectadas con VIH vs. 8% de las sanas; o el realizado por Wright, et al. (Nueva York, 1994) que muestra LSIL confirmada por biopsia en el 13% de las mujeres infectadas con VIH vs. 4% de las sanas ($p < 0.001$) y HSIL confirmada por biopsia en el 7% de las mujeres infectadas con VIH vs. 1% de las sanas ($p < 0.001$). Hoy día se considera que mujeres con VIH tienen 4 veces mas riesgo de infectarse con VPH de alto riesgo que las mujeres sin infección por VIH y obviamente, las pacientes HIV - VPH positivas poseen mayor riesgo de progresión tumoral. [KUHN_99].Estos hallazgos llevaron a la inclusión del cáncer cervical como neoplasia asociada al HIV-SIDA por la CDC en enero de 1993. [KUHN_99].

Finalmente, se ha demostrado mediante estudios prospectivos poblacionales multicéntricos que el grado de inmunosupresión; así como, el tratamiento antiretroviral puede modificar la evolución de la enfermedad. Las mujeres con conteo de CD4+ menor de $200 \times 10^6/L$ poseen un incremento de 2 veces en la incidencia, prevalencia, y ausencia de regresión de SIL que las mujeres con conteo de CD4+ mayor de $> 500 \times 10^6/L$; además de baja respuesta al tratamiento para HSIL.

Este incremento del riesgo de SIL con conteo de CD4+ mayor de $200 \times 10^6/L$, también se incrementa en las pacientes que no reciben tratamiento vs. quienes lo reciben. [DELMAS_00]

❖ Alteraciones genéticas y Cáncer cervical. Los estudios citogenéticos desarrollados muestran alteraciones cromosómicas estructurales y numéricas complejas sin especificidad de cariotipo o rearrreglos para el cáncer cervical hasta en el 95% de los casos; sin embargo, [SREEKANTAIAH_88] observó pérdida total del cromosoma 1 en el 54% de los casos; así como, deleciones, isocromosomas y traslocaciones -entre el cromosoma 1 y el 3- con compromiso de las regiones 1p11-p13 y 1p21-q32. Adicionalmente, se mencionan alteraciones ocasionales de los cromosomas 4, 5, 6, 11, 13, 17, 18 y 21. [TJOUNG-WON_95].

También se reporta, pérdida de la heterocigocidad en múltiples regiones cromosómicas en SIL (3p, 5p, 5q, 6p, 6q, 11q, 13q y 17q) y en cáncer cervical invasor (3p, 6p, 6q, 11q, 17p y 18q y menos frecuentemente en el 1, 4, 10, y X). [TJOUNG-WON_95], [TAVASSOLI_03].

Un estudio colombiano desarrollado por [SIERRA_06] en Bogotá D.C. mostró que el polimorfismo GSTT1 posee un pequeño riesgo para desarrollar HSIL. (OR 1.4, 95% CI = 0.57 – 3.44).

❖ Características clínicas del cáncer cervical. Los carcinomas invasores tempranos son asintomáticos. A medida que el tumor crece y se hace exofítico, se presenta más comúnmente descarga y/o sangrado vaginal. El compromiso de los parametrios y la extensión lateral tumoral, lleva a obstrucción de los uréteres. Si la obstrucción es bilateral la paciente desarrolla insuficiencia renal. La infiltración tumoral de la pared pélvica causa dolor y menos comúnmente, linfaedema de los miembros inferiores; mientras que, la extensión a la vejiga puede originar hematuria, polaquiuria, retención urinaria, obstrucción y eventualmente, fístulas vesico-vaginales. La extensión posterior al recto, produce dolor, tenesmo y fístulas rectovaginales [KURMAN_02], [TAVASSOLI_03].

❖ Lesiones precursoras del Carcinoma Escamocelular del Cérvix. El concepto de precursores del cáncer cervicouterino se remonta al final del siglo XIX, cuando se reconocieron zonas de cambios epiteliales atípicos no invasores en muestras de tejidos adyacentes a cánceres invasores.

El término Carcinoma in Situ (CIS) se introdujo en 1932 para denotar las lesiones en las cuales las células carcinomatosas indiferenciadas abarcaban todo el espesor del epitelio, sin interrumpir la membrana basal [BRODERS_32].

El término Displasia se introdujo a fines de los años cincuenta para designar la atípia epitelial cervical intermedia entre el epitelio normal y el CIS [REAGAN_53]. La displasia se categorizó en tres grupos — leve, moderada y severa — según el grado de afectación de la capa epitelial por las células atípicas.

Al realizar el diagnóstico se evaluaban diversas anomalías nucleares como el aumento de la relación núcleo/citoplasma, la hiperchromasia, el polimorfismo y la variación del tamaño nuclear (anisocariosis). Las figuras mitóticas de las células en división son poco frecuentes en el epitelio normal y, cuando existen, se ven solo en la capa parabasal. Conforme se incrementa la gravedad de la displasia aumenta el número de figuras mitóticas, que pueden verse en las capas epiteliales superficiales.

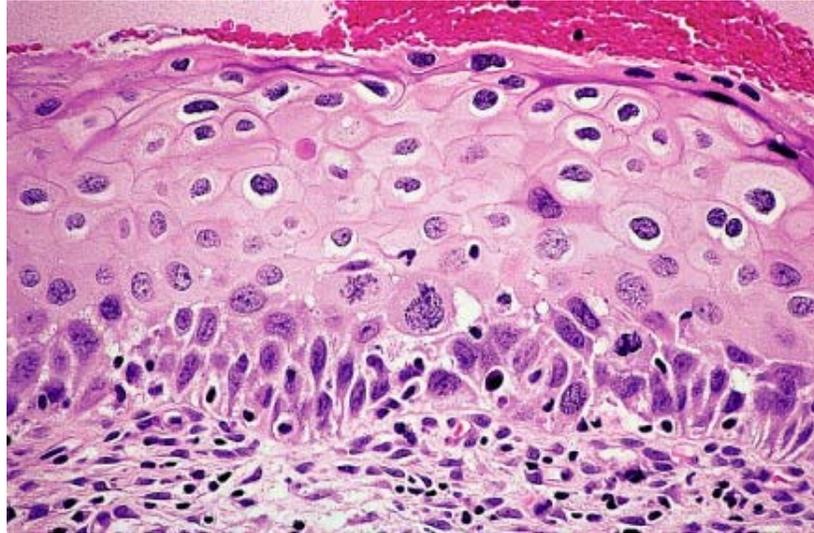
Posteriormente, se determinó una correlación directa entre progresión y grado histológico. Estas observaciones condujeron al concepto de un único proceso mórbido continuo en el que el epitelio normal evoluciona a lesiones epiteliales precursoras y a cáncer invasor. Sobre la base de dichas observaciones, en 1968 se introdujo el término de Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC) para denotar las múltiples posibilidades de atípia celular confinada al epitelio.

La NIC se dividió en los grados 1, 2 y 3 [RICHART_73]. El grado NIC 1 corresponde a la displasia leve y se caracteriza por la presencia de maduración, con mínimas anomalías nucleares y pocas figuras mitóticas. Las células indiferenciadas se encuentran en las capas epiteliales más profundas (tercio inferior). Figura 1.12.

El NIC 2 corresponde a la displasia moderada y se caracteriza por cambios celulares displásicos restringidos a la mitad o los dos tercios inferiores del epitelio, con anomalías nucleares más marcadas que en el NIC 1. Pueden verse figuras mitóticas en la mitad inferior del epitelio. Figura 1.13.

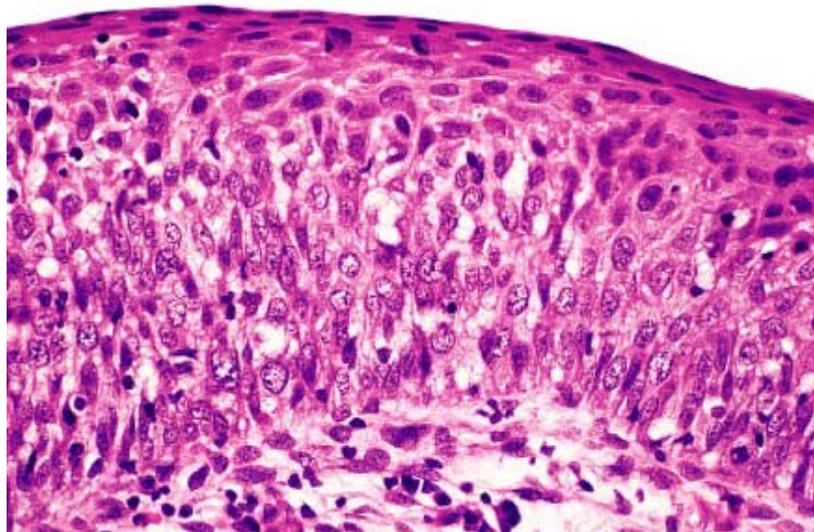
El NIC 3 incluye la displasia severa y al CIS. En estas lesiones la diferenciación y la estratificación pueden faltar por completo o existir solo en el cuarto superficial del epitelio, con abundantes figuras mitóticas. Las anomalías nucleares aparecen en todo el espesor del epitelio. Muchas figuras mitóticas tienen formas anormales. Figura 1.14.

Figura 1.12. Histología del NIC 1



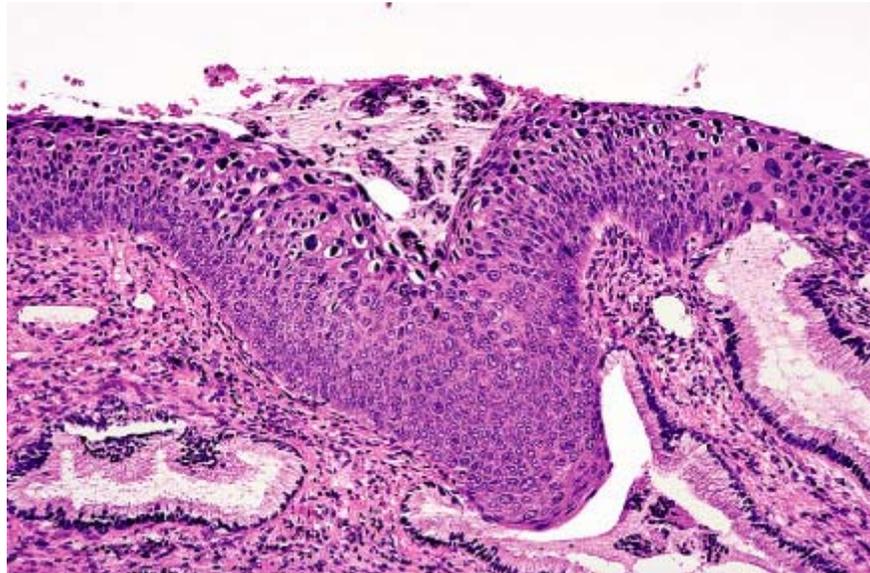
Fuente: ROSAI J. "Rosai and Ackerman's Surgical Pathology". Mosby, 9ª edición. 2004. ISBN: 03230133422.

Figura 1.13. Histología del NIC 2



Fuente: ROSAI J. "Rosai and Ackerman's Surgical Pathology". Mosby, 9ª edición. 2004. ISBN: 03230133422.

Figura 1.14. Histología del NIC 3



Fuente: ROSAI J. "Rosai and Ackerman's Surgical Pathology". Mosby, 9ª edición. 2004. ISBN: 03230133422.

En los años ochenta se reconocieron otras alteraciones anatomopatológicas como la atípicia coliocítica o condilomatosa asociada a la infección por Virus del Papiloma Humano (VPH). Posteriormente, en 1990 se propuso una terminología histopatológica basada en dos grados de la enfermedad: por un lado, NIC de bajo grado, que comprendía a las anomalías compatibles con atípicia coliocítica y el grado NIC 1 anteriormente explicado, y por otro, NIC de alto grado que comprendía a los grados NIC 2 y NIC 3.

Finalmente, en 1988, el Instituto Nacional del Cáncer de los EE.UU. convocó un seminario para proponer un nuevo esquema de presentación de los resultados de la citología cervical. Las recomendaciones hechas entonces y su revisión en un segundo seminario celebrado en 1991 fueron denominadas Sistema Bethesda (TBS).

La característica principal del TBS fue la creación del término "lesión intraepitelial escamosa" (LIE), con dos grados: Lesiones de Bajo Grado (L-LIE) y Lesiones de Alto Grado (H-LIE). La clasificación TBS combina los cambios condilomatosos planos (VPH) y el NIC de bajo grado (NIC 1) en la categoría L-LIE; mientras el H-LIE abarca los NIC más avanzados, como el NIC 2 y NIC 3. El TBS fue

diseñado para la notificación citológica, pero se emplea también para comunicar resultados histopatológicos.

El TBS se reevaluó y revisó en un seminario celebrado en el 2001 convocado por el Instituto Nacional del Cáncer, de los Estados Unidos y copatrocinado por 44 sociedades profesionales de más de 20 países. [SOLOMON_04], [SOLOMON_05].

❖ Progresión de las lesiones precursoras del Cáncer Escamocelular del Cérvix. Una evaluación de todos los estudios de la historia natural del Cáncer Cervical realizados entre 1952 y 1992 estimó que el 60% de los NIC 1 regresan a la normalidad, el 30% persisten como NIC 1, y el 10% progresan a NIC 3 y tan solo el 1 % a cáncer invasor. [COX_06].

El NIC 2 regresa en el 30 al 40% de los casos y el 1.44% de los NIC 3 progresa a carcinoma invasor. Un metanálisis más reciente estimó que el 47% de los L-LIE regresan, 21% progresan a HSIL y 0.15% a cáncer. Comparando las L-LIE con las H-LIE la rata de regresión espontánea es menor en las últimas (30 al 40%) y la progresión a cáncer es mayor del 12%. [COX_06].

❖ Clasificación del carcinoma cervical. Clasificación macroscópica. La apariencia macroscópica del cáncer escamocelular es variada. En lesiones tempranas puede ser ulcerada, ligeramente elevada o de aspecto granular. En las lesiones avanzadas; [KURMAN_02] describe dos patrones principales de crecimiento: El exofítico y endofítico con predominio del primero. Figura 1.15.

El patrón exofítico corresponde a lesiones ulceradas o nodulares, que tienden a invadir el canal endocervical y el espesor del órgano. El patrón exofítico adquiere una apariencia polipoide o papilar.

Clasificación microscópica. Los Carcinomas Escamocelulares de Cérvix son heterogéneos. La mayoría, se dispone en bandas o cordones anastomosantes de células tumorales poligonales u ovals con bordes celulares definidos que infiltran el estroma desmoplásico adyacente. En otros casos, las células invaden individualmente o pueden disponerse en sábanas compactas con necrosis y queratinización de predominio central. [KURMAN_02], [TAVASSOLI_03].

Figura 1.15. Apariencia macroscópica del Carcinoma de Cérvix.



Fuente: ROSAI J. "Rosai and Ackerman's Surgical Pathology". Mosby, 9ª edición. 2004. ISBN: 03230133422.

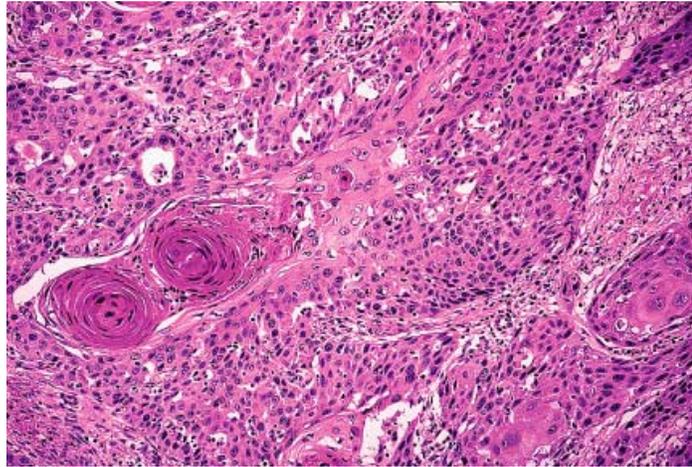
El grado de diferenciación está determinado por la presencia de células grandes que queratinizan para conformar perlas córneas (bien diferenciado) a células pequeñas sin queratinización (pobremente diferenciado) con predominio (60% de los casos) de un espectro celular intermedio (moderadamente diferenciado). [KURMAN_02], [TAVASSOLI_03]. Figura 1.16.

Adicionalmente, existen variantes histológicas (Verrucoso, Basaloide, Warty, Papilar, Linfoepitelioma-like y Escamotransicional) que por sus características microscópicas y variaciones significativas en la probabilidad de recurrencia y metástasis con respecto a la variante clásica deben ser tenidas en cuenta. [KURMAN_02].

El carcinoma verrucoso es un Carcinoma Escamocelular altamente diferenciado, hiperqueratótico con patrón de crecimiento compresivo caracterizado por su mínima invasión, escasa atípia citológica y ausencia de características microscópicas de infección por VPH. Presenta alta tasa de recurrencia local pero

baja de metástasis; por esta razón, se considera de mejor pronóstico que la variante convencional. [KURMAN_02], [TAVASSOLI_03]. Figura 1.17.

Figura 1.16. Apariencia microscópica del Carcinoma Escamocelular Bien Diferenciado del cérvix.



Fuente: ROSAI J. "Rosai and Ackerman's Surgical Pathology". Mosby, 9ª edición. 2004. ISBN: 03230133422.

Figura 1.17. Apariencia microscópica del Carcinoma Verrucoso.

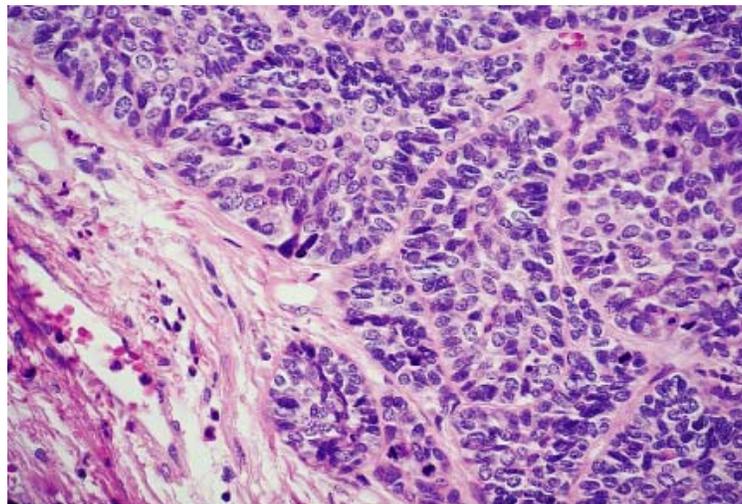


Fuente: ROSAI J. "Rosai and Ackerman's Surgical Pathology". Mosby, 9ª edición. 2004. ISBN: 03230133422.

El Carcinoma de Células Escamosas con Características Basaloides, está compuesto por nidos de células inmaduras, de escaso citoplasma y núcleos monótonos con ocasional queratinización central. Presenta un comportamiento más agresivo que la variante clásica. [KURMAN_02], [TAVASSOLI_03]. Figura 1.18.

El Carcinoma Warty se define como un Carcinoma Escamocelular con características condilomatosas: vacuolización citoplasmática que recuerda atíпия coilocítica. Típicamente se detecta VPH de alto riesgo en estas lesiones. Aunque existe poca experiencia clínica, se consideran menos agresivos que la variante clásica. [KURMAN_02], [TAVASSOLI_03].

Figura 1.18. Apariencia microscópica del Carcinoma de Células Escamosas con Características Basaloides.



Fuente: ROSAI J. "Rosai and Ackerman's Surgical Pathology". Mosby, 9ª edición. 2004. ISBN: 03230133422.

El Carcinoma Papilar está conformado por proyecciones papilares de estroma fibrovascularizado revestidas por epitelio con SIL. Difiere del Carcinoma Warty por la inconspicua queratinización y la ausencia de características de infección por VPH observadas en el último. [TAVASSOLI_03].

El Carcinoma Linfoepitelioma-like es similar al tumor de igual denominación localizado en la nasofaringe y es más frecuente en Asia. Está compuesto por islas pobremente definidas de células indiferenciadas sobre un fondo inflamatorio

severo –predominio de linfocitos T- con aspecto circunscrito. Las células tumorales se disponen en patrón sincitial y exhiben núcleos vesiculosos con prominente nucleolo y citoplasma ligeramente eosinofílico. Se considera de mejor pronóstico que la variante convencional y sólo el 20% se asocia a infección por VPH; por el contrario, en el 73% se reconoce genoma del Virus Epstein – Barr. [KURMAN_02], [TAVASSOLI_03].

Por último, la variante Escamotransicional presenta estructura papilar con tallos fibrovasculares y recubriendo por epitelio tumoral multicapa atípico que recuerda al revestimiento vesical, pero con inmunofenotipo escamoso. (Citoqueratina 7 y 20 positivos). [TAVASSOLI_03].

1.3. MEDIOS DIAGNÓSTICOS DEL CÁNCER CERVICAL

1.3.1. Diagnóstico citológico e histopatológico de las lesiones cervicales: Papanicolaou a Bethesda 2001. El problema básico de la comunicación entre el personal del equipo de salud, es la elección correcta de las palabras; de tal manera que todo lo concerniente a la nomenclatura de las lesiones cervicales no es un asunto banal. La importancia de este hecho está perfectamente ejemplificada por la interminable controversia respecto a los términos que deben ser utilizados para designarlas, lo que ha originado, con el paso del tiempo, una amplia y a veces confusa terminología, utilizándose diferentes denominaciones para una misma lesión o, más rara vez, nombrando con el mismo término lesiones diferentes.

Por otra parte, si exceptuamos la original clasificación numérica de Papanicolaou en 5 clases o grados progresivos (I, II, III, IV, V), por ser exclusivamente citológica, [PAPANICOLAOU_54]; la nomenclatura de los hallazgos en citología ha ido siempre estrechamente ligada a la histológica, de manera que -con esta excepción comentada- la evolución histórica de ambas puede abordarse conjuntamente.

❖ Conceptos precursores. En 1910, Rubin (Nueva York) habla de cáncer incipiente para nombrar el concepto de transformación neoplásica confinada al espesor del epitelio. [RUBIN_10]. En 1912, Schottländer y Kermauner (Berlín) utilizan el término de carcinoma temprano para designar los cambios que observaban en el epitelio adyacente al carcinoma cervical invasor. [SCHOTTLANDER_12].

Veinte años mas tarde, Broders (Nueva York), basándose en su experiencia en Dermatopatología, emplea el término de carcinoma in situ (CIS) al describir este cuadro histológico. [BRODERS_32]. Otros términos utilizados fueron el de enfermedad de Bowen cervical por Lecène (París), también en 1932, y el de carcinoma intraepitelial no invasor por Galvin y Te Linde (Nueva York) en 1933. [LECENE_32], [GALVIN_49].

Pese a la proliferación de estos y otros muchos sinónimos, el término acuñado por Broders es el que ha permanecido para designar estas lesiones caracterizadas por la completa sustitución del epitelio por células anómalas semejantes a las células del carcinoma invasivo. Es de resaltar que, de forma paradójica, en el trabajo inicial del afortunado Broders no figuraba la localización cervical dentro de los ejemplos de CIS.

❖ Sistema Displasia - Carcinoma in Situ. Con la progresiva introducción de la citología y biopsia sistemáticas se vio con claridad que el espectro de anomalías del epitelio cervical era mucho más amplio, siendo frecuentes otros cambios epiteliales menos severos que el CIS.

En 1949, Papanicolaou introduce los términos de «displasia» en histopatología y «discariosis» en citología para designar dichos cambios. Posteriormente, en 1953, Reagan (Cleveland) consagra el término en histopatología cervical al denominar a estas lesiones, menos severas que el CIS, hiperplasias atípicas o displasias, señalando que la mayoría de ellas, dejadas a su evolución, regresan o permanecen inalteradas por mucho tiempo. [REAGAN_53]. Así pues, contrariamente a lo que se pensaba y como bien señala Peluffo en su revisión del tema, es Papanicolaou y no Reagan el que introduce por primera vez el término «displasia» en patología cervical. [PELUFFO_99].

En 1961, en el Primer Congreso Internacional de Citología celebrado en Viena, se acuerda que los términos para designar citológicamente las tres lesiones cervicales mayores sean: Carcinoma Invasor, Carcinoma in Situ y Displasia. Esta última fue graduada como leve, moderada, y severa o grave, a las que habría que añadir el CIS ya definido.

La clasificación, utilizada tanto en material histológico como citológico, tuvo dos problemas fundamentales; por un lado, el gran desacuerdo respecto a cuándo una lesión debía ser considerada Displasia grave o Carcinoma in Situ (CIS) , y por otro, la posición de los clínicos, quienes consideraban el Carcinoma In Situ y la Displasia como dos lesiones biológicamente independientes, con diferente

potencial maligno, y tratamiento –indicación de tratamiento intervencionista para CIS y seguimiento para la Displasia.

❖ Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC). Para solventar estos problemas Richart (Nueva York), en 1967, propuso el término de neoplasia intraepitelial cervical (NIC-CIN) con tres grados progresivos, incluyéndose en el grado 3 la Displasia grave y el CIS de la clasificación anterior. [RICHART_69], [RICHART_73]. La ventaja principal, sobre esta, es el reconocimiento de la unidad del proceso patológico lo cual conlleva una relación con las técnicas terapéuticas. Esta clasificación fue considerada bastante adecuada durante más de 20 años y por lo tanto la más utilizada internacionalmente. No obstante, un número creciente de publicaciones señalaron el hecho de la sorprendentemente baja seguridad diagnóstica, tanto en material citológico como histológico, en la parte menos severa del espectro. Se sugirió, por tanto, que este sistema de graduación debía ser modificado y sustituido por un sistema binario que segregara los procesos con atíпия celular muy discreta de aquellos con atíпия franca.

❖ Lesión intraepitelial escamosa de alto y bajo grado. Las razones anteriormente expuestas, junto con los avances en el conocimiento de la carcinogénesis cervical y en el diagnóstico citológico, motivaron una reunión de representantes de organismos internacionales, científicos y profesionales, en el Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos en Bethesda (Maryland). Fruto de dicha reunión fue un nuevo sistema de nomenclatura para informes citológicos ginecológicos (Sistema o Clasificación de Bethesda), en el que se unificó criterios y se adoptaron recomendaciones que la experiencia general acumulada aconsejaba.

La parte fundamental de esta nueva clasificación fue la elaboración de un sistema binario para catalogar las anomalías celulares preneoplásicas en el extendido citológico, denominándolas lesiones intraepiteliales escamosas (SIL sigla en inglés de “Squamous Intraepitelial Lesion”) subdivididas en bajo grado (LSIL sigla en inglés de “Low Squamous Intraepitelial Lesion”) y alto grado (HSIL sigla en inglés de High Squamous Intraepitelial Lesion”).

El término «bajo grado» incluye NIC 1 y las alteraciones celulares producidas por Papiloma virus o VPH (sigla del inglés “Human Papilloma Virus”); el término «alto grado» al NIC 2 y NIC 3 de la clasificación de Richart. Esta clasificación fue difundida en 1988, mínimamente modificada en 1991 y actualizada recientemente en el 2001. [NCIW_89], [ACT.CYT_93], [KURMAN_94], [SOLOMON_04].

Es preciso comentar aquí que el Sistema Bethesda, -Tabla 1.3- aunque universalmente conocido y ampliamente utilizado, no ha sido adoptado en todos los países. Así, en Inglaterra, se sigue utilizando la nomenclatura «B.S.C.C»; en los países de habla germana el «Sistema Munich»; en Australia, una modificación del propio sistema Bethesda. etc. La Sociedad Española de Citología (SEC), consciente de la necesidad de unificar criterios y considerando que son más las ventajas que aporta que los inconvenientes que suscita, adoptó esta clasificación como su nomenclatura oficial aconsejando su utilización a todos sus miembros.

Tabla 1.3 Clasificación Bethesda 2001

1.	NEGATIVO PARA LESIONES INTRAEPITELIALES O MALIGNIDAD (abreviado como NILM)
2.	ANOMALÍAS CELULARES EPITELIALES
2.1.	EN CÉLULAS ESCAMOSAS
2.1.1.	Células escamosas atípicas (ASC) De significado indeterminado (ASC-US) No puede excluirse H-SIL (ASC-H)
2.1.2.	Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (L-SIL), comprendiendo: Displasia leve/CIN 1 VPH
2.1.3.	Lesión intraepitelial escamosa de alto grado (H-SIL), comprendiendo: Displasia moderada, severa y CIS/CIN 2 y 3 Con características sugestivas de invasión
2.1.4.	Carcinoma epidermoide
2.2.	EN CÉLULAS GLANDULARES
2.2.1.	Células glandulares atípicas (AGC) Endocervicales (NOS o especificar en comentarios) Endometriales (NOS o especificar en comentarios) Glandulares (NOS o especificar en comentarios)
2.2.2.	Células atípicas, sugestivas de neoplasia Endocervicales Glandulares
2.2.3.	Adenocarcinoma endocervical in situ (AIS) Adenocarcinoma endocervical Adenocarcinoma endometrial Adenocarcinoma extrauterino No específico (NOS)
3.	OTRAS NEOPLASIAS MALIGNAS

Fuente: Autores del Trabajo.

Como se observa en la clasificación, el apartado «lesión de alto grado» incluye el término de displasia moderada (NIC 2) y los de displasia severa y carcinoma in situ (NIC 3), recogiendo, de esta forma, la premisa básica sugerida para simplificar el sistema de tres grados propuesto por Richard. Por otra parte, en el apartado «lesión de bajo grado» se incluye la displasia leve (NIC1) y los cambios celulares asociados a infección por VPH, debido a la evidencia científica que reporta la misma tasa de progresión y regresión; así como la similitud de los tipos de VPH aislados en ambas lesiones. Estos resultados son lógicos ya que la mayoría de las lesiones de bajo grado, especialmente en mujeres jóvenes, representan una infección por VPH autolimitada.

El término «lesión» en lugar de «neoplasia», aunque etimológicamente es poco específico (significa «cualquier daño»), es utilizado para resaltar el potencial biológico incierto del proceso. Otro de los aportes importantes del sistema Bethesda es el concepto de «atípicidad escamosa» que en la reciente modificación de 2001 incluye los dos siguientes apartados:

❖ Atípicidad Escamosa de Significado Indeterminado (ASC-US). Son las siglas de «Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance» ó células escamosas atípicas de significado indeterminado o incierto. Este término fue introducido para intentar acotar con más precisión la «zona gris» entre los cambios celulares benignos y la lesión intraepitelial, por lo que la inclusión de una lesión bajo la denominación de ASCUS se realiza por exclusión. Es decir; los cambios observados pueden deberse a un proceso benigno o a una lesión potencialmente grave; por tanto, y debido a que no pueden ser inequívocamente clasificados, son interpretados como de significado indeterminado o incierto.

Desde el punto de vista morfológico, estos cambios deben ser más acusados que los observados en un proceso reactivo pero insuficientes - bien cuantitativa o cualitativamente- para clasificarlos con seguridad como SIL. Como se puede deducir de la definición, esta categoría no es reproducible y algunos autores piensan que es una invención norteamericana como parte de una práctica citológica a la defensiva para evitar, en la medida de lo posible, falsos negativos que puedan conllevar acciones legales. No obstante, se ha comprobado que un 10 a 20% de casos de ASCUS corresponden realmente a una lesión intraepitelial, incluso de alto grado, que no se ha puesto en evidencia en el extendido citológico, por lo que eliminar el término no parece prudente.

Todos estos datos han sido contemplados en la versión 2001 de Bethesda en la que el término ASCUS pasa a ser definido como «alteraciones citológicas sugestivas de una SIL pero cuantitativamente y/o cualitativamente insuficientes

para una interpretación definitiva». Es decir, se elimina el ASCUS probablemente reactivo, reservándose el término únicamente para cuando exista sospecha de lesión intraepitelial. Como consecuencia, no debe malograrse el interés práctico del mismo siendo exageradamente utilizado. Como guía de frecuencia, se recomienda que el diagnóstico de ASCUS no deba exceder en 2-3 veces la tasa de SIL de un laboratorio determinado. [SOLOMON_04].

❖ Atípicia Escamosa. No puede excluirse H-SIL (ASC-H). Este término sustituye al previo «ASCUS posible SIL». En él se recogen aquellos casos en los que las alteraciones celulares son bastante acusadas pero, bien por las características de la extensión (inflamación, hemorragia, etc.) o bien por la escasez de estas células, no pueden considerarse totalmente conclusivas. Como se comprueba también en el apartado de «anomalías celulares epiteliales», el término «AGUS» (células glandulares atípicas de significado indeterminado) de la versión anterior, ha sido sustituido en la de 2001 por el de «células glandulares atípicas», con ello desaparece esta sigla de sonido gutural no demasiado eufónico, lo cual es un motivo de satisfacción, evitándose su confusión con ASCUS.

Por último, es preciso comentar que aparte de la elaboración de este sistema de nomenclatura, la opinión unánime de los expertos reunidos en Bethesda fue indicar que el informe citológico es un acto médico cuyo responsable final es el especialista citopatólogo.

En esta evolución histórica de las clasificaciones podemos comprobar la tendencia marcadamente reduccionista y simplificatoria de las mismas, ya que de los cuatro grados de la primera se ha llegado a las dos categorías del Sistema Bethesda pasando por los tres grados de Richard, con una duración media de unos 20 años para cada una de ellas. Tabla 1.4.

Es muy probable que la tercera modificación del Sistema Bethesda (2001) no sea la última. En dos recientes trabajos de la Revista Española de Patología correspondientes a dos regiones distintas de España, (Ciudad Real y Madrid) se comprueba que los tipos de VPH más frecuentemente implicados en todo tipo de lesiones cervicales, tanto de alto como de bajo grado, son los denominados de alto riesgo oncogénico, por lo que probablemente en el futuro se recomiende incluir la tipificación de VPH a los estudios de rutina; especialmente, en lesiones de potencial evolutivo incierto como pueden ser las de bajo grado y los denominados «ASCUS». [PUIG_01], [LACRUZ_07]. Por tanto, y retomando la evolución histórica de las clasificaciones, no sería descabellado pensar que en el futuro estas puedan ser de tipo morfológico- molecular especificándose, junto al

grado de la lesión, el tipo de VPH implicado en ella, la carga viral e, idealmente, la presencia de ARNm de los genes E6 y E7 y/o de las oncoproteínas virales, inhibidoras de los genes celulares P53 y Rb, expresadas por ellos.

Tabla 1.4. Correlación entre la terminología de Displasia, NIC y Sistema Bethesda.

DISPLASIA	NIC	NIC MODIFICADO	BETHESDA
Normal	Normal	Normal	Dentro de límites normales
			ASCUS ASC- H
Atípicia	Atípicia coilocítica, Condiloma plano	NIC bajo grado	L-SIL
Displasia leve	NIC 1	NIC de Bajo Grado	L-SIL
Displasia Moderada	NIC2	NIC de Alto Grado	H-SIL
Displasia Severa	NIC 3	NIC de Alto Grado	H-SIL
Carcinoma In situ	NIC 3	NIC de Alto Grado	H-SIL
Carcinoma Invasor	Carcinoma Invasor	Carcinoma Invasor	Carcinoma Invasor

Fuente: Autores del Proyecto

❖ Sensibilidad y especificidad de la Citología y la Histopatología cervical. Según la Internacional Agency for Research on Cancer (IARC), la sensibilidad de la citología convencional (PAP) debe alcanzar el 60%; sin embargo, diferentes autores han reportado sensibilidades que oscilan desde 20 al 80% [REID_91], [SOOST_91], [MAYEAUX_95], [BISHOP_96], [SCHNEIDER_96], [DUGGAN_98] y una revisión de la bibliografía existente sobre el tema desarrollada por la Agency for Health Care Police and Research (AHCRP) en Enero de 1999 estimó para la citología convencional una sensibilidad del 51% (Intervalo de confianza del 95% = 0.37-0.66) y especificidad del 98% (Intervalo de confianza del 95% = 0.97-0.99). [AHCP_99].

Vale la pena mencionar un estudio local desarrollado en la Liga Santandereana de Lucha contra el Cáncer -2002-2003; el cual reportó, sensibilidad del 12%, especificidad del 99%, valor predictivo positivo de 83% y valor predictivo negativo de 98.2% para el tamizaje de Carcinoma Escamocelular invasor en una población con prevalencia de 2%. [GARCIA_06]. Finalmente, la histopatología se considera el estándar para el diagnóstico de lesiones premalignas y malignas cervicales.

❖ Citología de base líquida. La citología de base líquida (LBP por Liquid-Based Preparations) o de capa fina consiste en la recolección -mediante cepillo- de células cervicales preservadas en un fluido y transportadas al laboratorio para la remoción de detritus y posterior extensión y coloración celular sobre un portaobjetos. La lectura se realiza de manera convencional. [NHS_06].

Actualmente, se comercializan aprobadas por la Food and Drug Administration (FDA) el SurePath –AutoCytePREP o CytoRich LBC– de Tripath Imaging, Inc, Burlington, NC y el Thin Prep 3000 de Cytoc Corporation, Boxborough, MA. [NHS_06].

Dentro de las ventajas de la LBP se menciona un muestreo más aleatorio, y por tanto, presumiblemente más representativo que la citología convencional (CP), menos extendidos no satisfactorios, disminución del tiempo de lectura y utilización del material restante para análisis de DNA del VPH, y como desventajas; incremento del tiempo de procesamiento, formación especializada para interpretar apropiadamente los extendidos, mayor cansancio durante la lectura y alto costo. [SEGO_02], [SOLOMON_05].

Actualmente, se dispone de información científica sobre la LBP; sin embargo, revisiones comprensivas de la literatura (metanálisis) no estiman la especificidad de la prueba y tampoco se encuentra justificación para las diferencias del criterio “celularidad mínima” entre LBP y la CP. Existe un estudio preliminar, donde se menciona incremento de el porcentaje de detección de HSIL mediante LBP cuando la muestra incluye más de 20.000 células; no obstante, este estudio, no investigó directamente la relación entre la celularidad de la muestra y los índices de falsos negativos; que no necesariamente, coinciden con la relación que puede haber entre la celularidad de la muestra y la detección de HSIL. [AHCPR_99], [SOLOMON_05], [COX_06].

❖ Test para detección del DNA del VPH. En Marzo de 2003 el test Hibrid Capture-II™ (HC-II™) HPV DNA; fue avalado por la FDA para uso clínico comercial; anteriormente restringido para complementar la citología convencional

que reportaba ASCUS – hasta el 2000. Este usa señales de amplificación en extendidos celulares para detectar los 13 tipos más frecuentes de VPH de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68). En contraste, la PCR se limita a estudios de investigación. [SPENCE_05], [COX_06].

En estudios recientes, el análisis del DNA-VPH ha demostrado mayor sensibilidad que la CP para las lesiones de alto grado, con una especificidad aceptable pero inferior. [SEGO_02]. Tabla 1.5. Las mujeres con 2 test VPH positivos pero con Pap negativos tienen un riesgo 40 veces mayor de desarrollar neoplasia cervical que aquellas con infecciones por VPH de bajo riesgo. Cuando la citología y el TEST VPH se desarrollan en combinación y ambos son negativos; el valor predictivo negativo es cercano al 100%. [SPENCE_05].

La desventaja del TEST DNA-VPH está en la dificultad de desarrollar el método a gran escala debido a la tecnología necesaria para el análisis de las secuencias del DNA. Esto restringe el análisis a personal especializado de grandes centros de referencia.

Tabla 1.5. ADN-VPH y Citología para detectar SIL

	Umbral	ADN-VPH		Citología	
		Sensib.	Espec.	Sensib.	Espec.
Manos 1999	HSIL	89,2	64,1	76,2	-
Mitchell 1999	LSIL	0,65	0,73	75,0	73,0
Clavel 1999	HSIL	100	85,2	85,3	94,9
Cuzick 1999	HSIL	95,2	95,1	85,7	96,9
Wright 2000	HSIL	83,9	84,5	67,9	87,9
Nanda 2000	LSIL	-	-	69,0	81,0
Nanda 2000	HSIL	-	-	58,0	92,0
Schiffman 2000	HSIL	88,4	89,0	77,7	94,2
Solomon 2001	HSIL	96,3	-	85,3	-

Fuente: Davies et al. *Bail Clin Obstet Gynecol.* 2001; 15: 677.

❖ Tamizaje para Cáncer Cervical. De acuerdo con la American Cancer Society (ACS), el American Collage of Obtetricians and Gynecologists (ACOG) y U.S. Preventive Services Task Force (USPSTF) el tamizaje cervical debe iniciarse dentro de los 3 años siguientes al inicio de la vida sexual o a los 21 años sin vida sexual.

Para mujeres de 30 años o menores, la ACS y la ACOG, recomiendan el tamizaje (screening) anual con la citología convencional o cada dos años con la citología de base líquida. Para mujeres mayores de 30 años que tienen 3 citologías negativas puede espaciarse el tamizaje a cada 2 o 3 años y en mujeres con historia de HSIL o cáncer el tamizaje siempre es anual. [COX_06].

En mujeres de 30 años o mayores, también se da la alternativa de emplear la citología convencional mas el TEST para DNA del HPV. Si el reporte es negativo se recomienda espaciar el tamizaje a cada 3 años. [COX_06].

La ACS, el ACOG, y USPSTF recomiendan suspender el tamizaje en las mujeres histerectomizadas por patología benigna; sin embargo no hay consenso en la edad límite para la toma de citología. La ACS sugiere suspenderlo en mujeres de 70 años o mayores con 3 citologías consecutivas previas negativas sin historia de alteraciones citológicas en los 10 años anteriores; mientras que, la USPSTF recomienda suspenderlo a los 65 años cuando no hay factores de riesgo y las evaluaciones previas son negativas. [COX_06].

1.3.2. NUEVAS TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS

Las nuevas técnicas diagnósticas, en general, se basan en el estudio de propiedades físicas y químicas de los tejidos. Entre las propiedades físicas en estudio para la detección temprana de cáncer se encuentran las eléctricas y las ópticas. De las propiedades eléctricas se destaca la espectroscopía de impedancia eléctrica, y de las ópticas los estudios de fluorescencia y de composición elemental basados en técnicas plásmicas.

Algunos grupos de investigación de la Universidad Industrial de Santander estudian en la actualidad propiedades eléctricas y ópticas de tejido epitelial con el fin de detectar cáncer en sus estados premalignos. El grupo CIMBIOS, en colaboración con el grupo CEMOS, ha realizado un estudio piloto de detección temprana de cáncer de cuello uterino basada en espectroscopía de impedancia eléctrica [MIRANDA_05] en el que se obtuvieron resultados promisorios con alta sensibilidad y especificidad (superior al 80%); y se inició, el segundo semestre de 2006, un trabajo de maestría con el fin de diseñar e implementar un bioimpedanciómetro para continuar con los estudios de detección temprana de cáncer basada en espectroscopia de impedancia eléctrica in-Vivo².

² El trabajo de Maestría al que se hace referencia está a cargo del Ing. Miguel Pinto Aparicio.

El grupo GOTS, en colaboración con el CEMOS, desarrolló dos trabajos a nivel de maestría donde se evaluó la detección temprana de cáncer de cuello uterino basadas en fluorescencia³ y en tratamiento de imágenes⁴. Sin embargo, en dichos estudios no se hace una medición directa de la composición electrolítica de los tejidos, información que puede complementar la comprensión del estado real del tejido, y por ende, permitiría la detección preclínica de la enfermedad neoplásica.

Internacionalmente, se destaca el grupo abanderado por el Dr. Brian Brown de la Universidad de Sheffield, UK, que estudia la espectroscopía de impedancia eléctrica como técnica para el tamizaje de cáncer de cuello uterino; así como, el grupo liderado por el profesor Jasprit Singh, de la universidad de Mississippi (Mississippi State University), USA, que vislumbra la posibilidad de utilizar la Espectroscopia de Plasma Inducida por Láser (LIBS) como técnica de detección temprana de cáncer.

1.4. INTERACCIÓN DE LA ELECTRICIDAD CON LOS TEJIDOS BIOLÓGICOS

La interacción de la electricidad con tejidos biológicos tiene una marcada dependencia de la frecuencia de la señal de excitación. [SCHWAN-57], [SCHWAN_94] reporta tres zonas de dispersión en las que esta interacción tiene diferentes efectos en el tejido, éstas son: zona α (hasta 10kHz aproximadamente), β (de 100kHz hasta 10MHz, aproximadamente), γ (frecuencias superiores a 100MHz). La zona de dispersión α está relacionada con la interfaz electrodo-electrolito y la relajación y polarización de los espacios cargados, la β , con la polarización y relajación interfacial, y la γ , con la relajación bipolar.

Las propiedades eléctricas del tejido dependen de la zona de dispersión en la que se trabaje, siendo la zona β la de mayor interés práctico para estudiar propiedades globales del tejido, debido a que la conducción eléctrica está relacionada con el espacio extracelular, el cual varía de acuerdo al estado del tejido.

³ Trabajo de Maestría en Ingeniería a cargo del Ing. Diego Rolando Mahecha. "Estudio de detección precoz de Cáncer de Cuello Uterino por medio del análisis de la respuesta fluorescente", presentado como requisito para optar al título de Magíster en Ingeniería, Área Electrónica.

⁴ Trabajo de Maestría. Ing. Edwin Silva Cruz. "Detección de cáncer de cuello uterino basado en técnicas de procesamiento y análisis de imágenes microscópicas", presentado como requisito para optar al título de Magíster en Ingeniería, Área Electrónica.

Por otro lado, según [SCHWAN_57] las propiedades eléctricas del tejido y su composición son de importancia práctica y de interés en áreas como la cardiología, la física médica y la medicina clínica, además de su interés en el análisis estructural de organismos celulares, el estudio de mecanismos de excitación y el análisis de las características de moléculas proteicas. Las propiedades eléctricas del tejido dependen de la energía con la cual sea excitado, presentando un comportamiento aproximadamente lineal para energía bajas que corresponden a flujos de corriente inferiores a 1mA/cm^2 y campos eléctricos inferiores a 1V/cm .

1.5. MEDICIÓN DE LA BIOIMPEDANCIA ELÉCTRICA

Para la realización de las mediciones del EIE se empleó el bioimpedanciómetro monocanal MARK III de Sheffield, (UK). Figura 1.19.

Figura 1.19. Bioimpedanciómetro. Sistema monocanal MARK III. Sheffield. UK.



Fuente: [MIRANDA_05] MIRANDA, David. “Detección de cáncer de cuello uterino basada en espectro de impedancia eléctrica”. Bucaramanga, 2005, 128p. Tesis de Maestría (Maestría en Ingeniería, Área Ingeniería Electrónica). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físico-Mecánicas.

Este sistema toma, para cada una de las siete frecuencias en las que opera, 50 valores de impedancia eléctrica. La descripción completa de los módulos que integran este dispositivo y la forma de operación están descritas en detalle por [GONZALEZ_01] y [WALKER_00].

2. PROTOCOLO DE MEDICIÓN DEL ESPECTRO DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA

2.1. SEGURIDAD ELÉCTRICA PARA LA PACIENTE

El sistema de medición utilizado en la toma de datos del EIE es seguro eléctricamente como muestra [MOMPIN_88]. El equipo empleado en la medición del EIE del cérvix fue el bioimpedanciómetro diseñado y ensamblado en la universidad de Sheffield, (Reino Unido), por el profesor Brian Brown; el cual fue denominado “Sistema Monocanal MARK III” por [WALKER_00]. Este equipo cumple con las normas internacionales de seguridad eléctrica para equipos médicos: BS5724 e IEC601, [BROWN_94], [LU_94]; las cuales, han sido aceptadas en Colombia. Estas normas están contempladas por el ICONTEC bajo la reglamentación número NTC-IEC 60601.

2.2. SEGURIDAD BIOLÓGICA

Durante el proceso de medición del EIE en la sala de procesamiento macroscópico de la Morgue HUS – histerectomías – y en el quirófano del Hospital San Juan de Dios de Floridablanca (HSJDF) - biopsias y conizaciones- se cumplieron las normas de seguridad biológica que se describen a continuación:

2.2.1 Seguridad biológica en la Sala de Procesamiento Morgue HUS. El riesgo sanitario de este escenario es la contaminación con agentes biológicos provenientes de los especímenes, por ello se evitó el contacto directo de la sonda de medición con fluidos corporales (moco cervical y sangre) y se emplearon guantes de Látex para manipular los instrumentos; así como, las muestras cervicales. Una vez terminadas las mediciones, se lavaba la sonda de medición con agua y jabón quirúrgico. Las instalaciones de la Morgue HUS cumplen con las normas sanitarias estipuladas por la Secretaria de Salud Municipal.

2.2.2. Seguridad biológica en el Quirófano del Hospital San Juan de Dios de Floridablanca. Para ingresar al Quirófano del HSJDF se empleó Traje de mayo, lavado de manos quirúrgico y se evitó el contacto con los elementos dispuestos en la sala de cirugía. En este escenario las mediciones del EIE fueron realizada por el Ginecólogo Dr. Jorge Mejía en las áreas establecidas en el ítem 2.4.

Se evitó la exposición directa de la sonda de medición con fluidos corporales (moco cervical y sangre) y entre medición y medición se desinfectó el instrumental empleado mediante inmersión en Cidex® durante un tiempo mínimo de 20 minutos.

2.3 PROCEDIMIENTO PARA LA CALIBRACIÓN DE LA SONDA DE MEDICIÓN

El proceso de calibración de la sonda de medición inicia con el cumplimiento de las siguientes recomendaciones:

- ❖ Contar con recipientes de vidrio con capacidad mínima de 125 CC, un litro de agua estéril desmineralizada y una bolsa de 250 CC de solución salina estéril al 0.9%.
- ❖ La sonda de medición debe estar limpia, seca y entrar en contacto con el líquido depositado en los recipientes cuando éste se encuentra en total reposo.
- ❖ La sonda NO debe quedar en contacto con las paredes o el fondo del recipiente.

El protocolo de calibración de la sonda de medición se estandarizó siguiendo los pasos que se describen a continuación:

- ❖ Agregar al frasco de vidrio, 75mL de agua desmineralizada y rotular con los siguientes datos: número de la ganancia (1, 2, 4 u 8), al lado con el rango de la medida (1, 2, 4 u 8) e inferiormente se escribe la cantidad de solución salina y la corriente con la cual opera el bioimpedanciómetro
- ❖ Se agrega solución salina al agua desmineralizada de tal manera que al realizar las mediciones queden entre los rangos de voltaje 2, 4, 6 y 8. Para ello se inicia con ganancia 1, se obtienen los cuatro valores correspondientes a cada rango (se necesita un frasco para cada medición) y se continua hasta llegar a la ganancia 8.
- ❖ Se mide la conductividad para cada frasco y se procesan los datos utilizando el programa Vibie_Calibration. [MIRANDA_05].
- ❖ Se registran los resultados obtenidos en el Formato de Calibración de la Sonda de Medición. Figura 2.1.

Figura 2.1. Formato para la calibración de la sonda de medición.

FORMULARIO PARA LA CALIBRACIÓN DE LA SONDA DE MEDICIÓN DEL ESPECTRO DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA EN CUELLO UTERINO

		Fecha:		Hora:	
PARÁMETROS DE LA CALIBRACIÓN					
Nombre del Archivo					
Corriente [μ A]					
DATOS DE OPERARIOS					
O_1 Nombre					
O_2 Nombre					
TOMA DE DATOS					
Etiqueta del frasco	Cantidad de soluto	Cantidad de solvente	# Memoria	Ganancia	Conductividad [μ S]
OBSERVACIONES					

Fuente: MIRANDA, David. "Detección de cáncer de cuello uterino basada en espectro de impedancia eléctrica". Bucaramanga, 2005, 128p. Tesis de Maestría (Maestría en Ingeniería, Área Ingeniería Electrónica). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físico-Mecánicas.

2.4 PROCEDIMIENTO PARA LA MEDICIÓN DEL ESPECTRO DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA (EIE) EN TEJIDO CERVICAL

El tejido empleado para el estudio piloto de EIE corresponde a productos de biopsias cervicales, conizaciones e hysterectomías.

2.4.1. Medidas Ex-Vivo. Las hysterectomías se llevaron a cabo en el Hospital Universitario de Santander (HUS) entre los meses de Noviembre de 2004 y Marzo de 2005 por el Ginecólogo-Oncólogo Dr. Jairo Corso Salamanca con diagnósticos prequirúrgicos de lesiones intraepiteliales de alto grado y carcinomas infiltrantes (de acuerdo a la clasificación de Bethesda 2001). El protocolo consiste en las acciones a seguir desde el momento de la extracción del espécimen hasta su procesamiento y las condiciones de medición del EIE.

El proceso inicia en las salas de cirugía donde se deposita el espécimen en fresco en un recipiente plástico o de vidrio libre de cualquier tipo de sustancia líquida y/o fijadora, se rotula la bolsa con los datos básicos de la paciente (nombre y número de historia clínica) y la hora exacta de extracción del útero. Adicionalmente se diligencia la solicitud de estudio histopatológico con la fecha, nombre y edad de la paciente, número de historia clínica, resumen del caso clínico, impresiones diagnósticas, nombre y firma del médico solicitante. En nuestro estudio, después de la extracción del espécimen se daba aviso al departamento de patología para el traslado inmediato de la muestra a la sala de procesamiento macroscópico adscrita al HUS por parte de los residentes de patología encargados del estudio, previa verificación de los datos del paciente y del rotulo del espécimen. Allí se ingresaban los datos al Sistema SAD del HUS y se matriculaba con el número consecutivo de los quirúrgicos del libro de registro y control interno del Departamento de Patología.

Al tiempo, que se trasladaba la muestra, se informaba al Físico & Ing. David Alejandro Miranda Mercado para realizar las mediciones de espectro de impedancia eléctrica y registrar los datos obtenidos en el formulario creado para tal fin antes de 2 horas, -Figura 2.2.- tiempo establecido como límite para la realización de las medidas de EIE.

Las medidas son realizadas en las ocho áreas mostradas en la Figura 2.3. siguiendo un orden ascendente. Posteriormente se marca cada sitio de medición con un punto de tinta china negra y se procesa el espécimen realizando cortes longitudinales y seriados de la pieza – Figura 2.4.- y se continua con el procesamiento estándar del Laboratorio de Patología UIS para fijación, deshidratación, aclaramiento, inclusión en parafina, corte y coloración con

Hematoxilina & Eosina. – Ver ítems 2.5 y 2.6 Protocolo de Procesamiento, Lectura e Informe histopatológico en este capítulo.

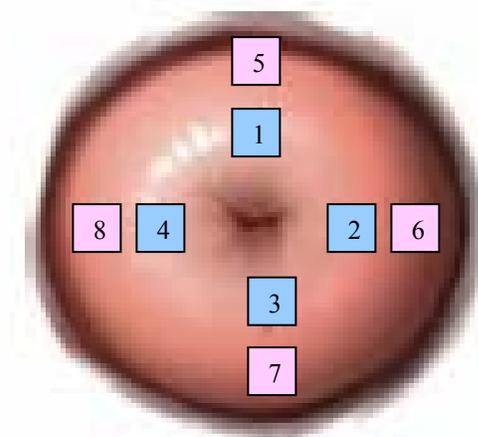
Figura 2.2. Formulario de registro de las mediciones del EIE.

**FORMULARIO PARA LA MEDICIÓN DE ESPECTRO DE IMPEDANCIA
ELÉCTRICA EN CUELLO UTERINO**
Universidad Industrial de Santander 2004- 2005

DATOS DE LA PACIENTE		Fecha:	
Nombre:		Historia:	
Edad:		Hora de la Cirugía:	
PARÁMETROS DEL EQUIPO DE MEDICIÓN			
Nombre del archivo:			
Ganancia:	1	2	4
Corriente	10 μ A	20 μ A	40 μ A
EVALUACIÓN CLÍNICA DE LA LESIÓN			
MEDICIONES			
#	Hora	Observaciones	
MÉDICO:			
INGENIERO: David Alejandro Miranda Mercado			

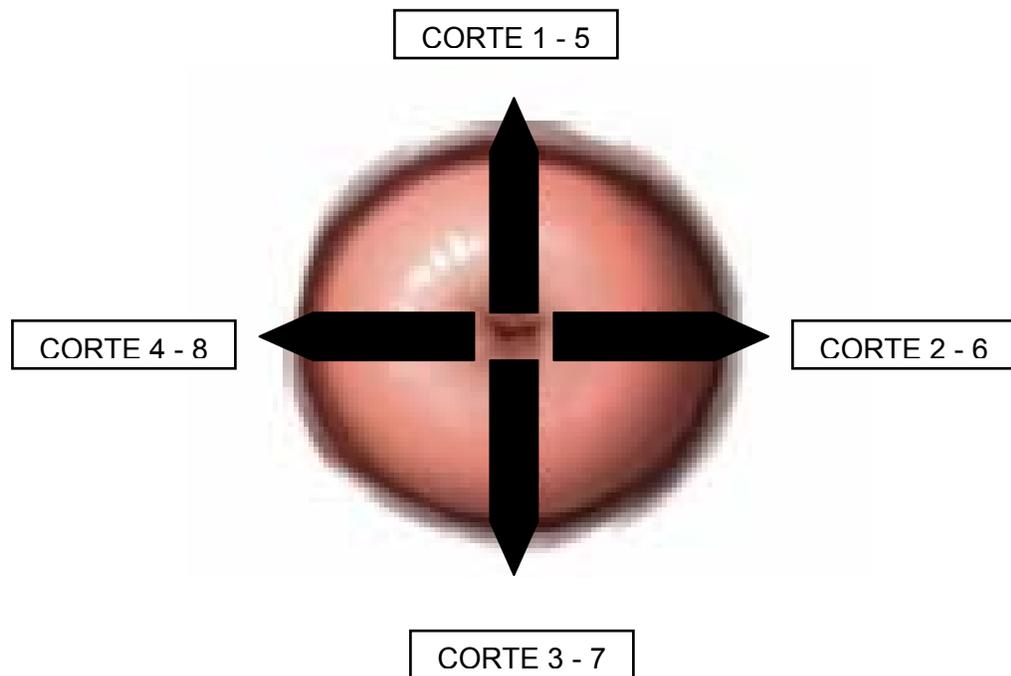
Fuente: Autores del proyecto.

Figura 2.3. Áreas de medición del Espectro de Impedancia Eléctrica cervical.



Fuente: Autores del proyecto.

Figura 2.4. Esquema de cortes histopatológicos cervicales



Fuente: Autores del proyecto.

2.4.2. Medidas In-Vivo. Las conizaciones y biopsias cervicales corresponden a mujeres atendidas por el servicio de Ginecología a cargo del Ginecólogo Dr. Jorge Mejía adscrito al Hospital de Floridablanca previo consentimiento escrito de las pacientes, realizadas entre los meses de abril de 2005 a junio del mismo año. El procedimiento para la toma de datos en dicha institución fue el siguiente:

Previa desinfección de la sonda de medición mediante inmersión en CIDEX[®], -tiempo mínimo de 20 minutos- se realiza in situ la valoración del espectro de impedancia eléctrica y se registran los datos en el formato creado para tal fin. Si el procedimiento fue una conización, el Ginecólogo marca los puntos 1-5 con una sutura y en el caso de biopsias, se depositaron en recipientes individuales debidamente rotulados. Por último, se llevaron los especímenes fijados en formol al 10% al Departamento de Patología de la Universidad Industrial de Santander para realizar el respectivo estudio histopatológico siguiendo el procedimiento estándar. Ver ítem 2.5 “Procedimiento para Procesamiento del Tejido Cervical” en el presente capítulo.

2.5. PROCEDIMIENTO PARA PROCESAMIENTO DE TEJIDO CERVICAL

Para el procesamiento de las biopsias se toman los fragmentos del tejido, se depositan sobre un papel tipo servilleta, se impregnan con una gota de colorante llamado Eosina, se doblan y se depositan en cassettes rotulados con el número del quirúrgico (incluye los dos últimos dígitos del año en curso) acompañados en la parte inferior por un segundo número correspondiente al sitio del cérvix del cual se toma la muestra. Figuras 2.5. a 2.7.

Figura 2.5. Procesamiento de Biopsias Cervicales. Paso 1. En esta gráfica se muestran los elementos empleados en el procesamiento de las biopsias.



Fuente: Autores del trabajo.

Figura 2.6. Procesamiento de Biopsias Cervicales. Paso 2. El tejido se ubica sobre el papel servilleta y se agrega la eosina. Luego, se doblan los extremos del papel sin comprimir la muestra.



Fuente: Autores del trabajo.

Figura 2.7. Procesamiento de Biopsias Cervicales. Paso 3. Ubicación de la muestra en el cassette y rótulo.



Fuente: Autores del trabajo.

Para el procesamiento de los conos cervicales se debe pintar con tinta china negra la cara externa del espécimen y luego se divide con bisturí en labio anterior y posterior empleando como punto de referencia la sutura ubicada en la zona correspondiente al área de medición 1-5. Figura 2.8 a 2.10.

Figura 2.8. Procesamiento de Cono cervical. Paso 1. Se pinta con tinta china.



Fuente: Autores del Proyecto

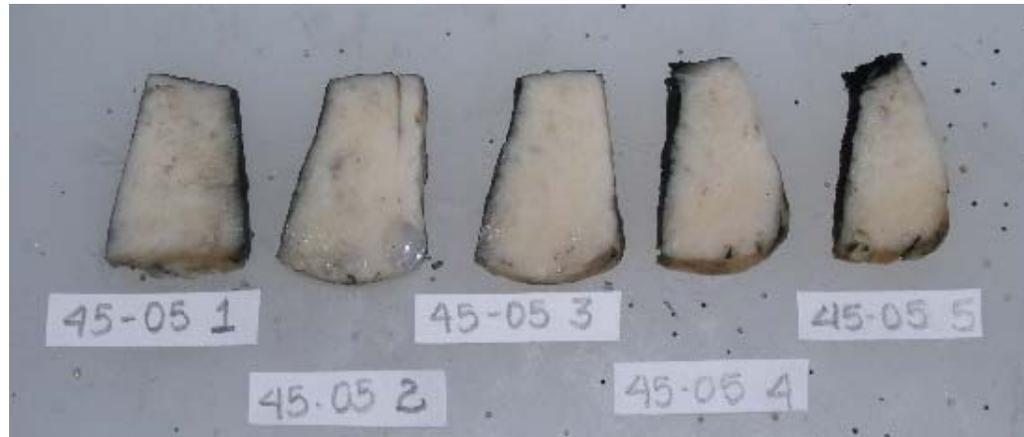
Figura 2.9. Procesamiento de Cono cervical. Paso 2. Labio anterior y posterior.



Fuente: Autores del proyecto

Posteriormente se realizan cortes seriados de cada labio siguiendo las manecillas del reloj y rotulando cada fragmento con el número del quirúrgico y posteriormente con la numeración continua de acuerdo a la secuencia de corte. Cada fragmento del cuello uterino debe tener unas dimensiones no mayores de 2,5 cm. de longitud X 1,5 cm. de ancho X 0,4 cm. de espesor. Figura 2.10.

Figura 2.10. Procesamiento de Cono cervical. Paso 3. Cortes seriados de cada labio.



Fuente: Autores del proyecto

En el caso de las histerectomías, por tratarse de lesiones visibles macroscópicamente se realizaban únicamente 4 cortes representativos correspondientes a las áreas de medición 1-5, 2-6, 3-7 y 4-8 como se presentó en la Figura 2.2 y 2.3; los cuales se depositan en cassettes individuales rotulados con el número del quirúrgico y posteriormente el número correspondiente a los puntos de medición del EIE. Figura 2.11 y 2.12.

Figura 2.11. Procesamiento de Histerectomía. Paso 1. Cortes representativos.



Fuente: Autores del proyecto

Figura 2.12. Procesamiento de Histerectomía. Paso 2. Ubicación y rótulo de los cortes representativos.



Fuente: Autores del proyecto

Una vez depositado el material se introducen los cassettes en formol tamponado al 10%, - Tabla 2.1.- en proporción 1:20 (veinte veces el volumen del tejido) por seis horas.

TABLA 2.1. Preparación de Formol Tamponado al 10%

FORMOL TAMPONADO AL 10%	Formalina Pura	100 CC
	Fosfato Sódico Monobásico	4 gr.
	Fosfato Sódico Dibásico (Anhidro)	6.5 gr.
	Agua Destilada	900 CC
OBSERVACIONES		
Se obtiene un pH de 7.0 a 7.2.		
Previene el choque osmótico		
Evita la formación de depósitos de pigmento formólico		

Fuente: Autores del proyecto.

Luego se inician los procesos de postfijación, deshidratación, aclaramiento e impregnación en parafina. Tabla 2.2.

TABLA 2.2. Procedimiento de Postfijación, Deshidratación, Aclaramiento e Inclusión en Parafina de los tejidos cervicales.

BAÑOS	TIEMPO DE PROCESAMIENTO
Formol 10% tamponado a 37°C	2 horas
Etanol al 50% a 37°C	2 horas
Etanol al 70% a 37°C	2 horas
Etanol absoluto al 96% a 37°C	3 baños de 1 hora cada uno
Xilol a 37°C	3 baños de 1 hora cada uno
Parafina a 56°C	3 inmersiones. Las dos primeras 2 horas y la última de 1 hora.

Fuente: Autores del proyecto.

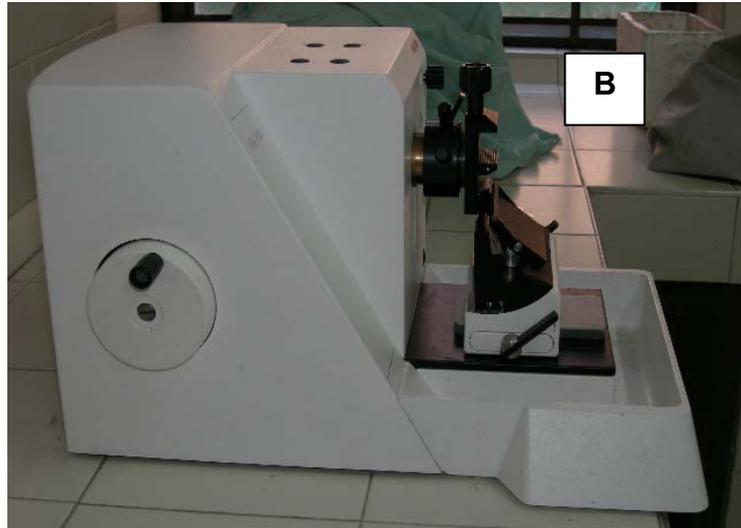
Posteriormente, empleando el micrótopo rotatorio marca MICROM HM 310 -Figura 2.13- se cortan los bloques de parafina (cortes de 3 micras de espesor) y los tejidos son llevados al baño de flotación preparado a 37°C. Finalmente, se ubican los cortes sobre las laminas portaobjetos. Figura 2.14 a 2.19.

Figura 2.13. A. Vista frontal del micrótopo MICROM HM 310.



Fuente: Autores del proyecto.

Figura 2.13. B. Vista Lateral del Micrótopo MICROM HM 310.



Fuente: Autores del proyecto.

Figura 2.14. Proceso de Corte. Paso 1.



Fuente: Autores del proyecto.

Figura 2.15. Proceso de Corte. Paso 2.



Fuente: Autores del proyecto.

Figura 2.16. Extensión del Tejido en el Baño de Flotación



Fuente: Autores del proyecto.

Figura 2.17. “Pesca” del Tejido en el Baño de Flotación. Paso 1



Fuente: Autores del proyecto.

Figura 2.18. “Pesca” del Tejido en el Baño de Flotación. Paso 2



Fuente: Autores del proyecto.

Figura 2.19. Ubicación del Tejido cervical sobre la lámina Portaobjetos.



Fuente: Autores del proyecto.

Luego se procede a la coloración de rutina con (H&E). Tabla 2.3 y Figura 2.20.

Figura 2.20. Coloración de las láminas histopatológicas.



Fuente: Autores del proyecto.

TABLA 2.3. Procedimiento para coloración con Hematoxilina – Eosina. (H & E).

COLORACIÓN DE HEMATOXILINA – EOSINA
FIJACIÓN
Puede utilizarse tejido fijado en cualquier solución fijadora, excepto aquellas que contienen tetróxido de osmio.
SOLUCIONES
1. Solución de Hematoxilina de Harris.
2. Etanol ácido al 1%.
3. Solución de azuleamiento: Se emplea agua corriente si es lo suficientemente alcalina. En su defecto puede emplearse: <ul style="list-style-type: none"> • Solución acuosa de Carbonato de Litio al 1%. • Solución acuosa de amoníaco al 2%.
4. Solución acuosa o alcohólica de Eosina.
PROCEDIMIENTO
Desparafinar e hidratar.
Teñir con Hematoxilina de Harris durante 2 minutos.
Lavar en agua corriente.
Diferenciar en alcohol ácido al 1% durante 5 a 30 segundos, controlando al microscopio.
Azular en agua corriente o cualquier otro agente de azuleamiento durante 5 minutos. En este último caso, lavar abundantemente en agua corriente tras el azulado.
Colorear con Eosina durante 2 minutos.
Lavar en agua corriente (en caso de Eosina alcohólica, lavar y diferenciar en etanol al 70%) hasta obtener la intensidad deseada de coloración.
Deshidratar, aclarar y montar.
RESULTADOS
Núcleos color azul a negro, eritrocitos color naranja a rosa y estructuras restantes de rosado a rojo.

Fuente: Autores del proyecto.

Finalmente, las láminas se secan y cubren con laminillas cubreobjetos de vidrio -44 X22 mm-, empleando resina sintética como sellante. Ver Figura 2.21. a Figura 2.23.

Figura 2.21. Aplicación de la resina. Paso 1.



Fuente: Autores del proyecto.

Figura 2.22. Aplicación de la resina. Paso 2.



Fuente: Autores del proyecto.

Figura 2.23. Colocación de la laminilla cubreobjetos.



Fuente: Autores del proyecto.

2.6. PROCEDIMIENTO DE LECTURA E INFORME HISTOPATOLÓGICO

Los cortes fueron evaluados por un Residente de Patología (autores del proyecto) empleando microscopio binocular marca OLYMPUS CX 32, siguiendo el procedimiento de lectura descrito a continuación:

Primero, las placas histológicas fueron observadas a bajo aumento -objetivo de 10x- para reconocimiento general de las estructuras histológicas, búsqueda de las áreas sospechosas de displasia o malignidad e identificación de las áreas marcadas con tinta china -las cuales correspondían a las zonas de medición del EIE-.

Segundo, se observaron las láminas histopatológicas a mayor aumento, -objetivo de 40 x- para evaluar las zonas sospechosas de malignidad; así como, las áreas marcadas con tinta negra para definir el diagnóstico.

Tercero, se escribió a mano y en lápiz, la descripción microscópica y el diagnóstico del espécimen en la misma hoja donde se había registrado la

descripción macroscópica. Adicionalmente, en los Formatos de Lectura creados para el estudio piloto se registraron los resultados histopatológicos correspondientes a cada una de las áreas de medición. Estos reportes preliminares eran presentados al Patólogo para su revisión. -Figuras 2.24. y 2.25-. Por último, los informes eran evaluados por el tutor, se entregaba el reporte definitivo a la secretaria del Departamento de Patología, cuya función era transcribir el resultado en el SAD del HUS – si la paciente pertenece al grupo de Ginecología Oncológica del HUS- e imprimir el informe en original y 2 copias. Este informe era revisado nuevamente por el patólogo que evaluó el caso, firmado y sellado.

Los resultados de pacientes HUS se organizaban así: La original se anexaba a la historia clínica, una copia se adhería a la orden médica para liquidación y una copia se guardaba en el archivo del Departamento de Patología. Si la paciente continuaba hospitalizada, se entregaba el informe original a la enfermera jefe o secretaria del servicio de Ginecología. El receptor firmaba el cuaderno de relación de entregas, con nombre legible registrando la fecha y hora de recibido. Si la paciente había egresado de la institución, el informe era entregado al Departamento de Estadística del HUS.

Si la paciente pertenecía al Hospital San Juan de Dios, se imprimía el informe -original y copia- en papel membreteado del Departamento de Patología UIS. Posteriormente, se enviaba el informe original por correo externo al Servicio de Estadística del Hospital San Juan de Dios de Floridablanca para archivar en la historia clínica de la paciente. La copia se guardaba en el archivo del Departamento de Patología UIS.

Por último, los Formatos de Lectura diligenciados eran guardados en una carpeta por el Residente de Patología encargado del espécimen.

Figura 2.24 Formato de lectura para biopsias cervicales

FORMATO DE LECTURA PARA BIOPSIAS CERVICALES

FECHA DE LECTURA
RESIDENTE ENCARGADO
IDENTIFICACIÓN DE LA PACIENTE
NOMBRE _____
HISTORIA CLÍNICA _____ EDAD _____
NÚMERO DEL QUIRÚRGICO _____
DIAGNÓSTICOS
BIOPSIA 1 (AREA DE LAS 12)

BIOPSIA 2 (AREA DE LAS 3)

BIOPSIA 3 (AREA DE LAS 6)

BIOPSIA 4 (AREA DE LAS 9)

Fuente: Autores del proyecto.

Figura 2.25 Formato de lectura para conizaciones e hysterectomías.

FORMATO DE LECTURA PARA CONIZACIONES E HISTERECTOMÍAS

FECHA DE LECTURA
RESIDENTE ENCARGADO
IDENTIFICACIÓN DE LA PACIENTE
NOMBRE _____
HISTORIA CLÍNICA _____ EDAD _____
NÚMERO DEL QUIRÚRGICO _____
DIAGNÓSTICOS
CORTE AREA 1 -5
AREA 1 _____
AREA 5 _____
CORTE AREA 2 -6
AREA 2 _____
AREA 6 _____
CORTE AREA 3 -7
AREA 3 _____
AREA 7 _____
CORTE AREA 4 -8
AREA 4 _____
AREA 8 _____

Fuente: Autores del proyecto.

2.7. DISCUSIÓN

Para evitar que se modificaran las propiedades eléctricas de los tejidos, se tomaron en cuenta las siguientes precauciones y/o recomendaciones:

El cérvix debe recibirse en fresco, ya que la adición de fijador (formol), desnaturaliza las proteínas con destrucción de los puentes de hidrógeno presentes en las estructuras cuaternarias afectando las características del tejido; lo cual origina distorsión de los resultados producto de las mediciones eléctricas. Además, el formol es polar y con el paso de corrientes eléctricas produce amplias variaciones en las características eléctricas de la superficie del tejido afectando el flujo de corriente. En ocasiones recibimos muestras en solución salina normal (SSN), sustancia electrolítica que disminuye la resistencia del medio al flujo de corriente, facilitando la circulación de mayor número de cargas que cambian las propiedades eléctricas del tejido.

No debe emplearse en el embalaje tela u otro material orgánico para evitar la extracción de electrólitos cervicales, siendo el recipiente plástico el medio óptimo que elimina sesgos potenciales en la medición eléctrica, además de brindar resistencia a posibles agresiones durante el transporte de la muestra y eliminar el riesgo de accidentes ocupacionales con fragmentos de vidrio provenientes de envases quebrados.

La determinación del tiempo apropiado para la toma de datos, se basó en estudios previos reportados por [SCHWAN_94] donde demuestra variaciones mínimas en las mediciones durante la primera hora, reconociéndose cambios propios entre los diferentes tipos de tejido.

Con el fin de realizar una adecuada correlación entre el método eléctrico de EIE y estándar para evaluación tumoral, establecimos ocho puntos de medición con cuatro cortes histopatológicos basados en el área de incidencia de la sonda eléctrica (6mm). Se determinó, que la configuración en cruz para conos e histerectomías permite evaluar mayor cantidad de tejido cervical, evita los sesgos de medición y facilita el procesamiento histopatológico. Por último, se aplicó tinta china, -después de realizar las mediciones del EIE - como punto de referencia de la zona medida eléctricamente, ya que ésta es visible microscópicamente, permitiendo una lectura histopatológica del área específica.

3. RESULTADOS

Se practicó evaluación histopatológica a 108 muestras cervicales provenientes de 11 pacientes del Hospital Universitario de Santander (HUS) y 6 pacientes del Hospital San Juan de Dios de Floridablanca, previa medición del espectro de impedancia eléctrica - empleando el bioimpedanciómetro monocanal MARK III, Sheffield, UK- con una sonda tetrapolar previamente calibrada.

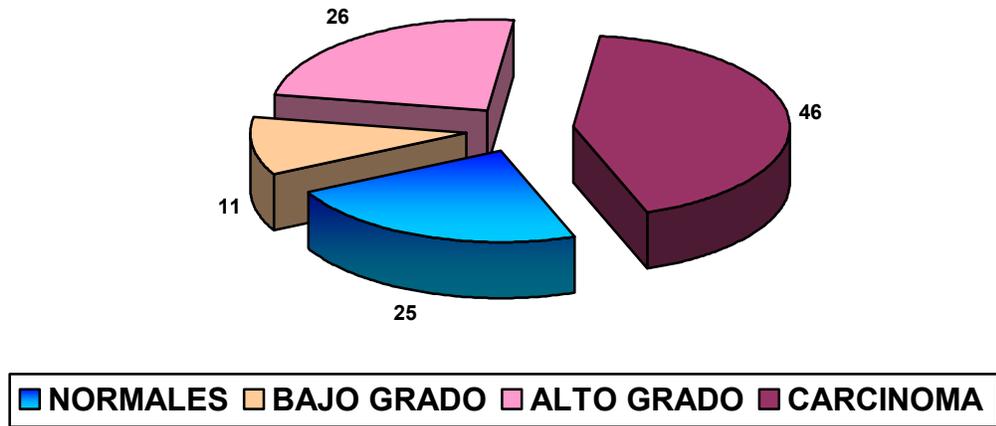
La población correspondía a 17 mujeres con edades comprendidas entre 23 y 70 años -media de 44 años- con diagnósticos previos por citología y/o biopsia cervical de Lesiones Intraepiteliales Escamosas (SIL) o lesiones tumorales malignas epiteliales infiltrantes del cérvix que consultaban al servicio de Ginecología del Hospital San Juan de Dios de Floridablanca o al servicio de Ginecología Oncológica del HUS.

Se evaluaron 28 biopsias cervicales pertenecientes a siete pacientes (4 muestras por cada paciente), dos conizaciones cervicales (4 cortes por cada cono correspondientes a 8 muestras cervicales) y finalmente, se examinó el tejido proveniente de histerectomía ampliada con salpingooforectomía bilateral, linfadenectomía pélvica y paraórtica de ocho pacientes (4 cortes a cada cérvix correspondientes a 8 muestras cervicales); procesándose un total de 68 cortes histopatológicos, sin embargo, debido a que cada corte del cono y de la histerectomía correspondía a 2 áreas de medición del espectro de impedancia eléctrica se realizaron un total 108 lecturas histopatológicas.

En la Figura 3.1. se muestran los resultados histopatológicos de las 108 áreas donde se midió el EIE pertenecientes a las 17 pacientes.

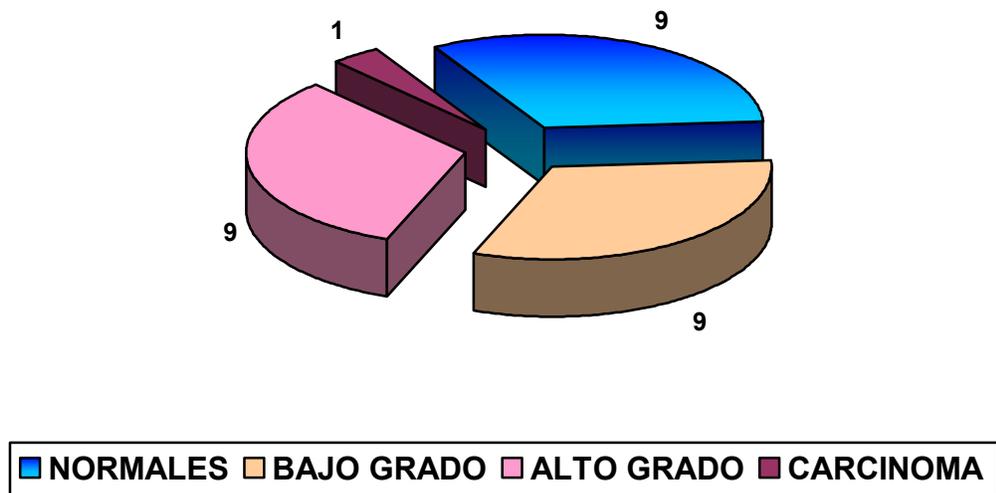
En las Figuras 3.2, 3.3, y 3.4, se presentan los resultados histopatológicos de las 108 mediciones del EIE de acuerdo al tipo de espécimen cervical.

Figura 3.1 Hallazgos Histopatológicos de las áreas de medición del EIE



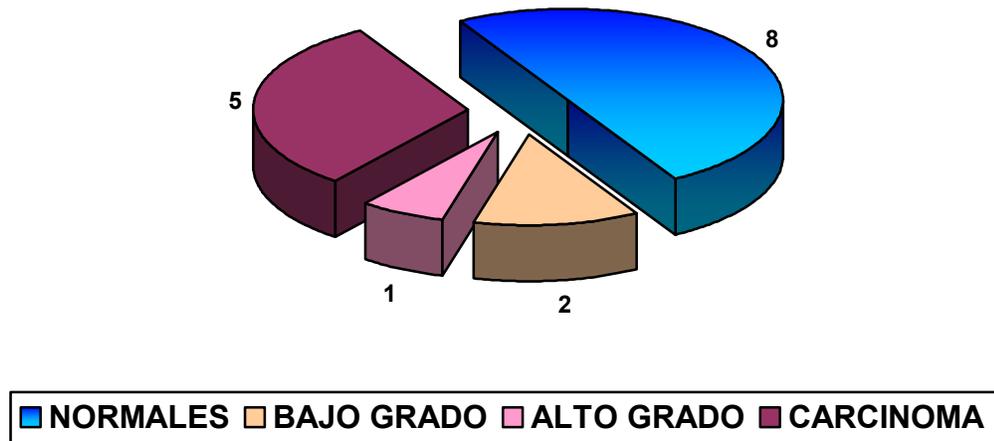
Fuente: Autores del proyecto

Figura 3.2. Hallazgos Histopatológicos de las áreas medidas en Biopsias



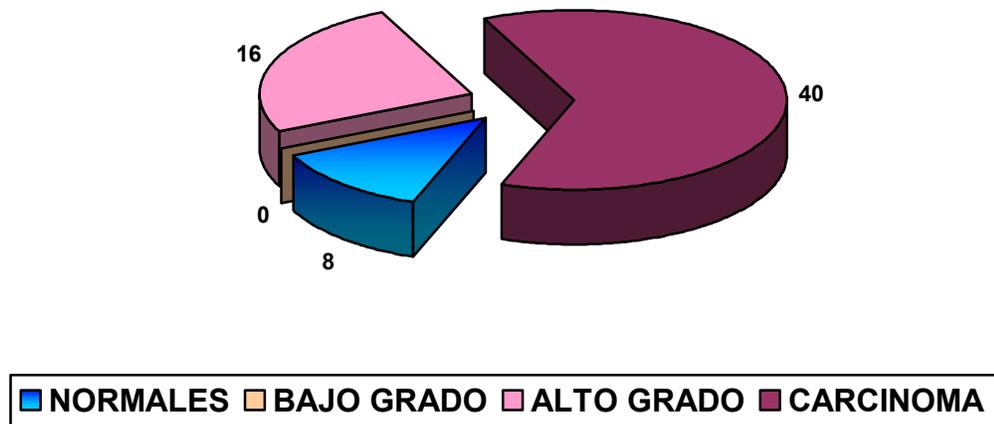
Fuente: Autores del proyecto

Figura 3.3. Hallazgos Histopatológicos de las áreas medidas en Conizaciones



Fuente: Autores del proyecto

Figura 3.4. Hallazgos Histopatológicos de las áreas medidas en Histerectomías



Fuente: Autores del proyecto

A continuación, se muestran las gráficas de los resultados de las mediciones del EIE de las diez (10) pacientes incluidas en el estudio piloto “Detección precoz de cáncer de cuello uterino basada en espectro de impedancia eléctrica”. Cada gráfica corresponde a un área de medición y posee un recuadro donde se enfatiza el diagnóstico histopatológico de acuerdo al Sistema de Clasificación Bethesda 2001. Adicionalmente se anexa una tabla que resume la descripción microscópica del espécimen.

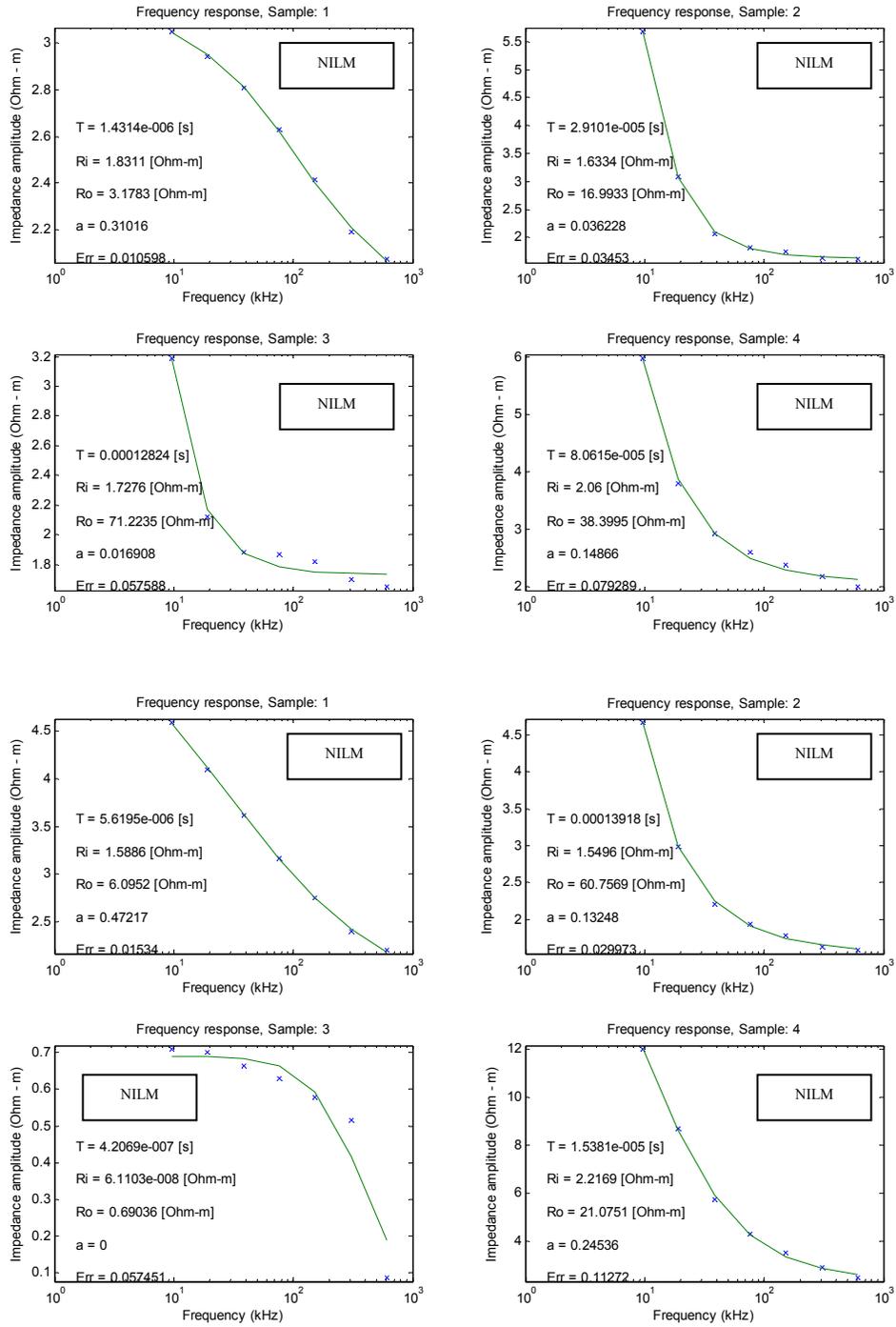
Las figuras están organizadas en tres grupos de acuerdo al tipo de espécimen procesado (biopsia, conización o histerectomía):

3.1. BIOPSIAS

Las mediciones del EIE en biopsias se realizaron en el quirófano del Hospital San Juan de Dios de Floridablanca, bajo la supervisión del Médico Ginecólogo Dr. Jorge Mejía. Los datos se recolectaron siguiendo el procedimiento para la medición del EIE en tejido cervical presentado en el capítulo 2, ítem 2.4, previo consentimiento escrito de la paciente.

Cada grupo de gráficas corresponde a las 4 biopsias - representativas de cada cuadrante cervical- tomadas a 4 mujeres. Debido al hallazgo macroscópico de cervicitis severa en las pacientes N° 1 y 4 se repitieron las mediciones del EIE. Figuras 3.5. a 3.8.

Figura 3.5. Resultados paciente 1.



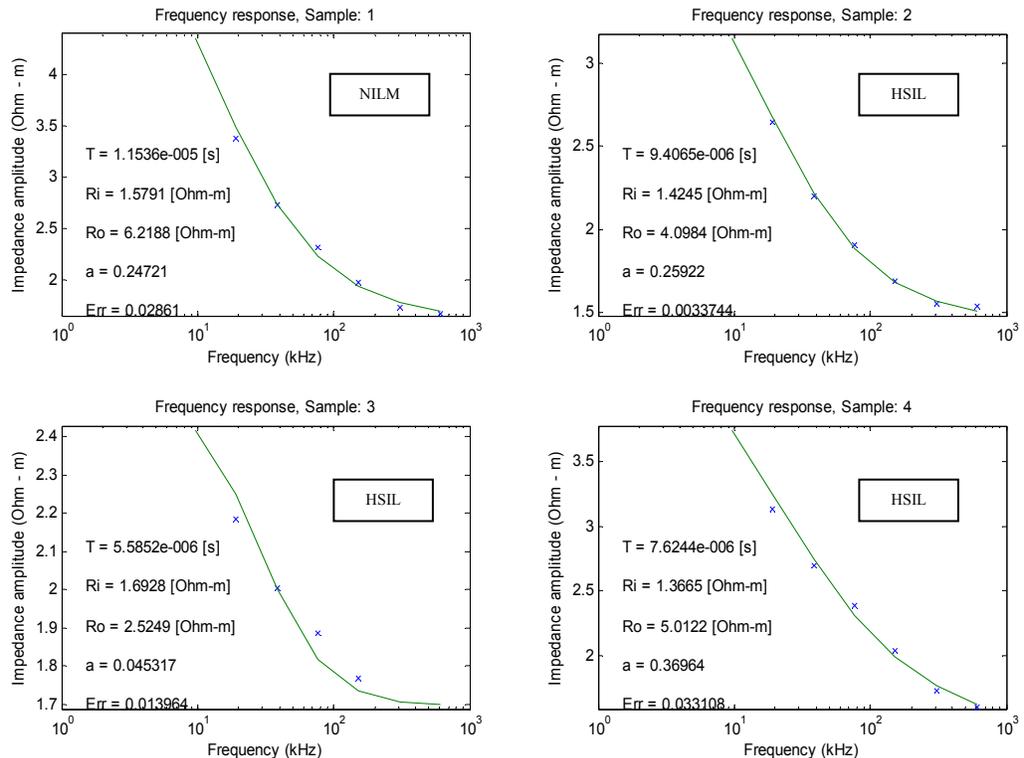
Fuente: MIRANDA, David. “Detección de cáncer de cuello uterino basada en espectro de impedancia eléctrica”. Bucaramanga, 2005, 128p. Tesis de Maestría (Maestría en Ingeniería, Área Ingeniería Electrónica). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físico-Mecánicas.

Tabla 3.1. Reporte Histopatológico de la paciente 1.

PACIENTE 1			
CORTE	AREAS	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA	BETHESDA
1	1	Metaplasia escamosa madura e inmadura. Formación de quistes de Naboth. Cervicitis crónica activa severa.	NILM
2	2		
3	3		
4	4		

Fuente: Autores del proyecto

Figura 3.6. Resultados paciente 2.



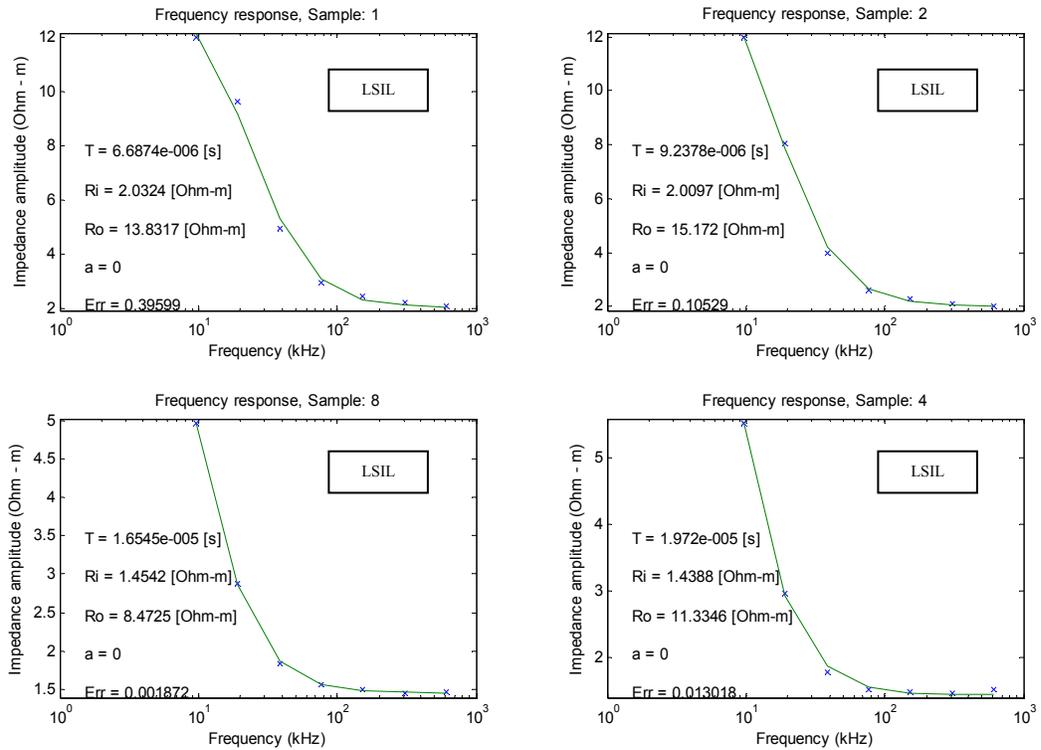
Fuente: MIRANDA, David. “Detección de cáncer de cuello uterino basada en espectro de impedancia eléctrica”. Bucaramanga, 2005, 128p. Tesis de Maestría (Maestría en Ingeniería, Área Ingeniería Electrónica). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físico-Mecánicas.

Tabla 3.2. Reporte Histopatológico de la paciente 2.

PACIENTE 2			
CORTE	AREAS	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA	BETHESDA
1	1	Metaplasia escamosa madura. Cervicitis crónica moderada.	NILM
2	2	Displasia Severa asociada a cambios citopáticos sugestivos de VPH	HSIL
3	3	Displasia moderada.	HSIL
4	4	Displasia Severa asociada a cambios citopáticos sugestivos de VPH	HSIL

Fuente: Autores del proyecto.

Figura 3.7. Resultados paciente 3.



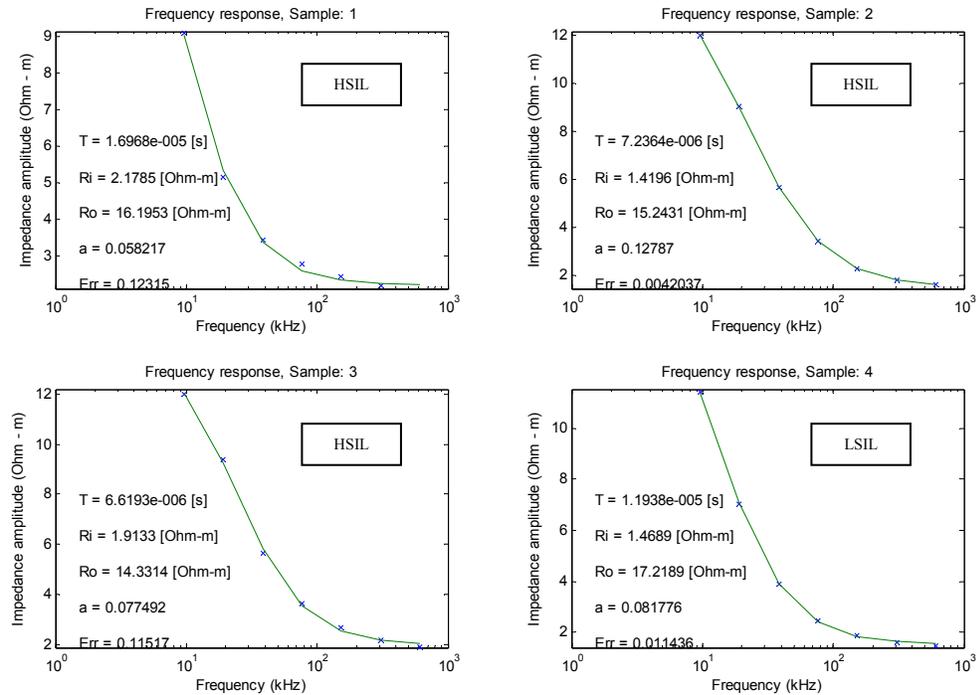
Fuente: MIRANDA, David. “Detección de cáncer de cuello uterino basada en espectro de impedancia eléctrica”. Bucaramanga, 2005, 128p. Tesis de Maestría (Maestría en Ingeniería, Área Ingeniería Electrónica). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físico-Mecánicas.

Tabla 3.3. Reporte Histopatológico de la paciente 3.

PACIENTE 3			
CORTE	AREAS	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA	BETHESDA
1	1	Cambios citopáticos sugestivos de infección por VPH acompañados de focos de metaplasia escamosa madura, hiperplasia de células basales y cervicitis crónica moderada.	LSIL
2	2		
3	3		
4	4		

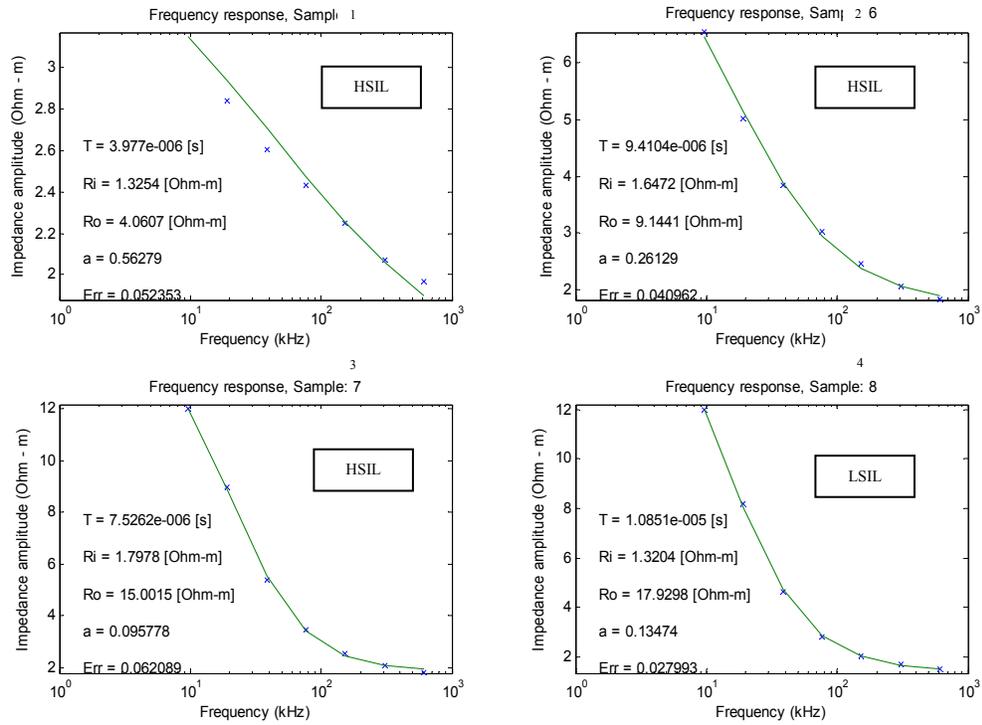
Fuente: Autores del proyecto.

Figura 3.8.a. Resultados paciente 4.



Fuente: MIRANDA, David. “Detección de cáncer de cuello uterino basada en espectro de impedancia eléctrica”. Bucaramanga, 2005, 128p. Tesis de Maestría (Maestría en Ingeniería, Área Ingeniería Electrónica). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físico-Mecánicas.

Figura 3.8.b. Resultados paciente 4.



Fuente: MIRANDA, David. “Detección de cáncer de cuello uterino basada en espectro de impedancia eléctrica”. Bucaramanga, 2005, 128p. Tesis de Maestría (Maestría en Ingeniería, Área Ingeniería Electrónica). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físico-Mecánicas.

Tabla 3.4. Reporte Histopatológico de la paciente 4.

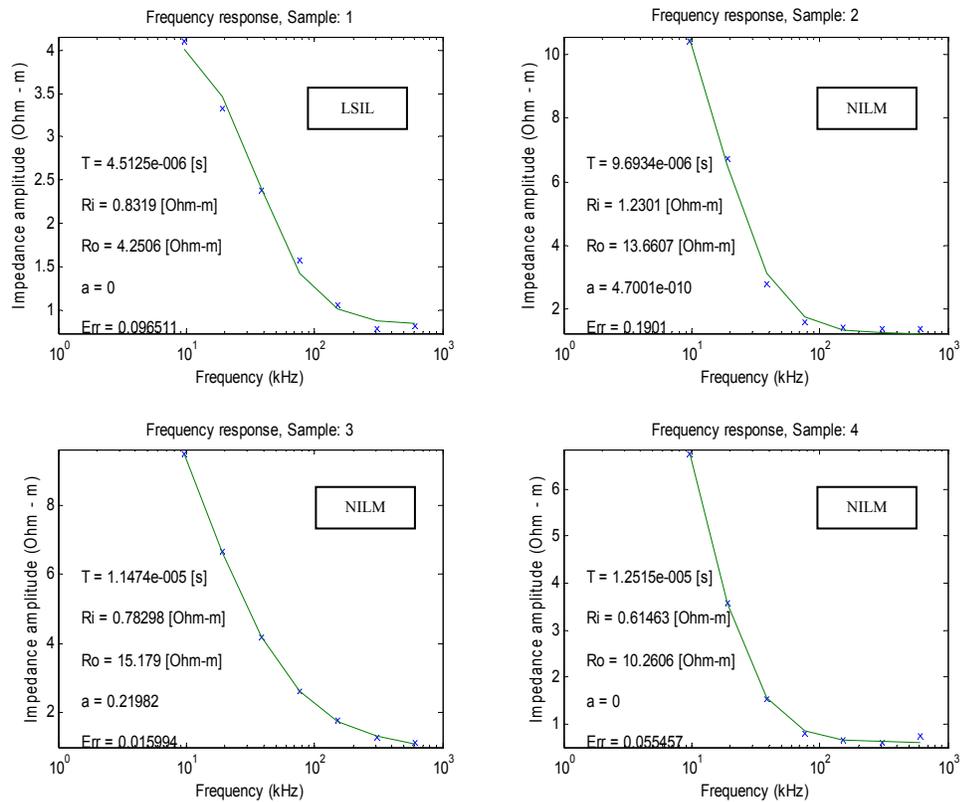
PACIENTE 4			
CORTE	AREAS	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA	BETHESDA
1	1	Lesión tumoral maligna epitelial in situ con extensión glandular. Cervicitis crónica moderada.	HSIL
2	2		
3	3		
4	4	Cambios citopáticos sugestivos de infección por VPH.	LSIL

Fuente: Autores del proyecto.

3.2. CONIZACIONES

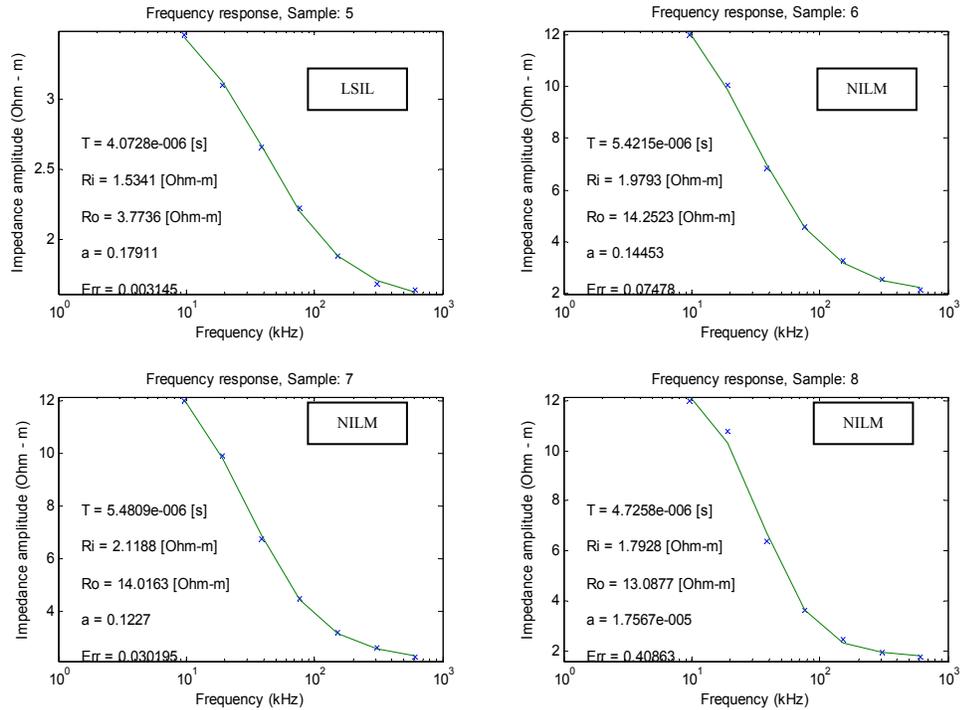
Sólo se incluyeron las mediciones de EIE de una paciente perteneciente al Hospital San Juan de Dios de Floridablanca. Los datos se recolectaron siguiendo el Procedimiento para la medición del EIE en tejido cervical presentado en el capítulo 2, ítem 2.4, previo consentimiento escrito de la paciente. El resultado de los 8 puntos de medición y el estudio histopatológico es presentado en las figuras 3.9. a y b; así como, la tabla 3.5.

Figura 3.9.a. Resultados paciente 5.



Fuente: MIRANDA, David. "Detección de cáncer de cuello uterino basada en espectro de impedancia eléctrica". Bucaramanga, 2005, 128p. Tesis de Maestría (Maestría en Ingeniería, Área Ingeniería Electrónica). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físico-Mecánicas.

Figura 3.9.b. Resultados paciente 5.



Fuente: MIRANDA, David. “Detección de cáncer de cuello uterino basada en espectro de impedancia eléctrica”. Bucaramanga, 2005, 128p. Tesis de Maestría (Maestría en Ingeniería, Área Ingeniería Electrónica). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físico-Mecánicas.

Tabla 3.5. Reporte Histopatológico de la paciente 5.

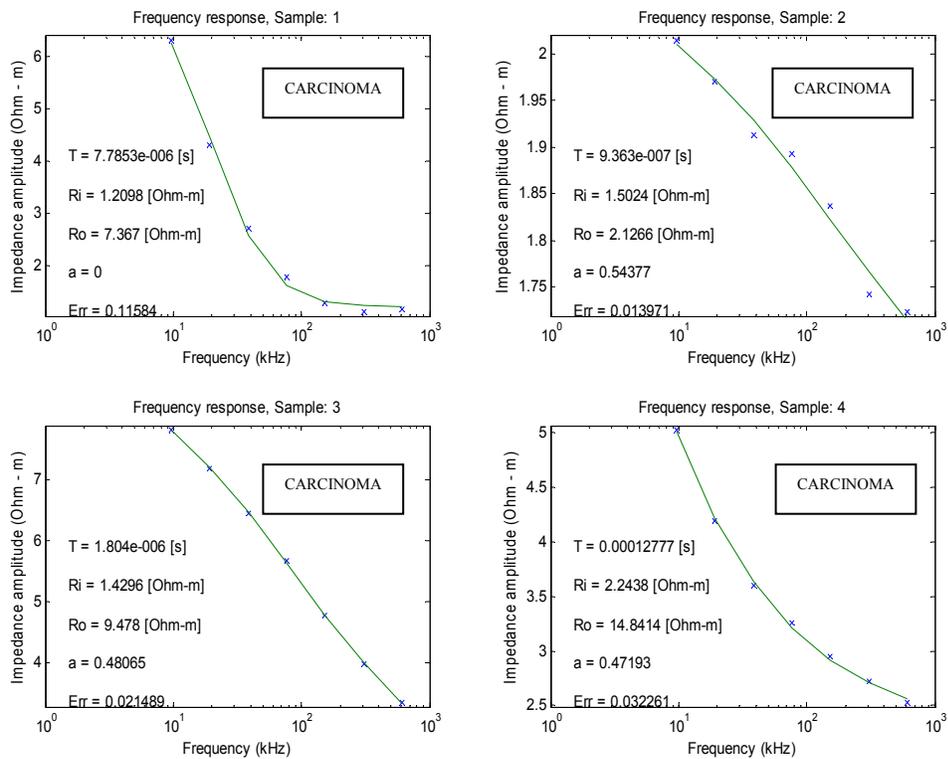
PACIENTE 5			
CORTE	AREAS	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA	BETHESDA
1	1 y 5	Lesión intraepitelial escamosa que compromete el tercio inferior del epitelio escamoso acompañado de cambios citopáticos sugestivos de infección por VPH.	LSIL
2	2 y 6	Cervicitis crónica leve	NILM
3	3 y 7		
4	4 y 8		

Fuente: Autores del proyecto

3.3. HISTERECTOMÍAS

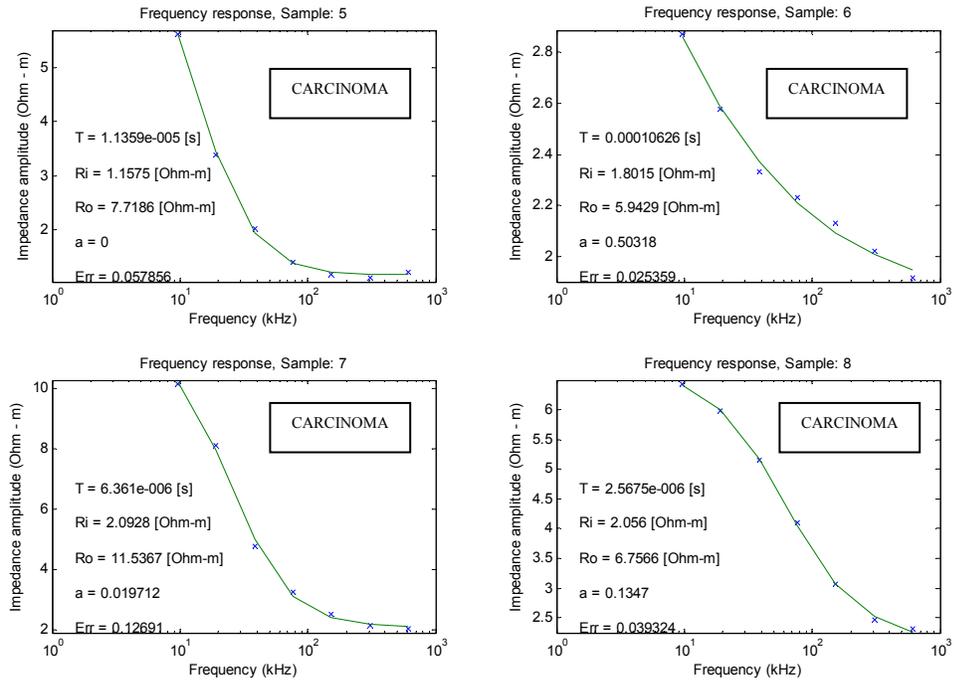
Las mediciones del EIE se realizaron sobre 5 cuellos uterinos obtenidos por histerectomías. Los datos se recolectaron siguiendo el Procedimiento para la medición del EIE en tejido cervical presentado en el capítulo 2, ítem 2.4, previo consentimiento escrito de la paciente y son presentados en las figuras 3.10. a 3.14. y las tablas 3.6 a 3.10.

Figura 3.10.a. Resultados paciente 6



Fuente: MIRANDA, David. “Detección de cáncer de cuello uterino basada en espectro de impedancia eléctrica”. Bucaramanga, 2005, 128p. Tesis de Maestría (Maestría en Ingeniería, Área Ingeniería Electrónica). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físico-Mecánicas.

Figura 3.10.b. Resultados paciente 6



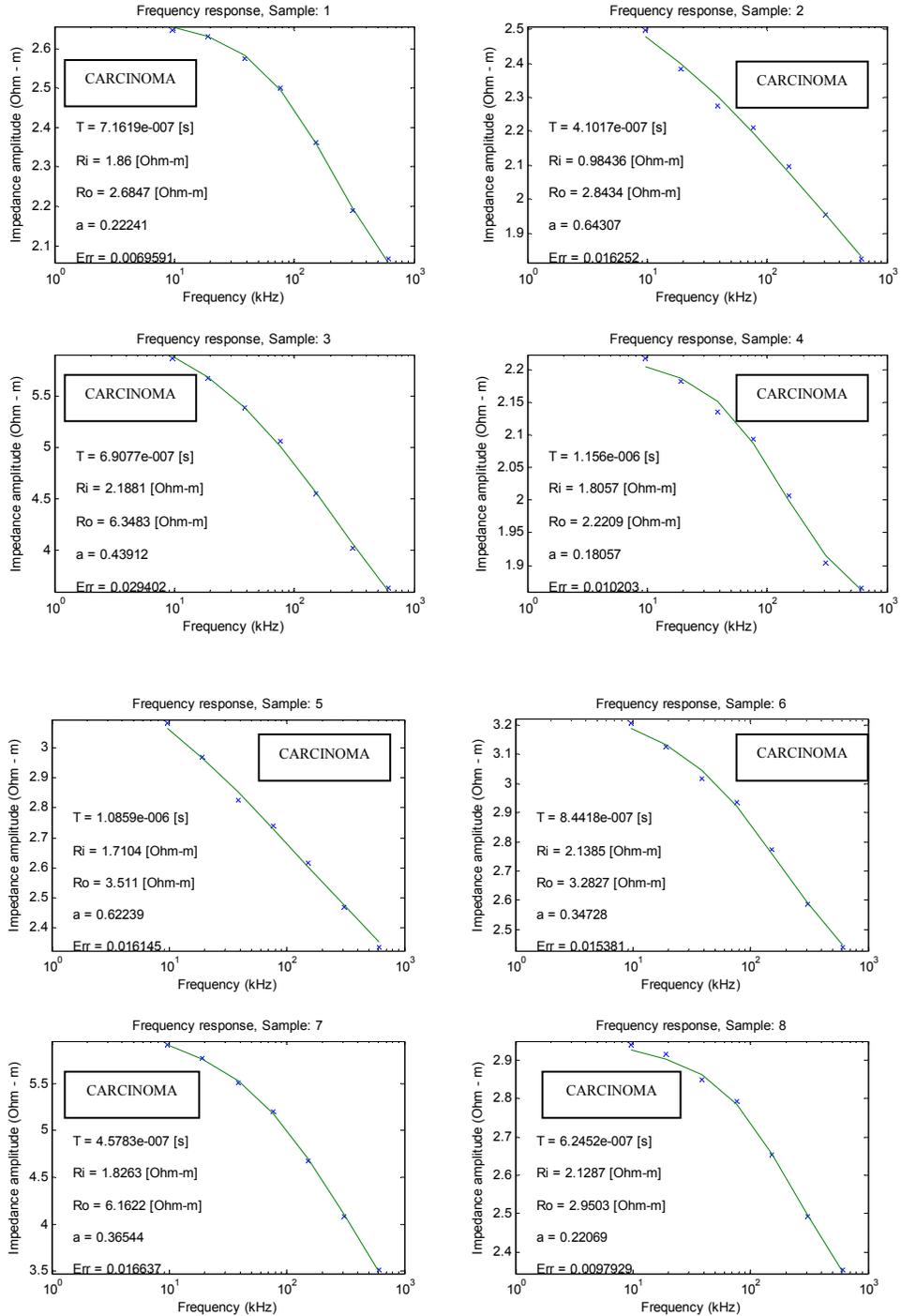
Fuente: MIRANDA, David. “Detección de cáncer de cuello uterino basada en espectro de impedancia eléctrica”. Bucaramanga, 2005, 128p. Tesis de Maestría (Maestría en Ingeniería, Área Ingeniería Electrónica). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físico-Mecánicas.

Tabla 3.6. Reporte Histopatológico de la paciente 6.

PACIENTE 6			
CORTE	AREAS	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA	BETHESDA
1	1 y 5	Lesión tumoral maligna infiltrante de origen epitelial compuesta por células grandes dispuestas en sábanas con viabilidad del 80%. Se acompaña de moderado infiltrado inflamatorio de predominio mononuclear y se reconocen cambios citológicos secundarios a radioterapia previa.	Carcinoma Escamocelular
2	2 y 6		
3	3 y 7		
4	4 y 8		

Fuente: Autores del proyecto.

Figura 3.11. Resultados paciente 7.



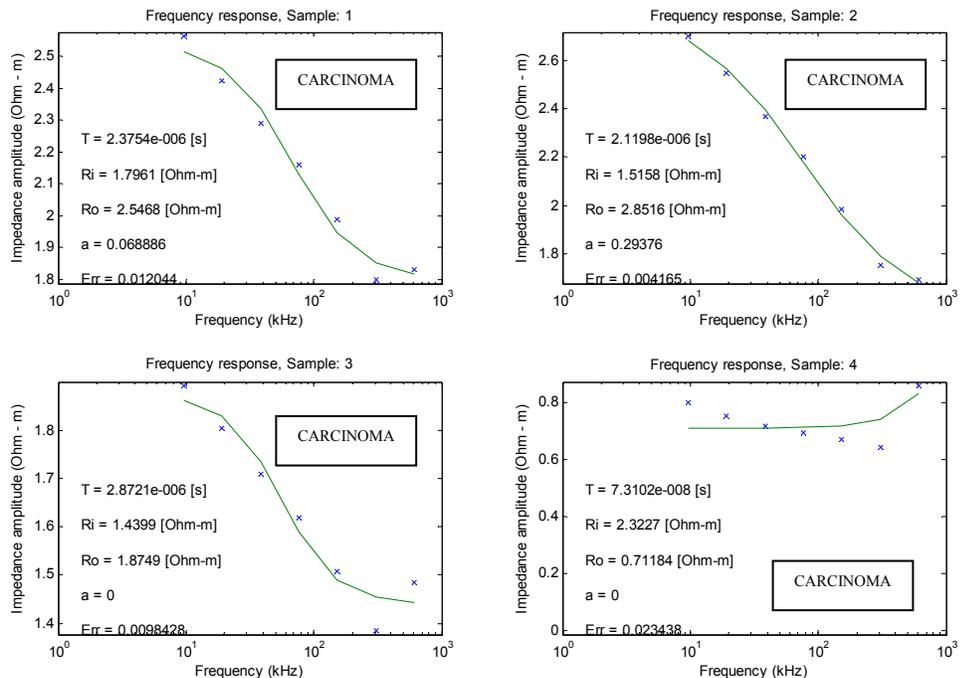
Fuente: MIRANDA, David. “Detección de cáncer de cuello uterino basada en espectro de impedancia eléctrica”. Bucaramanga, 2005, 128p. Tesis de Maestría (Maestría en Ingeniería, Área Ingeniería Electrónica). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físico-Mecánicas.

Tabla 3.7. Reporte Histopatológico de la paciente 7.

PACIENTE 7			
CORTE	AREAS	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA	BETHESDA
1	1 y 5	Lesión tumoral maligna infiltrante de origen epitelial compuesta por células grandes dispuestas en nidos y sábanas rodeadas por reacción granulomatosa de tipo cuerpo extraño, inflamación crónica activa severa, hialinización vascular y fibrosis estromal. Se reconocen cambios citológicos secundarios a radioterapia previa.	Carcinoma Escamocelular
2	2 y 6		
3	3 y 7		
4	4 y 8		

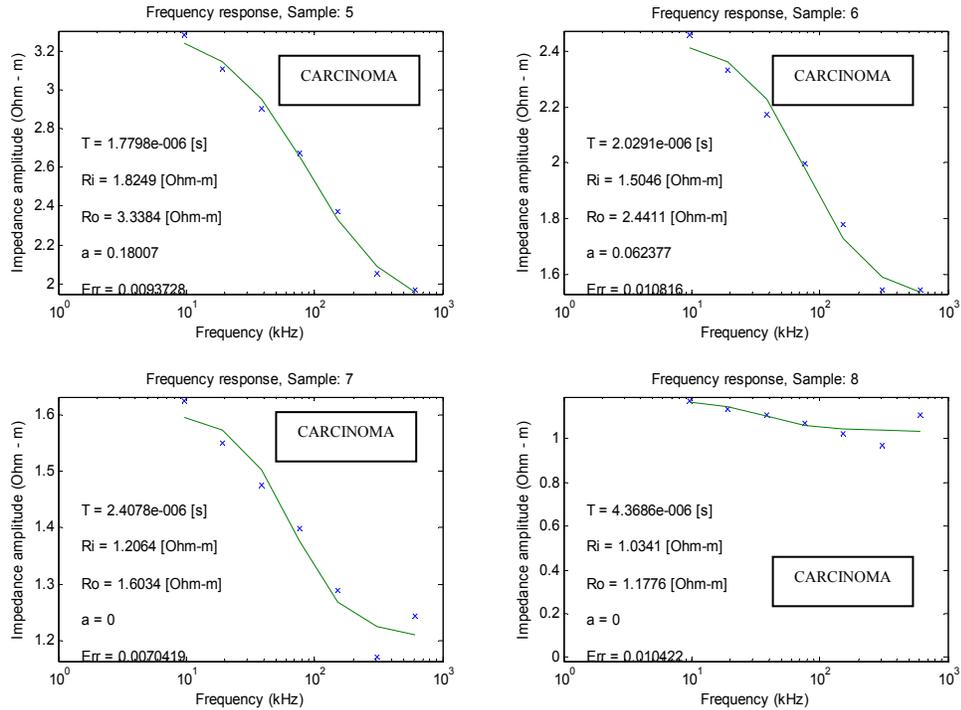
Fuente: Autores del proyecto

Figura 3.12.a. Resultados paciente 8.



Fuente: MIRANDA, David. "Detección de cáncer de cuello uterino basada en espectro de impedancia eléctrica". Bucaramanga, 2005, 128p. Tesis de Maestría (Maestría en Ingeniería, Área Ingeniería Electrónica). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físico-Mecánicas.

Figura 3.12.b. Resultados paciente 8.



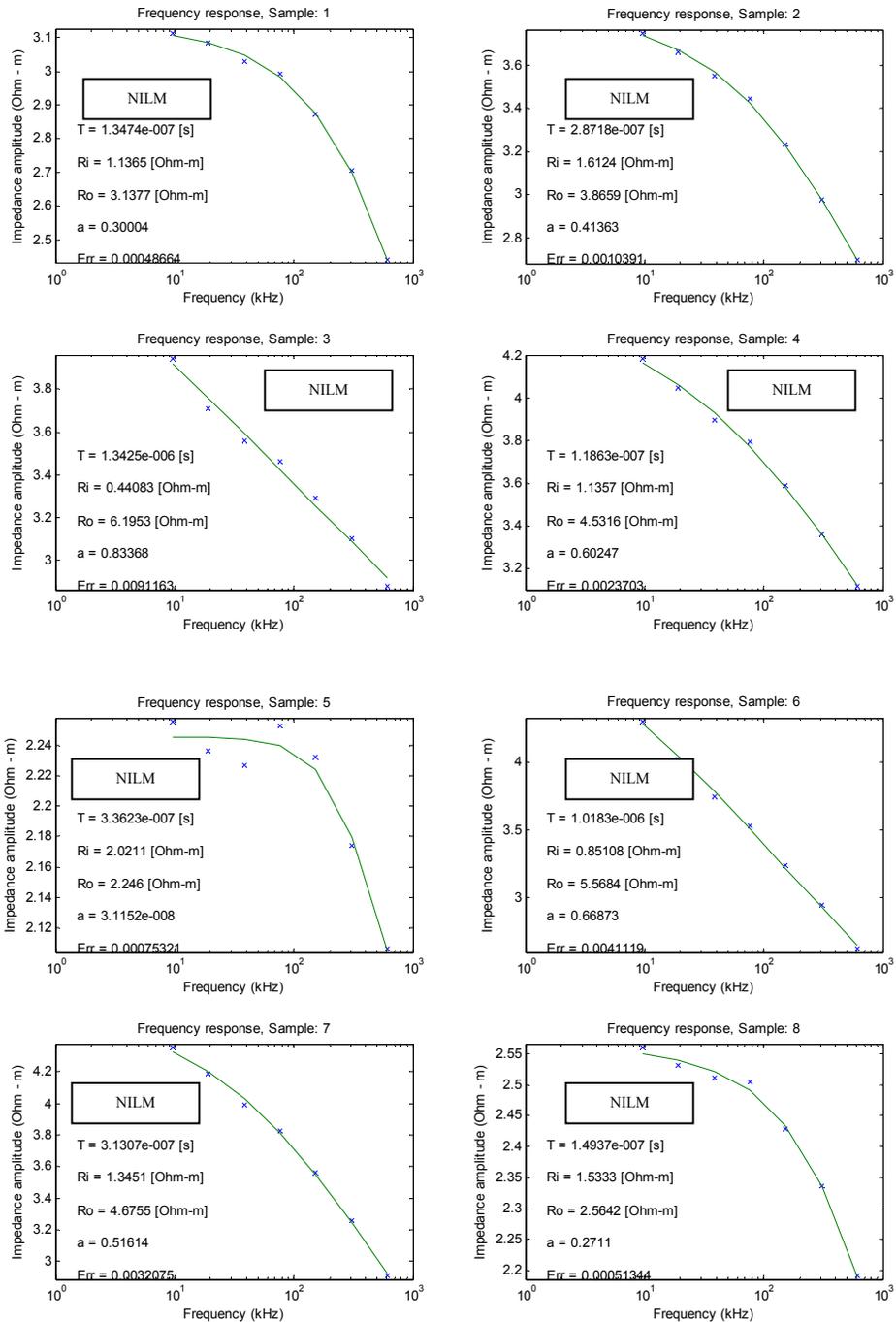
Fuente: MIRANDA, David. “Detección de cáncer de cuello uterino basada en espectro de impedancia eléctrica”. Bucaramanga, 2005, 128p. Tesis de Maestría (Maestría en Ingeniería, Área Ingeniería Electrónica). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físico-Mecánicas.

Tabla 3.8. Reporte Histopatológico de la paciente 8.

PACIENTE 8			
CORTE	AREAS	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA	BETHESDA
1	1 y 5	Lesión tumoral maligna infiltrante de origen epitelial compuesta por células grandes, dispuestas en glándulas con producción de moco extracelular del 30% y diferenciación a células claras en el 20% con extensa invasión linfática. Se acompaña de fibrosis.	Adenocarcinoma Endocervical
2	2 y 6		
3	3 y 7		
4	4 y 8		

Fuente: Autores del proyecto.

Figura 3.13. Resultados paciente 9.



Fuente: MIRANDA, David. “Detección de cáncer de cuello uterino basada en espectro de impedancia eléctrica”. Bucaramanga, 2005, 128p. Tesis de Maestría (Maestría en Ingeniería, Área Ingeniería Electrónica). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físico-Mecánicas.

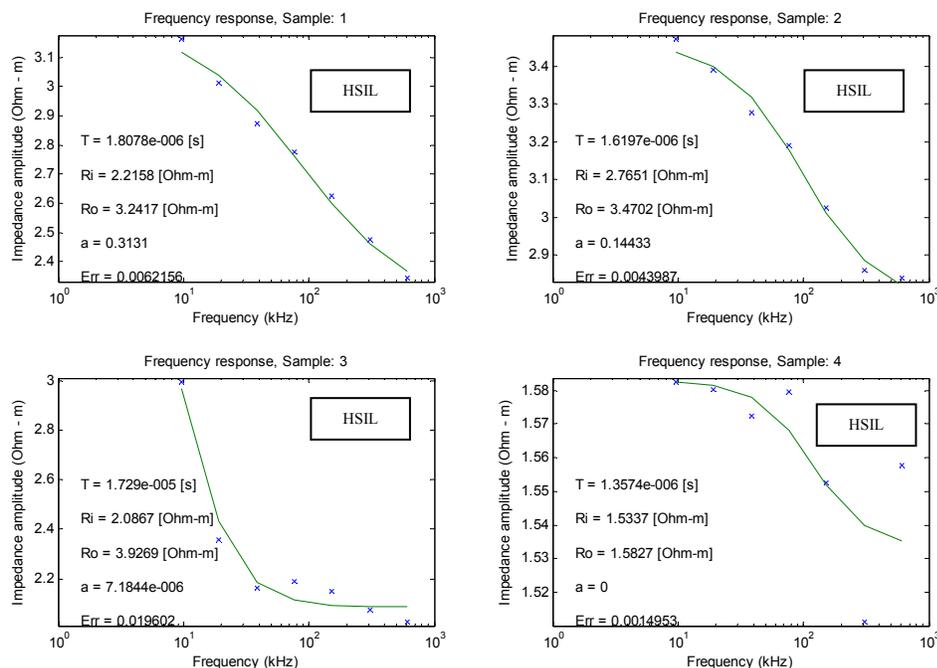
Observación: La paciente N° 9 tenía diagnóstico de Carcinoma Escamocelular Infiltrante Estadio III tratada con Quimioterapia, Radioterapia y posterior histerectomía ampliada, salpingooforectomía bilateral con linfadenectomía pélvica y paraórtica. Al realizar la evaluación histopatológica del Cérvix no se encontró tumor residual; por esta razón quedó clasificada en el grupo de normales.

Tabla 3.9. Reporte Histopatológico de la paciente 9.

PACIENTE 9			
CORTE	AREAS	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA	BETHESDA
1	1 y 5	Cérvix revestido por epitelio escamoso estratificado con ulceración focal y severo infiltrado inflamatorio mononuclear estromal. No se observa lesión tumoral residual.	NILM
2	2 y 6		
3	3 y 7		
4	4 y 8		

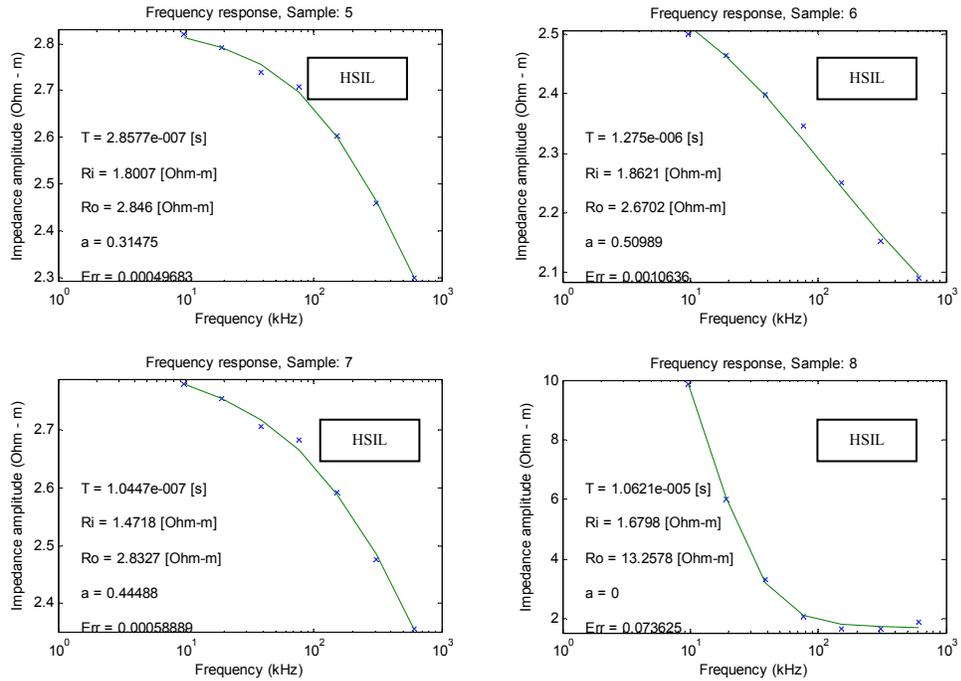
Fuente: Autores del proyecto.

Figura 3.14.a. Resultados paciente 10.



Fuente: MIRANDA, David. “Detección de cáncer de cuello uterino basada en espectro de impedancia eléctrica”. Bucaramanga, 2005, 128p. Tesis de Maestría (Maestría en Ingeniería, Área Ingeniería Electrónica). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físico-Mecánicas.

Figura 3.14.b. Resultados paciente 10.



Fuente: MIRANDA, David. “Detección de cáncer de cuello uterino basada en espectro de impedancia eléctrica”. Bucaramanga, 2005, 128p. Tesis de Maestría (Maestría en Ingeniería, Área Ingeniería Electrónica). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físico-Mecánicas.

Tabla 3.10. Reporte Histopatológico de la paciente 10.

PACIENTE 10			
CORTE	AREAS	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA	BETHESDA
1	1 y 5	Lesión tumoral maligna intraepitelial (Carcinoma Escamocelular in situ) con extensión glandular.	HSIL
2	2 y 6		
3	3 y 7		
4	4 y 8	Displasia Severa (NIC 3)	HSIL

Fuente: Autores del proyecto.

En la Tabla 3.11. se presenta la tabulación de los datos pertenecientes a las diez pacientes del estudio piloto con el valor de los parámetros del modelo Cole-Cole calculados con la herramienta Vibie_Look_Calibration descrita en [MIRANDA_05] y la clasificación del Sistema Bethesda 2001.

Tabla 3.11. Tabulación de los resultados de medición del EIE del estudio piloto.

CLASIFICACIÓN BETHESDA 2001	T [S]	RI [Ω-M]	RO [Ω-M]	α	ERR*
NILM	5.42150E-06	1.9793	14.2523	0.1445300	7.48E-02
NILM	5.48090E-06	2.1188	14.0163	0.1227000	3.02E-02
NILM	4.72580E-06	1.7928	13.0877	0.0000176	4.09E-01
NILM	9.69340E-06	1.2301	13.6607	0.0000000	1.90E-01
NILM	1.14700E-05	0.7830	15.1790	0.2198200	1.60E-02
NILM	1.25150E-05	0.6146	10.2606	0.0000000	5.55E-02
NILM	1.43140E-06	1.8311	3.1783	0.3101600	1.06E-02
NILM	2.91010E-05	1.6334	16.9933	0.0362280	3.45E-02
NILM	1.28240E-04	1.7276	71.2235	0.0169080	5.76E-02
NILM	8.06150E-05	2.0600	38.3995	0.1488600	7.93E-02
NILM	5.61950E-06	1.5886	6.0952	0.4721700	1.53E-02
NILM	1.39180E-04	1.5496	60.7569	0.1324800	3.00E-02
NILM	4.20690E-07	0.0000	0.6904	0.0000000	5.75E-02
NILM	1.53810E-05	2.2169	21.0751	0.2453600	1.13E-01
NILM	1.34740E-07	1.1365	3.1377	0.3000400	4.87E-04
NILM	2.87180E-07	1.6124	3.8659	0.4136300	1.04E-03
NILM	1.34250E-06	0.4408	6.1953	0.8336800	9.11E-03
NILM	1.18630E-07	1.1357	4.5316	0.6024700	2.37E-03
NILM	3.36230E-07	2.0211	2.2460	0.0000000	7.53E-04
NILM	1.01830E-06	0.8511	5.5684	0.6687300	4.11E-03
NILM	3.13070E-07	1.3451	4.6755	0.5161400	3.21E-03
NILM	1.49370E-07	1.5333	2.5642	0.2711000	5.13E-04
LSIL	4.07280E-06	1.5341	3.7736	0.1791100	3.15E-03
LSIL	4.51250E-06	0.8319	4.2506	0.0000000	9.65E-02
LSIL	1.19380E-05	1.4689	17.2189	0.0817760	1.14E-02
LSIL	1.08510E-05	1.3204	17.9298	0.1347400	2.80E-02
LSIL	6.68740E-06	2.0324	13.8317	0.0000000	3.96E-01
LSIL	9.23780E-06	2.0097	15.1720	0.0000000	1.05E-01
LSIL	1.65450E-05	1.4542	8.4725	0.0000000	1.87E-03
LSIL	1.97200E-05	1.4880	11.3346	0.0000000	1.30E-02
HSIL	1.15360E-05	1.5791	6.2188	0.2472100	2.86E-02
HSIL	9.40650E-06	1.4245	4.0984	0.2592200	3.37E-03
HSIL	5.58520E-06	1.6928	2.5249	0.0453170	1.40E-02

HSIL	7.62440E-06	1.3665	5.0122	0.3696400	3.31E-02
HSIL	1.80700E-06	2.2158	3.2417	0.3131000	6.22E-03
HSIL	1.61970E-06	2.7651	3.4702	0.1443300	4.40E-03
HSIL	1.72900E-05	2.0867	3.9269	0.0000072	1.96E-02
HSIL	1.35740E-06	1.5337	1.5827	0.0000000	1.50E-03
HSIL	2.85770E-07	1.8007	2.8460	0.3147500	4.97E-04
HSIL	1.27500E-06	1.8621	2.6702	0.5098900	1.06E-03
HSIL	1.04470E-07	1.4718	2.8327	0.4448800	5.89E-04
HSIL	1.69680E-05	2.1785	16.1953	0.0521700	1.23E-01
HSIL	7.23640E-06	1.4196	15.2431	0.1278700	4.20E-03
HSIL	6.61930E-06	1.9133	14.3314	0.0774920	1.15E-01
HSIL	3.97700E-06	1.3254	4.0607	0.5627900	5.24E-02
HSIL	2.41040E-06	1.6472	9.1441	0.2612900	4.10E-02
HSIL	7.52620E-06	1.7978	15.0015	0.0957780	6.21E-02
CARCINOMA	7.78530E-06	1.2098	7.3670	0.0000000	1.15E-01
CARCINOMA	9.36300E-07	1.5054	2.1266	0.5437700	1.39E-02
CARCINOMA	1.80400E-06	1.4296	9.4780	0.4806500	2.15E-02
CARCINOMA	1.27770E-04	2.2438	14.8414	0.4719300	3.23E-02
ADENOCA	1.13590E-05	1.1575	7.7172	0.0000000	5.79E-02
ADENOCA	1.06260E-04	1.8016	5.9429	0.5031800	2.54E-02
ADENOCA	6.3610E-06	2.0928	11.5367	0.0197120	1.27E-01
ADENOCA	2.56750E-06	2.0560	6.7566	0.1347000	3.93E-02
CARCINOMA	7.16190E-07	1.8600	2.6847	0.2224100	6.96E-03
CARCINOMA	4.10170E-07	0.9844	2.8434	0.6430700	1.63E-02
CARCINOMA	6.90770E-07	2.1881	6.3483	0.4391200	2.94E-02
CARCINOMA	1.15600E-06	1.8057	2.2209	0.1805700	1.02E-02
CARCINOMA	1.08590E-06	1.7104	3.5110	0.6223900	1.65E-02
CARCINOMA	8.44180E-07	2.1385	3.2827	0.3472800	1.54E-02
CARCINOMA	4.57830E-07	1.8263	6.1622	0.3654400	1.66E-02
CARCINOMA	6.24520E-07	2.1287	2.2950	0.2206900	9.79E-03
ADENOCA	2.37540E-06	1.7961	2.5168	0.0688860	1.20E-02
ADENOCA	2.11980E-06	1.5159	2.8516	0.2937600	4.17E-03
ADENOCA	2.87210E-06	1.4399	1.8749	0.0000000	9.84E-03
CARCINOMA	1.77980E-06	1.8249	3.3384	0.1800700	9.37E-03
CARCINOMA	2.02910E-06	1.5046	2.4411	0.0623770	1.08E-02
CARCINOMA	2.40780E-06	1.2064	1.6034	0.0000000	7.04E-03
CARCINOMA	4.36890E-06	1.0341	1.1776	0.0000000	1.04E-02

Fuente: MIRANDA, David. "Detección de cáncer de cuello uterino basada en espectro de impedancia eléctrica". Bucaramanga, 2005, 128p. Tesis de Maestría (Maestría en Ingeniería, Área Ingeniería Electrónica). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físico-Mecánicas.

Se exceptuaron los datos de 2 muestras: Muestra 1 de la paciente 2, debido a duda sobre la concordancia entre las mediciones del EIE de un área NILM adyacente a áreas de HSIL y la muestra 4, de la paciente 8, la cual presentó un espectro de impedancia eléctrica anómalo.

Finalmente, se reportan los diagnósticos histopatológicos –según Sistema Bethesda 2001- de las 7 pacientes excluidas del estudio piloto. Tablas 3.12. a 3.18.

Tabla 3.12. Reporte Histopatológico de la paciente 11. (Biopsias)

PACIENTE 11			
CORTE	AREAS	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA	BETHESDA
1	1	Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (Displasia Leve y cambios citopáticos sugestivos de infección por VPH).	LSIL
2	2		
3	3	Lesión intraepitelial escamosa de alto grado (displasia moderada) asociados a	HSIL
4	4		

Fuente: Autores del proyecto.

Observación: Esta paciente fue excluida del estudio piloto debido a error de la medición del EIE por humedad en la sonda.

Tabla 3.13. Reporte Histopatológico de la paciente 12. (Biopsias)

PACIENTE 12			
CORTE	AREAS	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA	BETHESDA
1	1	Cervicitis crónica con actividad moderada. Negativa para cambios virales, displasia y/o malignidad.	NILM
2	2		
3	3		
4	4		

Fuente: Autores del proyecto.

Observación: Esta paciente fue excluida del estudio piloto debido a falla del equipo de medición.

Tabla 3.14. Reporte Histopatológico de la paciente 13. (Histerectomía)

PACIENTE 13			
CORTE	AREAS	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA	BETHESDA
1	1 y 5	Lesión tumoral maligna infiltrante de origen epitelial conformada por células grandes dispuestas en sábanas que infiltran el estroma subyacente, generando moderada respuesta desmoplásica y aflujo inflamatorio crónico difuso.	Carcinoma Escamocelular
2	2 y 6		
3	3 y 7		
4	4 y 8		

Fuente: Autores del proyecto.

Observación: Esta paciente fue excluida del estudio piloto debido a la presencia de lesión tumoral vegetante de superficie irregular que impedía el contacto uniforme de la sonda de medición con la superficie cervical.

Tabla 3.15. Reporte Histopatológico de la paciente 14. (Biopsias)

PACIENTE 14			
CORTE	AREAS	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA	BETHESDA
1		Carcinoma escamocelular In Situ con extensión glandular.	HSIL
2		Displasia Severa asociada a cambios citopáticos sugestivos de infección por VPH	HSIL
3		Cambios citopáticos sugestivos de infección por VPH	LSIL
4		Cervicitis crónica moderada	NILM

Fuente: Autores del proyecto.

Observación: Se recibieron las 4 biopsias cervicales en un mismo recipiente, por esta razón fue excluida del estudio piloto.

Tabla 3.16. Reporte Histopatológico de la paciente 15. (Conización)

CORTES	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA	BETHESDA
11	En 6 de 11 cortes se aprecia lesión intraepitelial escamosa de alto grado (5 cortes con Carcinoma in Situ con extensión glandular y 1 corte con Displasia Severa) asociado a moderado infiltrado inflamatorio crónico estromal.	HSIL
	5 de 11 cortes con metaplasia escamosa acompañada de moderado infiltrado inflamatorio crónico estromal.	NILM

Fuente: Autores del proyecto.

Observación: Esta paciente fue excluida del estudio piloto debido a mediciones del EIE en puntos diferentes a las ocho áreas establecidas en el protocolo.

Tabla 3.17. Reporte Histopatológico de la paciente 16. (Histerectomía)

PACIENTE 16			
CORTE	AREAS	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA	BETHESDA
1	1 y 5	Lesión tumoral maligna de origen epitelial infiltrante conformada por papilas y glándulas revestidas por epitelio pseudoestratificado con pérdida de la polaridad y pleomorfismo nuclear rodeadas por severo infiltrado inflamatorio mononuclear.	Adenocarcinoma Endocervical
2	2 y 6		
3	3 y 7		
4	4 y 8		

Fuente: Autores del proyecto.

Observación: Esta paciente fue excluida del estudio piloto debido a la presencia de lesión tumoral vegetante de superficie irregular que impedía el contacto uniforme de la sonda de medición con la superficie cervical.

Tabla 3.18. Reporte Histopatológico de la paciente 17. (Histerectomía)

PACIENTE 17			
CORTE	AREAS	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA	BETHESDA
21		5 de 21 cortes con lesión intraepitelial escamosa de alto grado (NIC II y NIC III).	HSIL
		1 de 21 cortes con displasia leve.	LSIL
		15 de 21 cortes con Cervicitis Crónica Activa Moderada.	NILM

Fuente: Autores del proyecto.

Observación: Esta paciente fue excluida del estudio piloto debido a confusión en la rotulación de los cortes efectuados que impidió correlacionar el resultado histopatológico con un área exacta de medición del EIE.

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

La Organización Mundial de la Salud considera el Sistema de Clasificación de Bethesda (STB) como el método apropiado para informar la citología cervical y actualmente; dicha clasificación es empleada de manera equiparable para informar los resultados histopatológicos del cérvix.

Conociendo esta recomendación, se empleó el Sistema Bethesda para informar los resultados de las muestras cervicales utilizadas en el estudio piloto, y se aceptó la evaluación histopatológica como estándar primario – o estándar de oro- para la comparación con la nueva prueba diagnóstica.

Aunque este trabajo de grado consistía en desarrollar un procedimiento para el procesamiento de tejido cervical empleado en un estudio piloto de detección de lesiones displásicas y carcinomas cervicales mediante el uso de nuevas técnicas diagnósticas (EIE); se incluye a continuación un análisis de los resultados obtenidos en el estudio piloto Detección Precoz de Cáncer de Cérvix basado en EIE -mediante la aplicación de las pruebas ANOVA, DUNN'S y curvas ROC a los parámetro del modelo de Cole-Cole- para determinar la utilidad del espectro de impedancia eléctrica como nuevo método de tamizaje y/o diagnóstico del Cáncer de Cérvix.

4.1. MODELO DE COLE-COLE

El modelo de Cole-Cole permite ajustar los datos experimentales del espectro de impedancia eléctrica y comparar el estudio histopatológico de un tejido con sus características eléctricas, como muestra [MIRANDA_05],

Según los hermanos Cole, el espectro de impedancia eléctrica para la zona de dispersión beta (entre 1kHz y 10MHz) se puede expresar de la siguiente forma:

$$\rho(\omega) = R_i + \frac{R_o - R_i}{1 + (j\omega T)^{1-a}} \quad (1) \text{ [COLE_41]}$$

donde ω , es la frecuencia angular de la señal de excitación, R_i , la resistividad a alta frecuencia, R_o , la resistividad a baja frecuencia, τ , el tiempo de relajación del tejido, y α , el parámetro de dispersión.

4.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se puede realizar un análisis cuantitativo y/o cualitativo de los datos obtenidos en el estudio piloto de Detección Precoz de Cáncer de Cérnix basado en EIE [MIRANDA_05] y del Protocolo de Procesamiento de las muestras cervicales – objeto del presente trabajo de grado- creado para dicho estudio piloto.

Se eligió para el análisis cuantitativo el Análisis de Varianza Unidireccional - “ANOVA one way”⁺. [HERNANDEZ_03]. Esta prueba estadística de múltiples grupos, se utilizó para determinar diferencias significativas y reales; empleando varianzas y medias entre los resultados histopatológicos y los parámetros del modelo Cole-Cole con el objetivo de determinar la utilidad de las mediciones del EIE como herramienta de tamizaje del cáncer cervical.

La prueba ANOVA permite analizar si los resultados histopatológicos clasificados de acuerdo al Sistema Bethesda (STB) para anomalías de células epiteliales escamosas pueden ser discriminados empleando los parámetros del modelo Cole-Cole. Para ello se requiere la conformación de cuatro grupos con los valores numéricos de uno de los parámetros del modelo Cole-Cole -basados en la correlación con los resultados del reporte histopatológico- denominados como NILM o Negativos, LSIL, HSIL y Carcinoma Infiltrante de manera análoga al Sistema Bethesda y posterior aplicación de la prueba ANOVA para determinar presencia o ausencia de diferencias significativas entre los grupos de comparación.

Si no se demuestra diferencia estadísticamente significativa, se puede afirmar que el parámetro no permite discriminar entre los diferentes grados de Lesiones Intraepiteliales y el Carcinoma Infiltrante, debido a la similitud estadística entre los grupos. Por el contrario, si existe diferencia significativa, se demuestra correlación entre el rango numérico del parámetro en cuestión y el resultado histopatológico - dado que los grupos de los valores numéricos del parámetro de Cole-Cole elegido se conformaron de acuerdo con los resultados del estudio histopatológico-.

⁺ En este capítulo se usará el término ANOVA para hacer referencia a la prueba “ANOVA one way”

En el estudio piloto, una vez se determinaron los grupos de comparación de acuerdo al parámetro elegido del Modelo de Cole-Cole, se desarrolló una hipótesis nula y una hipótesis fundamental.

La hipótesis fundamental fue “el parámetro del modelo Cole-Cole elegido permite discriminar el grado de Lesión Intraepitelial o Infiltrante en el tejido cervical” y la hipótesis nula fue “No es posible discriminar el estadio de neoplasia intraepitelial de tejido de cuello uterino utilizando los parámetros, (R_o, R_i, τ) , del modelo de Cole-Cole”. Se usó el valor de p como parámetro de aceptación o rechazo de las hipótesis. Para este trabajo, se determinó como criterio para el rechazo de la hipótesis nula un valor de p menor 0.05. [HERNÁNDEZ_03]. Para realizar la prueba ANOVA se utilizó el código ANOVA_m, en Matlab. [MIRANDA_05].

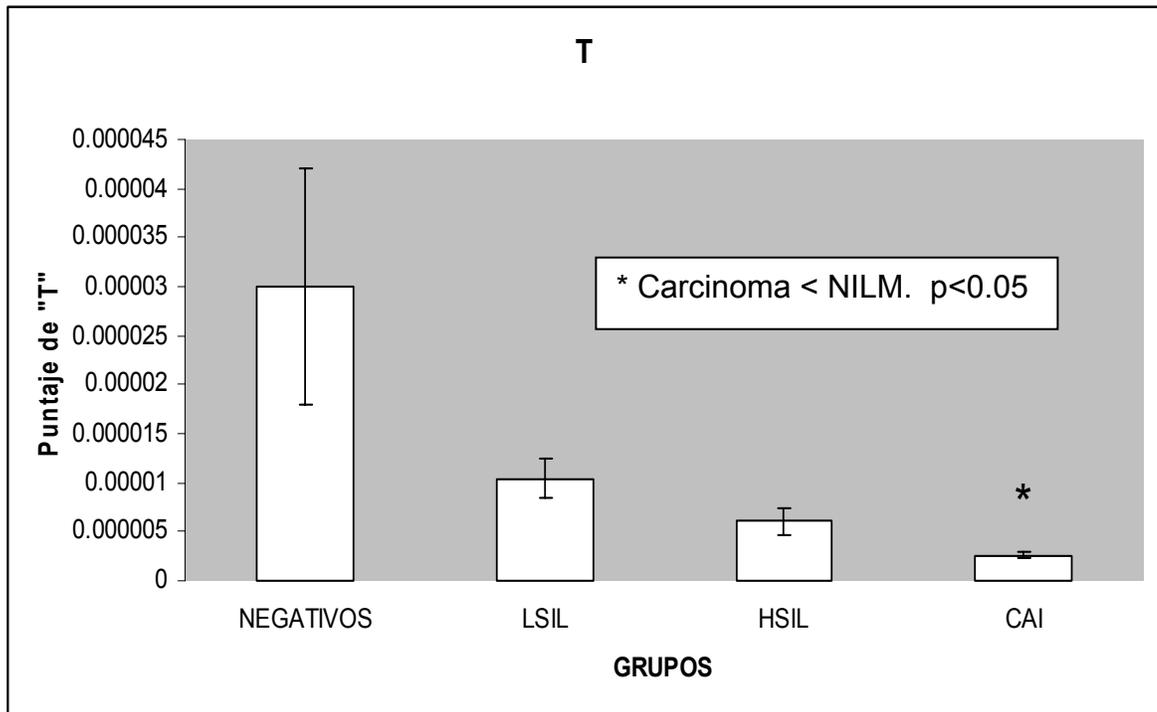
A continuación se muestra el análisis de los valores obtenidos de la medición del EIE en las muestras cervicales del estudio piloto para los tres parámetros más significativos (R_o, R_i, τ) del modelo de Cole-Cole. El parámetro a fue excluido del análisis ANOVA por que no discrimina apropiadamente los estadios de neoplasia intraepitelial como se concluye en el estudio de [MIRANDA_06].

El primer parámetro es “ τ ”, el cual se analizó con ANOVA no paramétrico (Kruskal-Wallis) debido a la imposibilidad de aplicar un análisis de varianza paramétrico por ausencia de criterios de normalidad y homogeneidad de las dispersiones entre los datos.

El ANOVA no paramétrico mostró diferencias significativas con un valor de H igual a 9.304 y un valor de p de 0.026. Posteriormente, se realizó una prueba de Dunn’s -recomendada para muestras de diferentes tamaños- donde se mostró que los valores de “ τ ” para el grupo Carcinoma fueron significativamente mayores que los valores del grupo NILM ($p < 0.05$); sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los otros grupos. Finalmente, al practicar comparaciones múltiples entre todos los grupos no se encontraron diferencias significativas, muy posiblemente debido al tamaño de las muestras. Figura 4.1.

La evaluación del parámetro “ R_i ” entre los grupos de comparación se realizó con ANOVA paramétrico (criterios de distribución y dispersión adecuados). Los resultados mostraron un valor de H igual a 1.435 y una p de 0.246. El poder de la prueba fue de 0.127, el cual es menor que el valor deseado de 0.8. Figura 4.2.

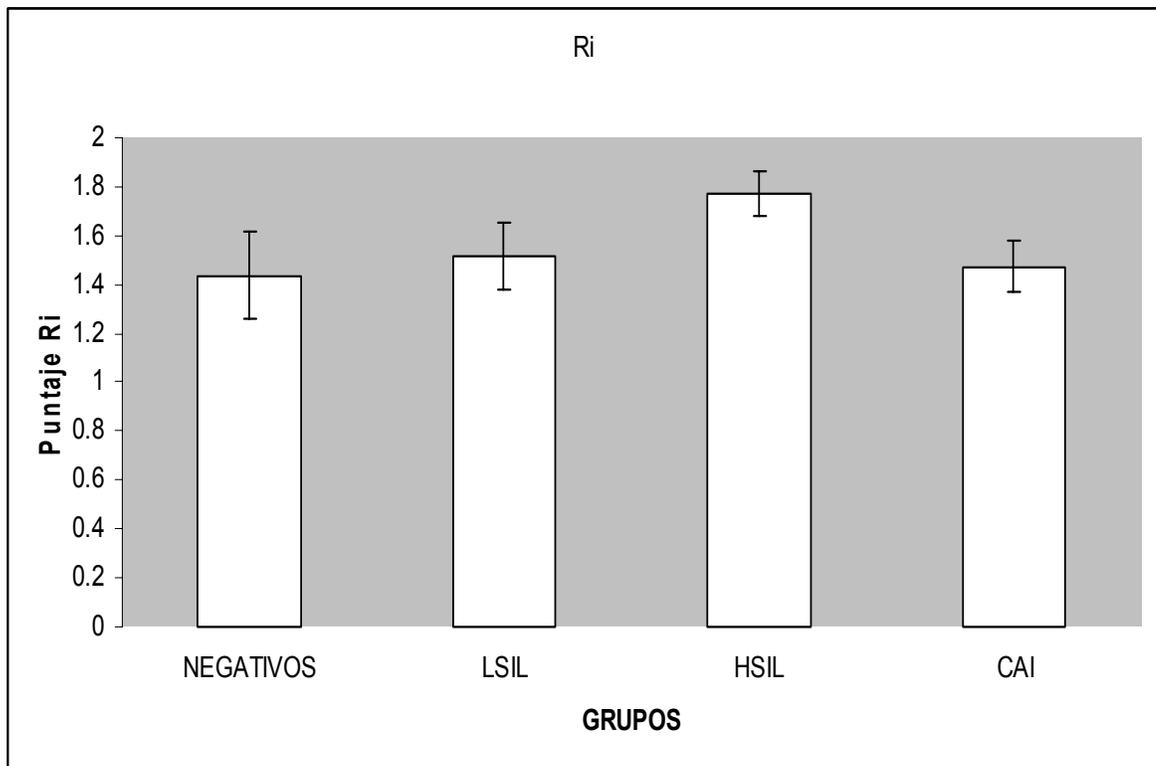
Figura 4.1. Resultados de la prueba ANOVA para "T"



Fuente: Autores del proyecto.

Para el análisis del parámetro "Ro" se empleó ANOVA no paramétrico (Kruskal-Wallis) por ausencia de criterios de normalidad y homogeneidad de las dispersiones entre los datos. Los resultados indican diferencias significativas con un valor H de 18.332 y un valor de p menor de 0.001. Las comparaciones múltiples mediante la prueba de Dunn's mostraron que los valores de "Ro" para el grupo NILM y LSIL fueron significativamente mayores que los valores del grupo Carcinoma ($p < 0.05$). Figura 4.3.

Figura 4.2. Resultados de la prueba ANOVA para “Ri”

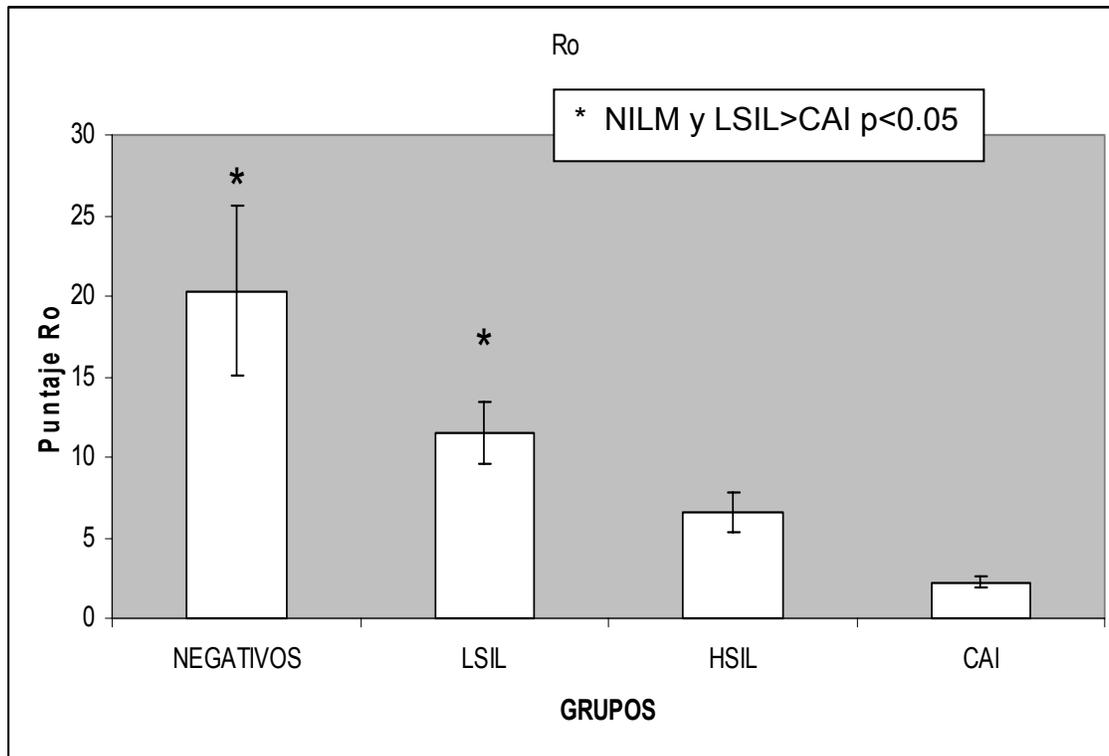


Fuente: Autores del proyecto

Finalmente, se realizaron análisis ROC (Receiver Operating Characteristic Curve) para determinar el poder discriminativo de cada parámetro obtenido por la bioimpedanciometría empleando como Gold estándar el estudio histopatológico.

Para este análisis se reagruparon los resultados de las muestras en sólo dos grupos: el primero denominado NEO, el cual incluye las muestras con diagnósticos histopatológicos HSIL y Carcinoma Infiltrante, y un segundo grupo, denominado Negativo, el cual incluye las muestras categorizadas como NILM y LSIL. Se asumió como positivos las muestras del grupo NEO y negativos al grupo restante.

Figura 4.3. Resultados de la prueba ANOVA para “Ro”



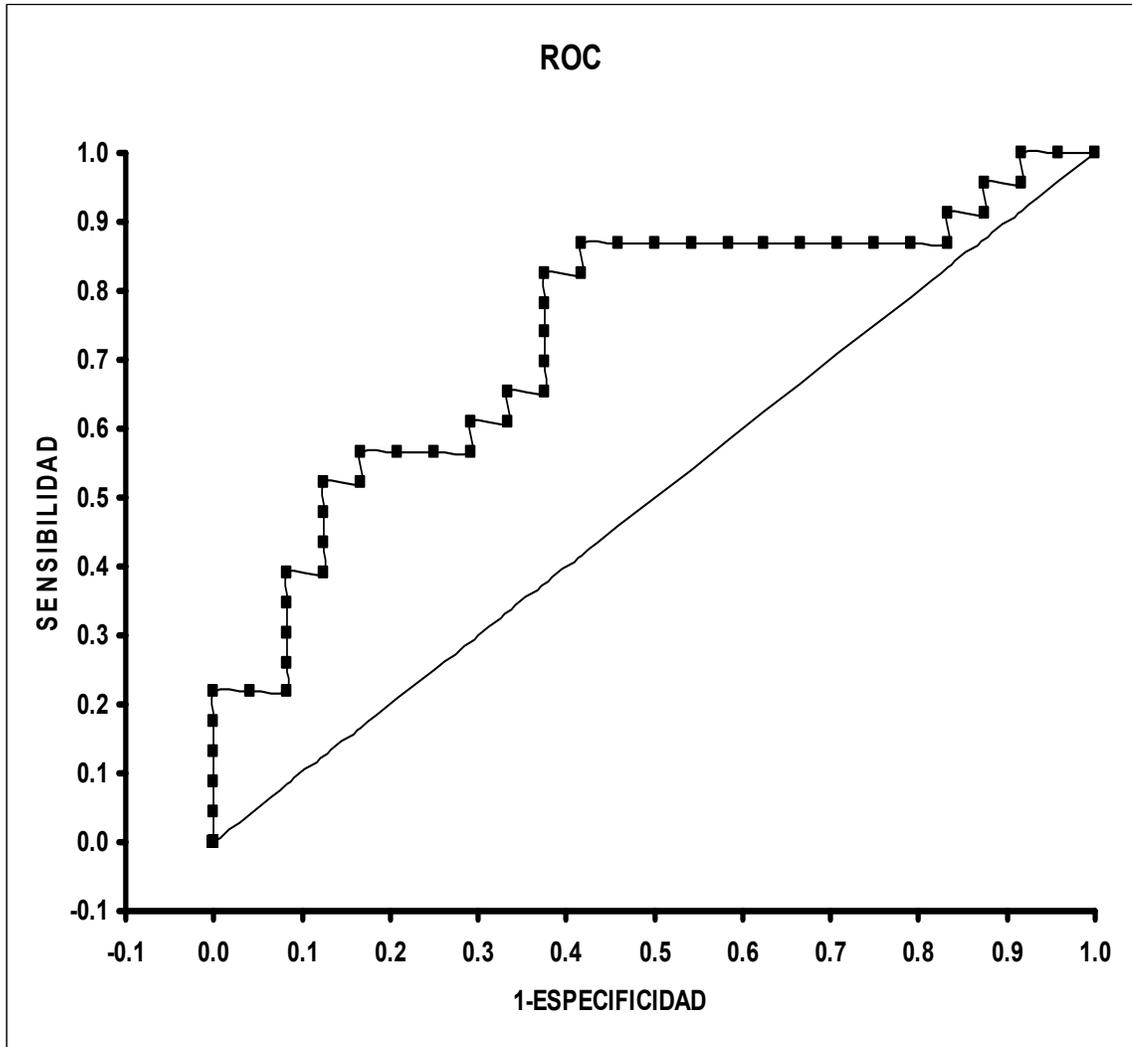
Fuente: Autores del proyecto

La curva ROC sobre el parámetro “ τ ” presenta un índice ROC razonablemente discriminativo. (ROC=0.737). Figura 4.4.

El análisis ROC para la variable “ R_i ” indica mala capacidad de discriminación de este parámetro -valor de ROC de 0.438, es decir, no es útil para el tamizaje. Figura 4.5.

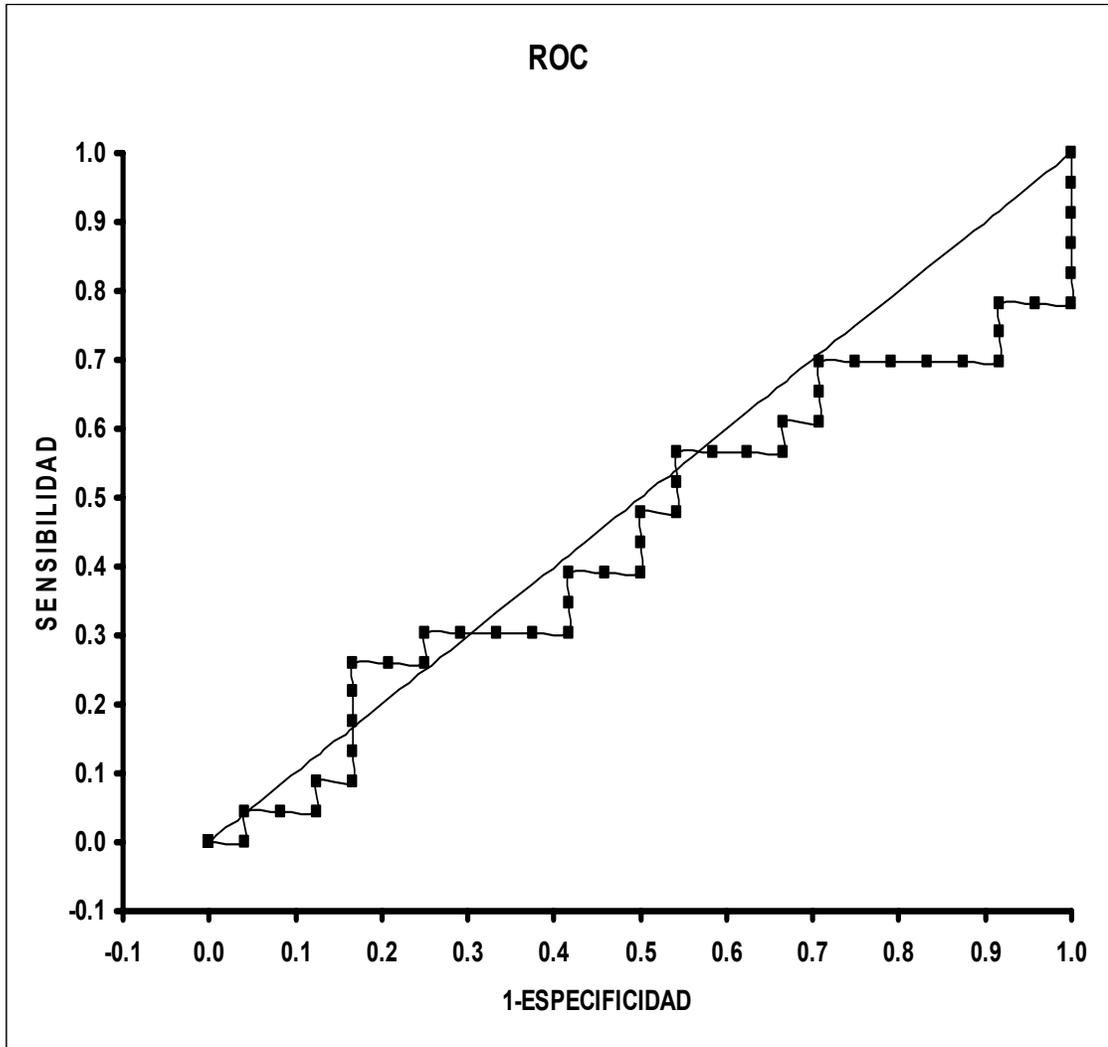
El análisis ROC para la variable “ R_o ” indica una buena capacidad de discriminación entre los grupos NEO y Negativos – valor de ROC de 0.813. Figura 4.6

Figura 4.4. Análisis ROC para "T"



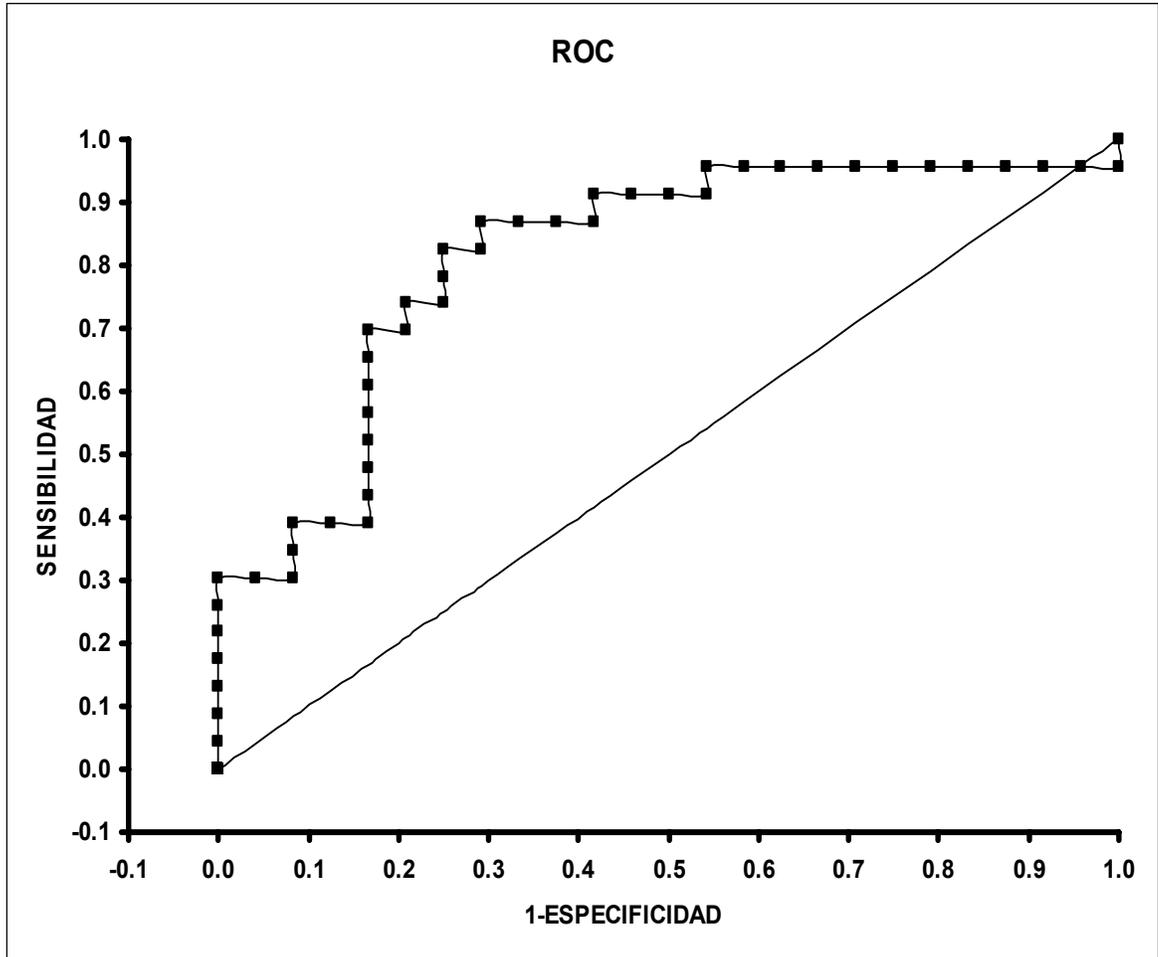
Fuente: Autores del proyecto.

Figura 4.5. Análisis ROC para "Ri"



Fuente: Autores del proyecto.

Figura 4.6. Análisis ROC para “Ro”



Fuente: Autores del proyecto.

De acuerdo a lo anterior, asumiendo como criterio de selección del mejor parámetro de evaluación del modelo de Cole-Cole, el mayor número de casos bien clasificados; se determina que los valores de “Ro” -entre 4.25 y 6.1- son los más indicados. Esto significa que valores superiores a este rango incluyen casos del grupo Negativo y valores menores a este rango incluyen las muestras del grupo NEO. -Sensibilidad entre 0.87 a 0.826 y especificidad entre 0.708 y 0.75.

4.3 DISCUSIÓN

El análisis estadístico realizado a los parámetros del Modelo de Cole-Cole empleando las pruebas ANOVA y DUNN permitió concluir que sólo los parámetros “ τ ” y “Ro” se pueden utilizar para el tamizaje de las lesiones intraepiteliales e infiltrantes del epitelio escamoso cervical.

El parámetro “ τ ” nos permite discriminar Carcinoma Invasor de los tres grupos de clasificación restantes (NILM, LSIL y HSIL); pero no muestra eficacia para diferenciar entre los grupos de displasia intraepitelial. El parámetro “Ro” es capaz de diferenciar los grupos NILM y LSIL de los grupos HSIL y Carcinoma Infiltrante; por tanto, este parámetro es útil en el tamizaje de las pacientes con displasia de bajo grado y las mujeres libres de lesión.

Adicionalmente, el análisis ROC de estos parámetros (“ τ ”, “Ro”), corrobora la capacidad de discriminación entre los grupos y muestra una sensibilidad entre el 82.6-87% y una especificidad entre 70.8%-75%; las cuales son significativamente superiores a la citología convencional. Sin embargo, estos resultados pueden mejorarse con el uso de inteligencia artificial (red neuronal artificial) como lo muestra [MIRANDA_06] donde la aplicación de la red neuronal aumento la sensibilidad y la especificidad de la prueba alcanzando valores superiores al 80%.

De acuerdo a lo anterior, el algoritmo matemático modificado del Modelo Cole-Cole por [MIRANDA_05] en el estudio piloto de detección temprana de cáncer cervical mediante el uso del espectro de impedancia eléctrica y los resultados expuestos [BROWN_00], pueden discriminar las pacientes en los grupos de clasificación según sus propiedades eléctricas (en nuestro trabajo, los grupos fueron establecidos de acuerdo a los resultados del estudio histopatológico a diferencia del grupo de [BROWN_00] que no emplea el estándar de oro para el diagnóstico de NIC y Cáncer cervical; sino, estudios de colposcopia), obteniéndose resultados similares a las referenciados por otros grupos de investigación en nuevas técnicas diagnósticas.

Estos resultados satisfactorios permiten concluir que el protocolo de toma de datos, procesamiento y lectura es válido y pertinente para la validación de EIE como una prueba de tamizaje. Estudios poblacionales posteriores son necesarios para determinar la utilidad de la impedancia eléctrica como método diagnóstico de Cáncer Cervical.

5. CONCLUSIONES

5.1. IMPORTANCIA DEL PROTOCOLO DE PROCESAMIENTO Y LECTURA DEL TEJIDO CERVICAL.

Los resultados presentados en los ítems 4.1 y 4.2 del capítulo 4; revelan una correlación entre los hallazgos histopatológicos clasificados según el Sistema Bethesda y los resultados de la medición del espectro de impedancia eléctrica.

Para alcanzar este objetivo, se requirió de la creación e implementación de un protocolo de procesamiento y lectura de los resultados histopatológicos; por tanto, el objetivo del presente trabajo de grado, -el cual estaba centrado en la estandarización del proceso a cargo del médico Patólogo- fue una herramienta básica para la realización de un estudio piloto para validar un nuevo método diagnóstico de cáncer cervical que exhibiera diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de clasificación .

Las recomendaciones de procesamiento y lectura del tejido cervical, emanadas del presente trabajo y expuestas en el ítem 2.7 del capítulo 2, son esenciales para eliminar los sesgos de medición y permiten resultados estadísticamente significativos entre los grupos de clasificación como lo demuestran las pruebas ANOVA, DUNN y curvas ROC.

5.2. RELACIÓN ENTRE MEDIDAS ELÉCTRICAS Y ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO

De acuerdo a lo presentado en el ítem 2.4 del capítulo 2 y los ítems 4.1 y 4.2 del capítulo 4; la diferencia existente entre los grupos de clasificación demuestra que las áreas de medición del espectro de impedancia eléctrica representativas de los cuadrantes cervicales corresponden a las zonas evaluadas histopatológicamente.

El área de incidencia de la sonda de medición como lo comenta [MIRANDA_05], es de 6 mm. de diámetro. En el caso de las biopsias cervicales, existe una total correspondencia entre el tamaño de la muestra y el área eléctricamente evaluada; pero existe diferencia en el porcentaje total de tejido examinado. Cuando se realiza una biopsia por cada cuadrante, este material equivale aproximadamente

al 25% del órgano mientras que las mediciones eléctricas realizadas en ocho áreas evalúan aproximadamente al 50% del cérvix.

Este porcentaje cambiaría en el caso de las conizaciones, donde el patólogo procesa y examina la totalidad del tejido cervical; sin embargo, este procedimiento sólo se practica en las mujeres con diagnósticos contradictorios entre la citología y la colposcopia, cuando tienen una colposcopia insatisfactoria o presentan controversia entre el diagnóstico citológico y resultado de la biopsia. Es decir, si revisamos el flujograma diagnóstico del cáncer cervical, el cono con bisturí frío es una prueba diagnóstica y/o de tratamiento a diferencia de la medición del EIE que puede considerarse una prueba de tamizaje que cubre un porcentaje significativo del cérvix – 50% aproximadamente.

5.3. POSIBILIDADES DE UTILIZAR LOS RESULTADOS OBTENIDOS COMO TÉCNICA DE TAMIZAJE

La utilización de la histopatología (estándar de oro) como base para la clasificación de las mediciones eléctricas permitió obtener resultados más sensibles y específicos – como se muestra en el ítem 4.2 y 4.3 del capítulo 4- en comparación con los reportados por estudios de EIE cervical realizados por otros grupos de investigación como el de BROWN y col, quienes emplearon la colposcopia como prueba de referencia.

El análisis estadístico de los parámetros “T” y “Ro” como se muestra en el ítem 4.2 del capítulo 4, corrobora la capacidad de los mismos para discriminar entre los grupos de clasificación de las mediciones eléctricas con una sensibilidad entre el 82.6-87% y una especificidad entre 70.8%-75. Sin embargo, el uso de inteligencia artificial (red neuronal artificial) como lo muestra [MIRANDA_06], aumenta la sensibilidad y la especificidad de la prueba -valores superiores al 80%.

De acuerdo a estos hallazgos, la medición del EIE puede considerarse un nuevo método de tamizaje para cáncer cervical dado que supera en sensibilidad y especificidad a la prueba de tamizaje mundialmente aceptada -citología convencional o Prueba de Papanicolaou-. Se requieren estudios poblacionales para determinar la posibilidad de considerar el EIE como prueba diagnóstica de lesiones precursoras e infiltrantes del cérvix.

6. RECOMENDACIONES

Realizar un estudio poblacional para validar la Espectroscopía de Impedancia Eléctrica como prueba de tamizaje para cáncer cervical.

Motivar la participación en la investigación de nuevas técnicas para el diagnóstico del cancer cervical ante la comunidad médica; en especial, al gremio de los patólogos y citólogos, dándoles a conocer los resultados preliminares del estudio piloto de detección temprana de cáncer cervical empleando la Espectroscopía de Impedancia Eléctrica como una técnica complementaria de la citología convencional o test de Papanicolau.

Establecer canales de comunicación con las entidades gubernamentales municipal y departamental con el fin de exponer los adelantos en nuevas pruebas de tamizaje para cáncer cervical, con énfasis en el beneficio para la salud pública local y nacional.

LISTADO DE FIGURAS

	“Pág.”
Figura 1.1 Anatomía del Aparato Genital Femenino	14
Figura 1.2 Epitelio Exocervical	15
Figura 1.3 Epitelio endocervical	16
Figura 1.4 Unión escamocolumnar	17
Figura 1.5. Visualización durante Especuloscopia del Ectropión	19
Figura 1.6. Tasas de incidencia de cáncer cervicouterino en América del Norte, Centro América y América del sur	22
Figura 1.7. Infección por HPV según tipo y región. Estudio IARC HPV	23
Figura 1.8. Organización Genómica del VPH	28
Figura 1.9. Efecto de la unión de E6 al P53	30
Figura 1.10. Estructura de la Proteína E7 del VPH 16	31
Figura 1.11. Efecto de la unión E7 al Rb	31
Figura 1.12. Histología del NIC 1	36
Figura 1.13. Histología del NIC 2	36
Figura 1.14. Histología del NIC 3	37
Figura 1.15. Apariencia macroscópica del Carcinoma de Cérvix	39
Figura 1.16. Apariencia microscópica del Carcinoma Escamocelular Bien Diferenciado del cérvix	40
Figura 1.17. Apariencia microscópica del Carcinoma Verrucoso.	40

Figura 1.18. Apariencia microscópica del Carcinoma de Células Escamosas con Características Basaloides	41
Figura 1.19. Bioimpedanciómetro. Sistema monocanal MARK III. Sheffield. UK	53
Figura 2.1. Formato para la calibración de la sonda de medición	56
Figura 2.2. Formulario de registro de las mediciones del EIE	58
Figura 2.3. Áreas de medición del Espectro de Impedancia Eléctrica cervical	59
Figura 2.4. Esquema de cortes histopatológicos cervicales	59
Figura 2.5. Procesamiento de Biopsias Cervicales. Paso 1	60
Figura 2.6. Procesamiento de Biopsias Cervicales. Paso 2	61
Figura 2.7. Procesamiento de Biopsias Cervicales. Paso 3	61
Figura 2.8. Procesamiento de Cono cervical. Paso 1	62
Figura 2.9. Procesamiento de Cono cervical. Paso 2	62
Figura 2.10. Procesamiento de Cono cervical. Paso 3	63
Figura 2.11. Procesamiento de Histerectomía. Paso 1	63
Figura 2.12. Procesamiento de Histerectomía. Paso 2	64
Figura 2.13. A. Vista frontal del micrótomo MICROM HM 310	65
Figura 2.13. B. Vista Lateral del Micrótomo MICROM HM 310	66
Figura 2.14. Proceso de Corte. Paso 1	66
Figura 2.15. Proceso de Corte. Paso 2	67
Figura 2.16. Extensión del Tejido en el Baño de Flotación	67
Figura 2.17. “Pesca” del Tejido en el Baño de Flotación. Paso 1	68

Figura 2.18. “Pesca” del Tejido en el Baño de Flotación. Paso 2	68
Figura 2.19. Ubicación del Tejido cervical sobre la lámina Portaobjetos	69
Figura 2.20. Coloración de las láminas histopatológicas	69
Figura 2.21. Aplicación de la resina. Paso 1	71
Figura 2.22. Aplicación de la resina. Paso 2	71
Figura 2.23. Colocación de la laminilla cubreobjetos	72
Figura 2.24. Formato de lectura para biopsias cervicales	74
Figura 2.25. Formato de lectura para conizaciones e hysterectomías	75
Figura 3.1. Hallazgos Histopatológicos de las áreas de medición del EIE	78
Figura 3.2. Hallazgos Histopatológicos de las áreas medidas en Biopsias	78
Figura 3.3. Hallazgos Histopatológicos de las áreas medidas en Conizaciones	79
Figura 3.4. Hallazgos Histopatológicos de las áreas medidas en Hysterectomías	79
Figura 3.5. Resultados paciente 1	81
Figura 3.6. Resultados paciente 2	82
Figura 3.7. Resultados paciente 3	83
Figura 3.8.a. Resultados paciente 4	84
Figura 3.8.b. Resultados paciente 4	85
Figura 3.9.a. Resultados paciente 5	86
Figura 3.9.b. Resultados paciente 5	87
Figura 3.10.a. Resultados paciente 6	88
Figura 3.10.b. Resultados paciente 6	95

Figura 3.11. Resultados paciente 7	96
Figura 3.12.a. Resultados paciente 8	97
Figura 3.12.b. Resultados paciente 8	98
Figura 3.13. Resultados paciente 9	99
Figura 3.14.a. Resultados paciente 10	100
Figura 3.14.b. Resultados paciente 10	101
Figura 4.1. Resultados de la prueba ANOVA para “ τ ”	111
Figura 4.2. Resultados de la prueba ANOVA para “ R_i ”	112
Figura 4.3. Resultados de la prueba ANOVA para “ R_o ”	113
Figura 4.4. Análisis ROC para “ τ ”	114
Figura 4.5. Análisis ROC para “ R_i ”	115
Figura 4.6. Análisis ROC para “ R_o ”	116

LISTADO DE TABLAS

	“Pág.”
Tabla 1.1. Frecuencia de infección por HPV según tipo y región. Estudio IARC HPV	24
Tabla 1.2. Edad de Distribución, prevalencia cruda y estandarizada de infección por VPH en mujeres sin anomalías citológicas. Estudio IARC HPV	25
Tabla 1.3 Clasificación Bethesda 2001	45
Tabla 1.4. Correlación entre la terminología de Displasia, NIC y Sistema Bethesda	48
Tabla 1.5. ADN-VPH y Citología para detectar SIL	50
TABLA 2.1. Preparación de Formol Tamponado al 10%	64
TABLA 2.2. Procedimiento de Postfijación, Deshidratación, Aclaramiento e Inclusión en Parafina de los tejidos cervicales.	65
TABLA 2.3. Procedimiento para coloración con Hematoxilina – Eosina. (H & E)	70
Tabla 3.1 Reporte Histopatológico de la paciente 1	82
Tabla 3.2 Reporte Histopatológico de la paciente 2	83
Tabla 3.3 Reporte Histopatológico de la paciente 3	84
Tabla 3.4 Reporte Histopatológico de la paciente 4	85
Tabla 3.5. Reporte Histopatológico de la paciente 5	87
Tabla 3.6 Reporte Histopatológico de la paciente 6	89
Tabla 3.7. Reporte Histopatológico de la paciente 7	91
Tabla 3.8. Reporte Histopatológico de la paciente 8	92

Tabla 3.9. Reporte Histopatológico de la paciente 9	94
Tabla 3.10. Reporte Histopatológico de la paciente 10	95
Tabla 3.11. Tabulación de los resultados de medición del EIE del estudio piloto.	96
Tabla 3.12. Reporte Histopatológico de la paciente 11. (Biopsias)	98
Tabla 3.13. Reporte Histopatológico de la paciente 12. (Biopsias)	98
Tabla 3.14. Reporte Histopatológico de la paciente 13. (Histerectomía)	99
Tabla 3.15. Reporte Histopatológico de la paciente 14. (Biopsias)	99
Tabla 3.16. Reporte Histopatológico de la paciente 15. (Conización)	100
Tabla 3.17. Reporte Histopatológico de la paciente 16. (Histerectomía)	100
Tabla 3.18. Reporte Histopatológico de la paciente 17. (Histerectomía)	101

BIBLIOGRAFÍA

[ACT.CYT_93] EDITORIAL COMMITTEE OF ACTA CYTOL. The Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses. Acta Cytol. Vol. 37, N° 115. (1993).

[AHCPR_99] ESTADOS UNIDOS. Agency for Health Care Policy and Research (AHCPR). Evaluation of Cervical cytology. Evidence report / technology assessment. N° 5. (Jan. 1999). Publication N° 99-E010. www.ahrp.gov/clinic/epcsums/cervsumm.htm.

[AULT_06] AULT K. Vaccines for the prevention of Human Papillomavirus and Associated Gynecologic Diseases: A Review. Obstetrical & Gynecological Survey. Emerging preventive strategies for the Cervical Cancer and other Human Papillomavirus-related diseases. Vol. 61, N° 6. Supplement 1: S26-31. (2006).

[BIDDLECOM_05] BIDDLECOM A, BANDOLE A, PATTERSON K. Vaccine for Cervical Cancer: Reaching adolescent in Sub-Saharan Africa. Research Division, Guttmacher Institute, New York 10005, USA. Lancet. Vol. 367. (2006). www.thelancet.com.

[BISHOP_96] BISHOP A, SHERRIS J, TSU VD, KILBOURNE BOOK M. Cervical dysplasia treatment: key issues for developing countries. Buss Pan Am Health Organ. Vol. 30. N° 4. (Dec.1996). p. 378-86.

[BOSCH_02] BOSCH FX, LORINCZ A, MUÑOZ N, et al. The Causal Relation Between Human Papillomavirus and Cervical Cancer. J Clin Pathol. Vol. 55. N° 4. (2002). P. 244-65.

[BRODERS_32] BRODERS AC. Carcinoma in Situ contrasting with benign infiltrating epithelium. JAMA. Vol. 99. (1932) p. 1670.

[BROWN_00] BROWN B, TIDY J, BLACKETT A, et al. Relation between tissue structure and imposed electrical current flow in cervical neoplasia. *Lancet*. Vol. 355 (2000). p. 892-895.

[BROWN_94] BROWN BH, BARBER DC, LEATHARD AD, et al. High frequency EIT data collection and parametric imaging. Proceedings of the Concerted Action on Impedance Tomography (CAIT) Meeting on Hardware for Multi-frequency EIT". *Innovation et Technologie en Biologie et Medicine*. Vol. 15. Special issue 1. (1994). P. 1-8.

[BROWN_98] BROWN B, TIDY J, BOSTON Ketal. Tetrapolar measurement of cervical tissue structure using impedance spectroscopy. Proceedings of the 20th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Vol. 20. N° 6. (1998). P. 2886-89.

[CASTLE_04] CASTLE PE. Beyond Human Papillomavirus. The cervix, exogenous secondary factors, and development of cervical precancer and cancer. *Journal of Lower Genital Tract Disease*. Vol. 8. N° 3. (2004). p. 224- 30.

[CHICHAREON_00] MUÑOZ N, BOSCH FX, CHICHAREON S, et al. A Multinational Case Control Study on the risk of cervical cancer linked to 25 HPV types: which are the high risk types? Abstract 053: Eighteenth International HPV Conference. Barcelona. Spain. (2000).

[CLIFFORD_05]. CLIFFORD GM, GALLUS S, HERRERO R, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet*. Vol. 366. (2005). p. 991–98.

[COLE_41] COLE K, COLE R. Dispersion and Absorption in Dielectrics. *Journal of Chemical Physics*. Vol. 9. (1941). p. 341-351.

[COX_06] COX, J T. The development of cervical cancer and its precursors: what is the role of human papilloma virus infection? *Current Opinion in Obstetric & Gynecology*. Vol. 18. Suppl 1: s5-s13. (2006).

[DELMAS_00] DELMAS MC, LARSEN C, VAN BENTHE MB, et al. Cervical Squamous Intraepithelial Lesions in HIV-Infected Women: prevalence, incidence and regression. AIDS. Vol. 1. N° 12. (2000). p. 1775-84.

[DUGGAN_98] DUGGAN MA, MCGREGOR SE, STUART GC, et al. Predictors of co-incidental CIN II/III amongst a cohort of women with CIN I detected by a screening Pap test. Eur J Gynaecol Oncol. Vol 19. N° 3. (1998). p. 209-214.

[FECHNER_05] FECHNER R. The Impact of Human Papillomavirus Biology on the Clinical Practice of Cervical Pathology. Pathology Case Reviews. Vol. 10. No 3. (2005). p. 119-127.

[FERLAY_00] FERLAY J, BRAY F, PISANI P, et al. Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. Globocan 2000. IARC press: Lyon, France. (2000).

[GALVIN_49] GALVIN GA, TE LINDE RW. Present day status of non-invasive cervical carcinoma. Am J Obstet Gynec. Vol. 57. N°. 15. (1949).

[GARCIA_06] GARCIA E, DIAZ J, MELO M, et al. Validacion de la citologia cervico uterina convencional con prueba de referencia histopatológica en la identificación de cáncer escamocelular invasor. Rev Chil Obstet Ginecol. Vol 7. N° 1/3. (2006). p. 184-188.

[GENDER_99] GENDER, WALBOOMERS JMM, JACOBS MV, et al. Human Papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. Pathology. Vol. 189. (1999) . p. 12-19.

[GIMNES_00] GIMNES S, MARTINSEN O. Bioimpedance and Bioelectricity Basics. Great Britain: Academic Press. (2000).

[GONZALEZ_01] GONZALEZ C. Endoscopic measurement of electric impedance spectra and their dependence on tissue properties in Barrett's Oesophagus. Tesis doctoral. University of Sheffield. Department of Medical Physics and Clinical Engineering. Sheffield, UK. (2001).

[HARPER_04] HARPER DM, FRANCO EL, WHEELER C, et al. Efficacy of a Bivalent L1 Virus-like Particle Vaccine in prevention of infection with Papillomavirus types 16 and 18 in young women: a randomised controlled trial. Lancet. Vol. 364. (2004). p. 1757-65.

[HARPER_06] HARPER D, FRANCO E, WHWWLWE AB, et al. Sustained efficacy up to 4-5 years of bivalent L1 virus-like particle vaccine against human Papillomavirus types 16 and 18: follow – up from a randomized control trial. Lancet Vol. 367. (2006). p 1247-55.

[HERNANDEZ_03] HERNÁNDEZ R, FERNÁNDEZ C, BAPTISTA P. Metodología de la investigación. México. McGrawHill. 3ª edición. (2003). ISBN: 9701036328

[KOUTSKY_02] KOUTSKY LA, AULT KA, WHEELER C, et al. A controlled trial of a Human Papillomavirus type 16 vaccine". N Engl J Med. Vol. 347. (2002). p. 1645-51.

[KUHN_99] KUHN L, SUN X, WRIGHT T C. Human Immunodeficiency Virus Infection and Female Lower Genital Tract Malignancy. Current Opinion in Obstetrics & gynecology. Vol 11. N° 1. (1999). p. 35-39.

[KURMAN_02] KURMAN R J. Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract New York. Springer. (2002). ISBN: 0387952039.

[KURMAN_94] KURMAN RJ, SOLOMON D. The Bethesda System for reporting cervical / vaginal cytologic diagnosis. New York. Springer. (1994). ISBN: 0387940774.

[LACRUZ_07] LACRUZ C, DI MARTINO B Y ÁLVAREZ E. Incidencia de los diferentes tipos de HPV en las lesiones escamosas de cérvix uterino. Rev Esp Patol. (En prensa).

[LECENE_32] LECENE P. Les diagnostiques anatomocliniques. Appareil genital de la femme. Masson. Paris. 1932.

[LEDGER_05] LEDGER WJ. Human Papillomavirus infection in women: An Update” Infections Diseases in Clinical Practice. Vol. 13. N° 4. (2005). p. 154-57.

[LEWIS_04] LEWIS, MJ. “Análisis de la situación actual del cáncer cervicouterino en América Latina y el caribe”. Organización Panamericana de la Salud. Washington, DC. (2004). ISBN: 927532531-6.

[LU_94] LU L, BROWN BH. The electrode and electronic interface in an EIT spectroscopy system. Proceedings of the CAIT Meeting on Hardware for Multi-frequency EIT, Innovation et Technologie en Biologie et Medicine. Vol. 15. (1994). p. 97-103

[MATOS_05] MATOS A, MOUTINHO J, PINTO D, et al. The Influence of smoking and other cofactors on the time to onset to cervical cancer in a Southern European Population. European journal of cancer prevention. Vol. 14. N° 5. (2005). P. 485-91.

[MAYEAUX_95] MAYEAUX J, HARPER MB, ABREO F, et al. Comparison of the reliability of repeat cervical smears and colposcopy in patients with abnormal cervical cytology. J Fam Pract. Vol. 40. N° 1. (Jun. 1995). p. 57-61.

[MILNES_05] BROWN BH, MILNES P, ABDUL S et al. Detection of cervical intraepithelial neoplasia using impedance spectroscopy: a prospective study, An International Journal of Obstetrics and Gynecology. Vol. 112. N° 6. (Jun 2005). p. 802-806.

[MIRANDA_05] MIRANDA, David. Detección de cáncer de cuello uterino basada en espectro de impedancia eléctrica. Bucaramanga. (2005). 128p. Tesis de Maestría (Maestría en Ingeniería, Área Ingeniería Electrónica). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físico-Mecánicas.

[MIRANDA_06] MIRANDA DA, BARRERO JG, ECHEVERRI JH. Estudio piloto de detección temprana de cancer de cuello uterino basado en espectroscopía de impedancia eléctrica”. Salud UIS. Vol. 38. (2006).

[MOMPIN_88] MOMPIN PJ. Introducción a la Bioingeniería. México. (1988).

[MUÑOZ_00] MUÑOZ N. Human Papillomavirus and cancer: the epidemiological evidence. Jr. Clin Virol. Vol. 19. N° 1-2. (2000).

[MUÑOZ_03] MUÑOZ N, BOSCH FX, et al. Epidemiologic classification of Human Papillomavirus types Associated with cervical cancer” N Engl J Med. Vol. 348. N° 6. (2003). P. 518 – 27.

[MUÑOZ_92] MUÑOZ N, BOSCH FS. HPV and cervical neoplasia: rewiev of case - control and cohort studies. IARC Sci Publ. Vol. 119. (1992): p. 251-61.

[NCIW_89] NATIONAL CANCER INSTITUTE WORKSHOP. The 1988 Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses. JAMA. Vol. 262. (1989).

[NHS_06] ESTADOS UNIDOS. National Institute for Clinical Excellence (NHS). Guidance on the use of liquid-based cytology for the cervical screening. Technology Appraisal 69. Abba Litho Sales Limited. London. (2006). ISBN 1842573683.

[PAPANICOLAOU_54] PAPANICOLAOU GN. Atlas of Exfoliative Cytology. Cambridge. The Commonwealth Found by Harvard University Press. (1954).

[PELUFFO_99] PELUFFO M. Revoluciones conceptuales en patología Cervical. Ascune Hnos. Buenos Aires. (1999).

[PUIG_01] PUIG AM, GUERRA P, MARTÍNEZ C, et al. Subbtipos de virus del papiloma humano y lesiones intraepiteliales e invasoras de cérvix uterino en mujeres de la provincia de Ciudad Real. Rev Esp Patol. Vol. 34. (2001).

[REAGAN_53] REAGAN JW, SETDEMAN IL, SARACUSA Y. The cellular morphology of carcinoma in situ and dysplasia or atypical hyperplasia of the uterine cervix". Cancer. Vol. 6. (1953). P. 224.

[REID_91] REID R, GREENBERG MD, LORINCZ A, et al. Cervical cytological testing be augmented by cervicography or human papillomavirus deoxyribonucleic acid detection?. Am J Obstet Gynecol. Vol. 164. (Jun. 1991). p. 1461-1469.

[RICHART_98] RICHART RM, MASOOD S, SYRJANEN KJ, et al. Human Papillomavirus: International Academy of Cytology Task Force Summary: Diagnostic Cytology Towards the 21st Century: An International Expert Conference and Tutorial. Acta Cytol. Vol. 42. (1998). p. 50-58.

[RICHART_69] RICHART RM. A Theory of Cervical Carcinogenesis. Ostetric and Gynec Surv. Vol. 24. (1969). p. 874.

[RICHART_73] Richart RM. Cervical intraepitelial neoplasia. Pathol Ann. Vol. 8. (1973) .p 301.

[RIGAUD_96] RIGAUD B, MORUCCI J-P, CHAUVEAU N. Bioelectrical Impedance Techniques in Medicine, Part I. Bioimpedance Measurement, Second Section: Impedance Spectrometry. Natshvile. Editorial Advisory Board. Critical Review in Biomedical Engineering. Vol. 24. N° 4-6. (1996).

[ROBLES_05] ROBLES A, CHÁVEZ F. Medición de impedancia eléctrica en tejido cervicouterino In-Vitro. Bucaramanga. (2005). p200. Trabajo de grado (Ing. Electrónico). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físico-Mecánicas. Bioingeniería.

[RUBIN_10] RUBIN JC. The pathological diagnosis of incipient carcinoma of the uterus. Am J Obstet Gynecol. Vol. 62. (1910). p. 668.

[SCHNEIDER_96] SCHNEIDER A, YAHM DM, KIRCHMAYR R, et al. Screening for cervical intraepithelial neoplasia grade 2/3: validity of cytological study, cervicography and human papillomavirus detection. Am J Obstet Gynecol. Vol. 174. N° 5. (May. 1996). p. 1534-1541.

[SCHOTTLANDER_12] SCHOTTLANDER J, KERMAUNER F. ZUR KENNTNIS DES UTERUSKARZINOMS. monographische Studien über Morphologie Entwicklung, Wachstum, nebst Beiträgen zur Klinik der Erkrankung. Berlin, Verlag von S Karger, (1912).

[SCHWAN_94] SCHWAN H.P. Electrical properties of tissue and cell suspensions: Mechanism and models". IEEE. (1994).

[SEGO_02] ESPAÑA. Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO). La infección por papiloma virus. Documentos de Consenso 2002. <http://www.aepcc.org/XV%20Reunion/CONS-VPH.pdf>.

[SOLOMON_04] SOLOMON D, NAYAR R. El sistema Bethesda para informar citología cervical. Buenos Aires. (2005). 224 p. ISBN 9872125465.

[SOLOMON_05] SOLOMON D, DAVEY D, KURMAN R, et al. The 2001 Bethesda System JAMA. Vol. 28. (2005). p. 2114.

[SOOST_91] SOOST HJ, LANGE HJ, LEHMARCHER W, et al. The validation of cervical cytology, sensitivity, specificity and predictive values. Acta Cytol Vbol. 35. N° 1. (Jan 1991). p. 8-13.

[SPENCE_05] SPENCE AR, FRANCO EL, FERENCZY A. The role of Human Papillomavirus in cancer: evidence to date. American Journal of Cancer. Vol. 4. N° 1. (2005). p. 49-64.

[SREEKANTAI AH_88] SREEKANTAI AH C, BHARGAVA MK, SHETTY NJ. Chromosome 1 abnormalities in cervical carcinoma. Cancer Vol. 62. (1988). p. 1317-24.

[STOLER_00] STOLER M. Human Papillomaviruses and cervical neoplasia: a model for carcinogenesis. International Journal of Gynecological Pathology. Vol. 19. N° 1. (2000). p. 16 – 28.

[TAVASSOLI_03] TAVASSOLI FA, DEVILEE P. Tumors of the Breast and Female Genital Organs. Pathology and Genetics. WHO. IARC press. Lyon, France. (2003). ISBN 9283224124

[TJOUNG-WON_95] TJOUNG-WON P, HISAYA F, WRIGHT T. Molecular biology of cervical cancer and its precursors. Cancer supplement 76. Vol. 10. (1995). p. 1902-13.

[TSANAMI_04] TSANAMI D, McNAMEES J, COLBERT A, et al. Variable frequency bioimpedance instrumentation. Proceedings of the 26th Annual International Conference of the IEEE EMBS. San Francisco. EE.UU. (Sep. 2004). p. 2386-2389.

[VILLA_06] VILLA L. Vaccines against papillomavirus infections and disease. Rev Chil Infect. Vol. 23. N° 2. (2006). p. 157-59.

[WALKER_00] WALKER D, BROWN B, HOSE D. Modelling the electrical impedivity of normal and premalignant cervical tissue. Electronics Letters. Vol. 36. No 19. (Sept. 2000).

[WOODMAN_01] WOODMAN CB, COLLINS S, WINTER H, et al. Natural history of cervical Human Papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study. Lancet. Vol. 357. (2001). p. 1831-6.

SITIOS WEB VISITADOS

www.cancer.org/downloads/STT/Cancer_Statistics_2006. ULTIMA VISITA ENERO
11 DE 2007.