



## EXTENSIÓN DE CIN DE ALTO GRADO. RELACIÓN CON TIPO DE HPV Y GRADO DE CIN

MIGUEL ANGEL CARRASCO GARCIA \*, FELIPE GARCIA \*, JORGE LEIRA \*, MONTSERRAT GIRABENT\*\*, VICENTE MARCO \*

\* HOSPITAL GENERAL DE CATALUNYA ESPAÑA

\*\* UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE CATALUNYA ESPAÑA

### Resumen

**Introducción:** En Bethesda se incorporó una nueva terminología citológica para las lesiones displásicas. Desde entonces existe la tentación entre los patólogos de agrupar en biopsias el CIN 2 y CIN 3 como Lesión Intraepitelial Escamosa de Alto Grado, de forma similar que en citología. Queremos evaluar la extensión de CIN 2 y 3 en conos, para determinar si existen diferencias entre ellas y relacionarla con la presencia de Virus del Papiloma Humano (HPV).

**Metodología:** Hemos estudiado 75 conos obtenidos mediante Asa cervical y 3 piezas de histerectomía con diagnóstico previo por biopsia de CIN 2 (n:35) y CIN 3 (n:43). La presencia de HPV se determinó mediante Hibridación in situ (DAKO Genpoint). La extensión del CIN en los conos se midió empleando un micrómetro convencional. El grosor promedio de cada corte de los conos osciló entre 2.5 y 3 mm.

**Resultados:** El área media en CIN 2 fue de 30.6 mm<sup>2</sup> y en CIN 3 de 63.3 mm<sup>2</sup>. El HPV fue positivo para 16/18 en 32 casos y 31/33 en 20. Ningún caso positivo para HPV 6/11. El resto de casos (26) fueron negativos. El área media de CIN con HPV 16/18 fue de 37,1 mm<sup>2</sup>, con HPV 31/33 de 40,4 mm<sup>2</sup> y con HPV negativo de 69,2 mm<sup>2</sup>. Se realizó una prueba de t-student que demostró, con un p-valor de 0.008 < 0.05, que las áreas afectadas por CIN 3 son significativamente mayores que las de CIN 2. En CIN 2 la longitud máxima de la lesión fue de 3.94 mm. y en CIN 3 fue de 6.34 mm. La prueba t-student con un p-valor de 0.003 < 0.05, también nos indica que la longitud máxima que alcanzan las lesiones tipo CIN 3 son significativamente mayores que las de CIN 2. En cambio no existen diferencias entre los tipos de virus, ni entre los casos positivos ni negativos. Tampoco existen diferencias significativas entre CIN 2 o CIN 3 causado por un tipo de HPV u otro.

**Conclusiones:** El área de CIN 3 es significativamente mayor que la de CIN 2 independientemente del tipo de HPV detectado. La longitud máxima de las lesiones tipo CIN 3 son mayores que las de CIN 2. Creemos que es importante mantener la terminología de CIN 2 y 3 en material de biopsias ya que implica lesiones de mayor tamaño.

### Introducción

Durante la década de 1990, aparecieron numerosos estudios epidemiológicos con apoyo en estudios moleculares que ponían de manifiesto el papel causal de algunos Virus del Papiloma Humano (HPV) en el desarrollo del cáncer cervical y sus lesiones precursoras. En 1995 la International Agency of Research on Cancer (IARC) catalogó los genotipos HPV 16 y 18 como carcinógenos humanos (1). Posteriormente en el 2003, nuevos estudios de la IARC incorporaron como carcinógenos a los tipos 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82 y como probablemente oncogénicos deben ser considerados los tipos 26, 53 y 66 (2). El HPV ha sido propuesto como la primera causa necesaria en un cáncer humano.

El SCC cervical puede ser detectado en fases precoces, debido a que evoluciona lentamente desde unos estadios preinvasivos que pueden ser distinguidos morfológicamente. Estas fases preinvasivas se clasifican según dos sistemas en dos o tres estadios. En los estudios citológicos basados en las recomendaciones de las reuniones de Bethesda del 1988, 1991 y 2001 (3) se clasifican en dos grados: Lesiones escamosas intraepiteliales de bajo grado (LSIL o LBG) y lesiones escamosas intraepiteliales de alto grado (HSIL o

LAG)). En los estudios biópsicos se dividen en tres grados (4): Neoplasia Intraepitelial Cervical (CIN) 1, CIN 2 y CIN 3 que incluye carcinoma escamoso in situ, correspondiendo LSIL a CIN 1 y HSIL a CIN 2 y 3.

Desde que en las reuniones de Bethesda se introdujo la nueva terminología diagnóstica citológica de LBG y LAG existe controversia entre los patólogos entre incorporar la terminología citológica a los estudios biópsicos o bien mantener las tres categorías diagnósticas en biopsias.

El propósito de nuestro trabajo es estudiar las posibles diferencias entre CIN 2 y CIN 3 en cuanto a:

Superficie afectada del cérvix  
Longitud máxima de la lesión  
Tipo de HPV presente en la lesión

## Material y Métodos

Estudiamos un grupo de 78 pacientes diagnosticadas de CIN 2 o 3 tratadas mediante conización cervical con Asa de escisión electroquirúrgica en 75 casos y en tres casos se realizó histerectomía. La conización se realizó como terapia de un diagnóstico previo por biopsia de CIN 2 o 3. Las histerectomías se realizaron en pacientes postmenopáusicas de más de 65 años con CIN 3 que no desearon tratamiento conservador.

Las piezas de histerectomía y conización cervical fueron manejadas de la forma convencional para su estudio histopatológico. Se recibieron en fresco con una grapa a las 12 horas y tras ser seccionadas por dicho punto en sentido cráneo-caudal se fijaron extendidas sobre una superficie rígida durante 24 horas (fig. 1). Posteriormente fueron divididas en cuadrantes, comprendidos entre las 0 y 3 horas, entre las 3 y 6, entre las 6 y las 9 y finalmente entre las 9 y las 12 horas. Cada cuadrante fue seccionado en cortes convencionales de un grosor de 2 a 3 mm., obteniéndose de 3 a 4 cortes de tejido por cada cuadrante en total de 12 a 16 cortes por cada cono. El grosor promedio del corte en cada caso se obtuvo al dividir la longitud total de la pieza extendida por el número de cortes obtenidos. Cada corte de tejido fue procesado y teñido con Hematoxilina y Eosina para su estudio histopatológico.

Los cortes de tejido examinados con el microscopio mostraban una superficie recubierta por epitelio, que en general en uno de sus extremos era epitelio escamoso exocervical, seguido de la zona de transformación y la unión escamocolumnar seguida del epitelio endocervical con invaginaciones glandulares (fig. 2). Todas las piezas examinadas por tanto incluían la zona de transformación y la unión escamocolumnar del cérvix uterino. La longitud total de cada zona de CIN se determinó empleando para la observación microscópica del tejido un microscopio convencional (OLYMPUS BH2) equipado con un ocular con micrómetro mediante el cual medíamos la longitud proximal-distal de CIN en cada corte afectado. La longitud de cada sección afectada multiplicada por el grosor del corte nos dará el área afectada en cada corte que habrá de sumarse al resto de cortes con lesión de cada pieza de conización.

El estudio del tipo de HPV se realizó mediante Hibridación in situ (DAKO Genpoint) determinando los tipos: 6/11, 16/18 y 31/33.

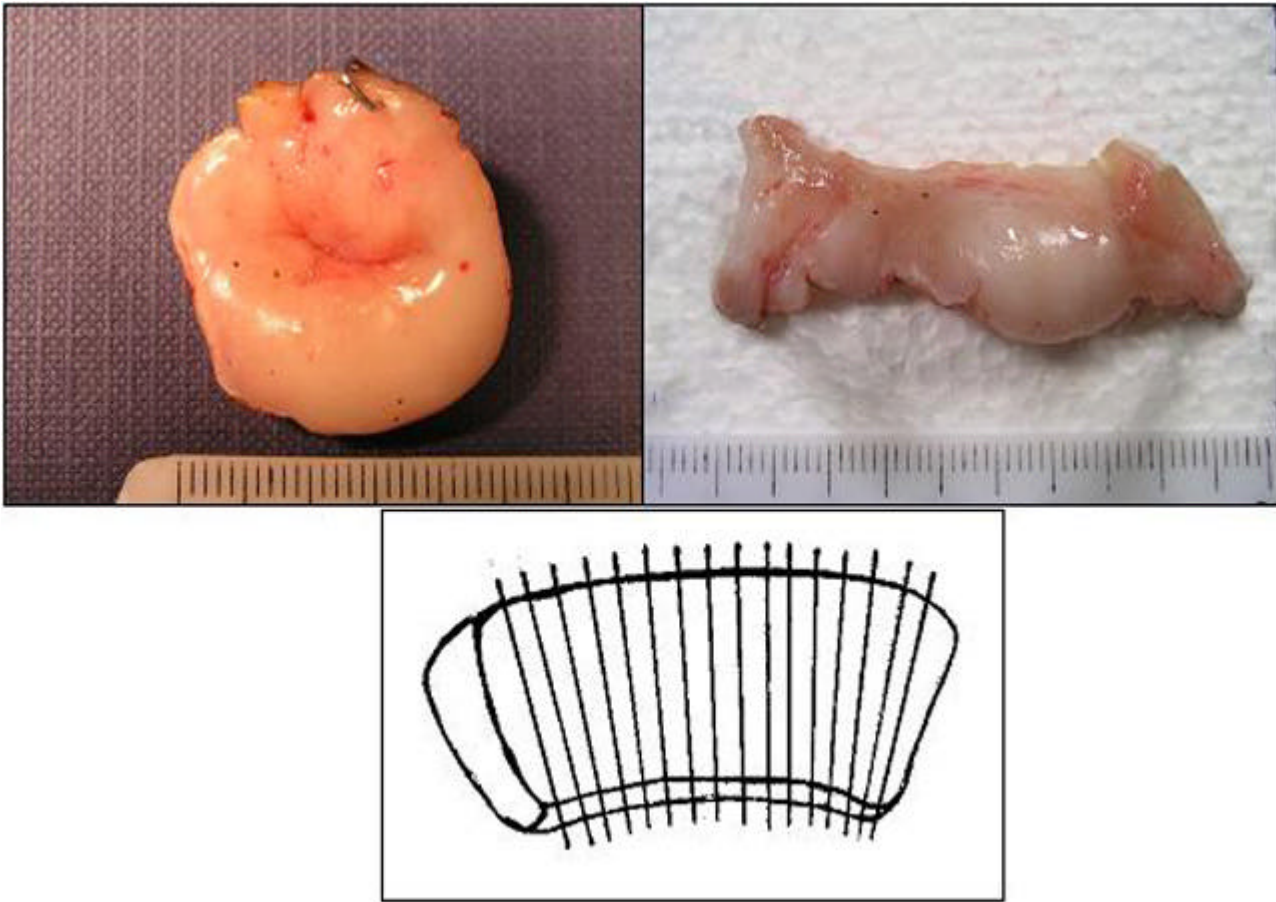


Fig. 1 - A. Cono cervical LEEP en fresco señalado con una grapa a las 0 h. B. Pieza abierta tras su sección a las 0 h., lista para su fijación. C. Esquema de los cortes seriados

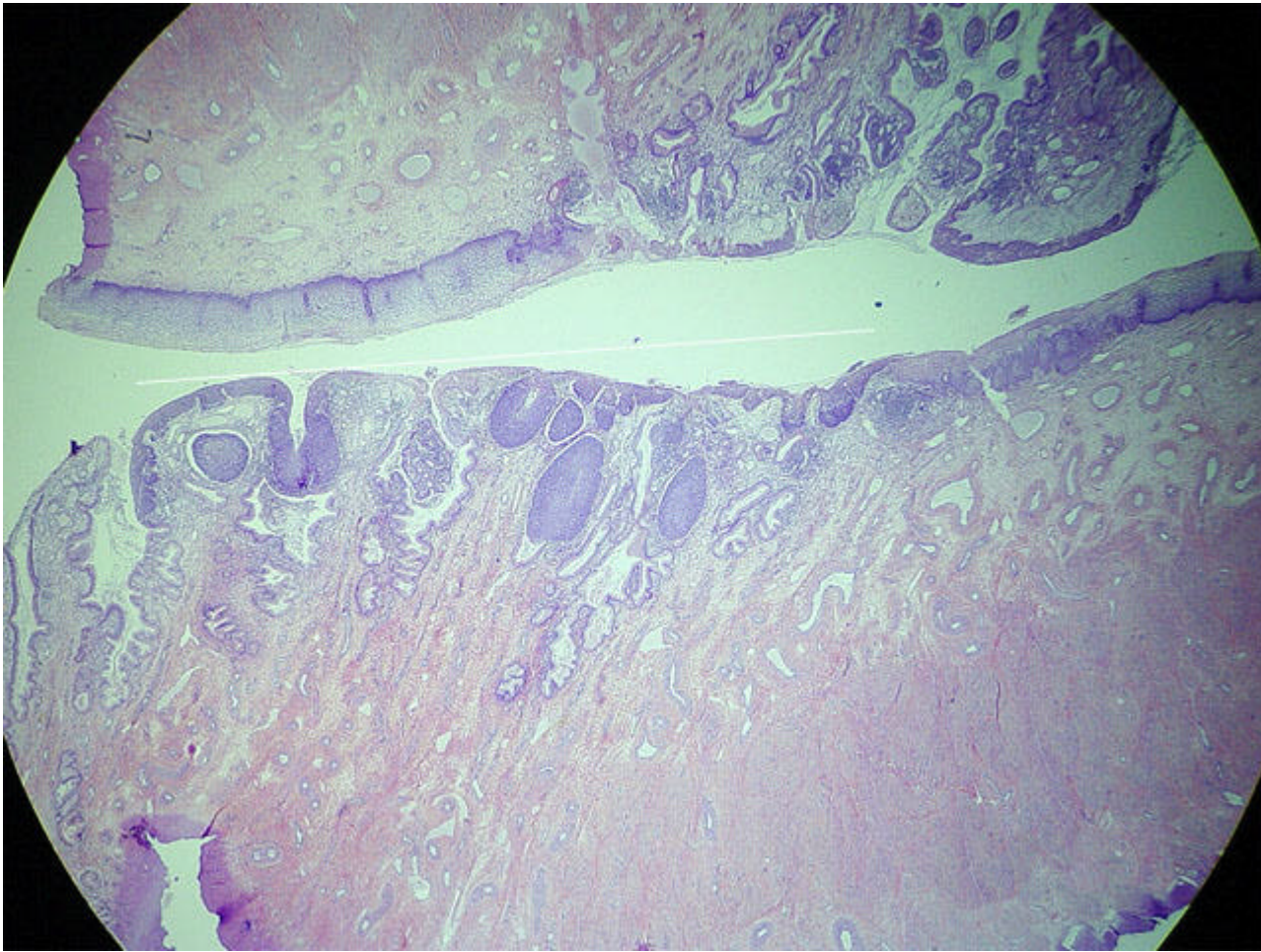


Fig. 2 - Microfotografía a bajo aumento (8x) en donde podemos apreciar dos cortes de un cono. En uno de los extremos se reconoce epitelio escamoso exocervical y en el opuesto epitelio endocervical. Con una línea blanca se indica la longitud proximal-distal de la zona displásica.

## Resultados

Las 78 pacientes del estudio presentaban una edad media de 39 años (21-77) con una desviación típica de 12.192. La distribución por edades podemos observarla en la fig. 3 con un predominio de pacientes en el grupo de edad comprendido entre los 30 y 39 años que corresponde a 42 sujetos (53.8%).

Los diagnósticos histológicos de las 78 piezas de conización cervical fueron:

CIN 2 : 35 casos (44.9 %) con una edad media de 37.6 años (21-66)

CIN 3 : 43 casos (55,1 %) con una edad media de 40.1 años (22-77)

La distribución por edades según tipo de CIN fue homogénea en los diferentes grupos de edad (fig. 4)

<!-- [if !vml] -->El área media de CIN en los conos fue de 48,69 mm<sup>2</sup> (1.75-383.25) y una desviación típica de 58.56. Los resultados de las mediciones de la extensión de CIN 2 y CIN 3 se expresan en la tabla 1:

**Tabla 1** Áreas totales medidas en las 78 piezas de conización

Área en mm <sup>2</sup>	CIN 2 No. (%)	CIN 3 No. (%)

0 – 10	7 (20.0)	7 (16.3)
>10 – 20	11 (31.4)	6 (14)
>20 – 30	5 (14.3)	6 (14)
>30 – 40	0	2 (4.6)
>40 – 50	5 (14.3)	2 (4.6)
>50 – 60	3 (8.6)	2 (4.6)
>60 – 70	1 (2.8)	6 (14)
>70 – 80	0	2 (4.6)
>80 – 90	0	1 (2.3)
>90 – 100	1 (2.8)	2 (4.6)
>100	2 (5.7)	7 (16.3)
Total	35 (100%)	43 (100%)

El área media obtenida para los casos de CIN 2 fue de 30.63 mm<sup>2</sup> (1.75-121.75) con una desviación típica de 29.29 y para CIN 3 de 63.35 mm<sup>2</sup> (3.30-383.25) siendo su desviación típica de 71.42. Aproximadamente un 65% de casos de CIN 2 tienen menos de 30 mm<sup>2</sup>, mientras que en CIN 3 ocurre el contrario, que un 65% de casos tienen más de 30 mm<sup>2</sup>. La aplicación de una prueba de t-student para muestras independientes nos da una p-valor de 0.008<0.05 que indica que las áreas afectadas por CIN 3 son significativamente mayores que las de CIN 2.

En CIN 2 la media de la longitud máxima de la lesión en sentido proximal-distal fue de 3.94 mm. (0.50-9.50) con una desviación típica de 2.31, mientras que para CIN 3 la longitud media máxima fue de 6.34 mm. (0.50-21.00) con una desviación típica de 4.34. La prueba t-student con una p-valor de 0.003<0.05, también nos indica que la longitud máxima que alcanzan las lesiones tipo CIN 3 son significativamente mayores que las de CIN 2.

<!-- [if !supportEmptyParas] --> Los resultados de la Hibridación in situ para HPV se expresan en la tabla 2. El análisis estadístico no muestra diferencias significativas en la distribución de HPV en CIN. <!-- [endif] -->

<!-- [if !vml] --> <!-- [endif] --> **Tabla 2** Resultados Hibridación in situ para HPV

<!-- [if !supportEmptyParas] --> <!-- [endif] -->	6/11 No. (%)	16/18 No. (%)	31/33 No. (%)	NEG. No. (%)
CIN 2	0	14 (17.9)	14 (17.9)	7 (9)
CIN 3	0	18 (23.1)	6 (7.7)	19 (24.4)
TOTAL	0	32 (41)	20 (25.6)	26 (33.4)

<!-- [if !supportEmptyParas] --> Los % se han expresado respecto al total de casos estudiados

En conjunto se obtuvo positividad para HPV mediante Hibridación in situ en el 66.6 % del total de casos, no siendo ningún caso positivo para virus de bajo riesgo (HPV 6/11).

El análisis estadístico de la incidencia de HPV en CIN nos da que en el grupo de CIN 3 las diferencias son significativas entre HPV 16/18 y 31/33 con una p-valor de 0.014 y entre HPV negativo y 31/33 con una p-valor de 0.009. En el grupo de HPV negativo la incidencia es significativamente mayor en los casos de CIN 3 que de CIN 2 con una p-valor de 0.019. En el resto de análisis no se han encontrado diferencias significativas. Las pruebas realizadas son una prueba no paramétrica de Chi-cuadrado con un nivel de significación de 0.05

Las áreas medias de CIN obtenidas para cada grupo de HPV se expresan en la tabla 3:

<!-- [if !vml] -->

medias en mm<sup>2</sup> según tipo de HPV

*Tabla 3* Áreas

<!-- [if !supportEmptyParas]-> <!-- [endif]-->	HPV 16/18	HPV 31/33	HPV NEG.	<!-- [if !supportEmptyParas]--> <!-- [endif]-->
CIN 2	24.5	33.8	36.3	<!-- [if !supportEmptyParas]--> <!-- [endif]-->
CIN 3	46.8	55.8	81.3	<!-- [if !supportEmptyParas]--> <!-- [endif]-->
<!-- [if !supportEmptyParas]-> <!-- [endif]-->	37.1	40.4	69.2	<!-- [if !supportEmptyParas]--> <!-- [endif]-->

En relación con el HPV presente o negativo, volvemos a observar que las áreas afectas por CIN 3 son superiores a las de CIN 2 en los tres grupos, sin embargo las diferencias no son estadísticamente significativas (p-valor 0.071, 0.095 y 0.107). Tampoco existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto al área afectada por CIN, independientemente de su grado, en relación con el HPV presente (p-valor 0.108, 0.150 y 0.706). Las pruebas realizadas son una ANOVA (Análisis de Varianza) de un factor y una t-student de comparación de medias con unos niveles de significación del 0.05.

## Discusión

Desde que en las reuniones de Bethesda se introdujo la nueva terminología diagnóstica citológica en dos categorías de bajo y alto grado, existe la controversia entre los patólogos de adoptar el mismo sistema para el diagnóstico biopsico. Existen autores (5;6) que proponen incorporar esta nomenclatura a los estudios histológicos. Los datos en apoyo para un sistema diagnóstico de únicamente dos clases son:

- La segregación general de tipos de HPV de bajo y alto riesgo con LBG y LAG.
- Mejor reproducibilidad entre patólogos para el diagnóstico
- Bajo riesgo existente de progresión a carcinoma para las LBG

No obstante también existen opiniones contrarias (7;8) que se basan en:

- HPV de alto riesgo se detecta en LBG
- Algunas LBG han progresado a carcinomas invasivos
- Algunos estudios sugieren que existe mayor riesgo de progresión para CIN 3 que CIN 2
- CIN 2 es una lesión más heterogénea biológicamente y con mayores índices de regresión

Los datos aportados por nuestro estudio favorecen el mantenimiento de los CIN de alto grado separados en dos categorías, ya que estadísticamente vemos que CIN 3 es significativamente mayor que CIN 2 con una media de  $63.3 \pm 71.42 \text{ mm}^2$  y  $30.6 \pm 29.29 \text{ mm}^2$  respectivamente. Dado que la progresión de las lesiones intraepiteliales a carcinoma se ha visto que entre otros factores se asocia a lesiones extensas, creemos que nuestros datos apoyan mantener CIN 2 y 3 como entidades separadas.

No hemos encontrado trabajos de medición de la extensión del CIN semejantes al nuestro, pero entre los trabajos que estudian la extensión de CIN podemos citar el de Tidbury *et al.* (9) realizado en pacientes con carcinoma escamoso microinvasivo que demuestra que el tamaño medio de CIN 3 asociado a microinvasión es siete veces mayor que cuando no existe. La dimensión lineal total media de sus 39 casos fue de 63.5 mm (rango 11.4-162.4 mm). Es decir que si estos datos los equiparamos a nuestro estudio tendríamos que multiplicar la longitud por el grosor del corte, dando una media de área afectada de  $127.0-190.5 \text{ mm}^2$  según grosor del corte (2-3 mm) que es sensiblemente mayor que nuestros casos de CIN 3 ya que en nuestro estudio no incluimos CIN 3 asociado a microinvasión.

Boonstra *et al.* (10) estudiaron en 65 piezas de conización la extensión lineal de CIN III obteniendo una longitud media máxima de  $7.4 \pm 3.7 \text{ mm}$ , una cifra bastante similar a la de nuestro estudio  $6.3 \pm 4.3 \text{ mm}$ . Para Pinto *et al.* (11) la longitud media máxima fue de  $5.15 \text{ mm} \pm 2.58$ . Uno de los pocos trabajos que da datos de la extensión lineal de CIN 2 y 3 es el realizado por Abdul-Karim *et al.* (12) en donde CIN 2 tiene una longitud media máxima de  $5.84 \pm 4.13$  y CIN 3 de  $7.60 \pm 4.32 \text{ mm}$ . En nuestro trabajo la longitud media máxima de CIN 2 es de  $3.94 \pm 2.31 \text{ mm}$ , que es sensiblemente menor que la que obtiene Abdul-Karim. En un trabajo publicado por Sherman *et al.* (13) con 40 piezas de LEEP, procedentes de un estudio de seguimiento de 2 años en pacientes diagnosticadas inicialmente por citología de LSIL o ASCUS, realiza una medición lineal de cada corte afectado por CIN 3 sumando posteriormente todas las mediciones de cada caso. Ello le da una longitud media de 6.5 mm por caso. Es decir que su análisis demuestra que la gran mayoría de CIN 3 detectados en el grupo de ALTS eran de pequeño tamaño con una media de dos fragmentos

de tejido afectados. Si trasladamos estos datos a nuestro estudio teniendo en cuenta el grosor del corte nos dará que el área afectada por CIN 3 variará de 13 a 19.5 mm<sup>2</sup>, cifra muy inferior al de nuestro trabajo. En cuanto a la relación existente entre área de CIN y tipo de HPV presente en la lesión no hemos encontrado diferencias significativas entre los casos causados por HPV 16/18, HPV 31/33 o los casos con HPV negativo. La distribución de HPV en nuestros casos positivos es similar a la aportada por otros autores (14) con predominio de HPV 16/18 en CIN 3. En la revisión bibliográfica realizada no hemos encontrado ningún estudio que relacione tipo de HPV con extensión.

## Conclusiones

CIN 3 ocupa una superficie mayor que CIN 2  
CIN 3 presenta lesiones longitudinalmente mayores que CIN 2  
No existen diferencias en cuanto al área afectada por CIN en relación con el HPV presente  
HPV 16/18 predomina en CIN 3  
Nuestros datos apoyan mantener CIN 2 y CIN 3 como dos entidades diferentes

## Bibliografía

- (1) IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, (1995, Lyon F, Centre international de recherche sur le cancer. Human papillomaviruses. --. Lyon, France: IARC, 1995.
- (2) Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. N Engl J Med 2003; 348(6):518-527.
- (3) Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. JAMA 2002; 287(16):2114-2119.
- (4) Tavassoli FA, Devilee P, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2003.
- (5) Crum CP. Symposium part 1: Should the Bethesda System terminology be used in diagnostic surgical pathology?: Point. Int J Gynecol Pathol 2003; 22(1):5-12.
- (6) Cooper K, Evans M, Mount S. Biology and evolution of cervical squamous intraepithelial lesions: a hypothesis with diagnostic prognostic implications. Adv Anat Pathol 2003; 10(4):200-203.
- (7) Schneider V. Symposium part 2: Should the Bethesda System terminology be used in diagnostic surgical pathology?: Counterpoint. Int J Gynecol Pathol 2003; 22(1):13-17.
- (8) Schiffman M, Kjaer SK. Chapter 2: Natural history of anogenital human papillomavirus infection and neoplasia. J Natl Cancer Inst Monogr 2003;(31):14-19.
- (9) Tidbury P, Singer A, Jenkins D. Cin-3 - the Role of Lesion Size in Invasion. British Journal of Obstetrics and Gynaecology 1992; 99(7):583-586.
- (10) Boonstra H, Aalders JG, Koudstaal J, Oosterhuis JW, Janssens J. Minimum extension and appropriate topographic position of tissue destruction for treatment of cervical intraepithelial neoplasia. Obstet Gynecol 1990; 75(2):227-231.
- (11) Pinto AP AP, Tuon FF, Torres LF, Collaco LM. Limiting factors for cytopathological diagnosis of high-grade squamous intraepithelial lesions: a cytohistological correlation between findings in cervical smears and loop electrical excision procedure. Diagn Cytopathol 2002; 26(1):15-18.
- (12) Abdul-Karim FW, Fu YS, Reagan JW, Wentz WB. Morphometric study of intraepithelial neoplasia of the uterine cervix. Obstet Gynecol 1982; 60(2):210-214.

(13) Sherman ME, Wang SS, Tarone R, Rich L, Schiffman M. Histopathologic extent of cervical intraepithelial neoplasia 3 lesions in the atypical squamous cells of undetermined significance low-grade squamous intraepithelial lesion triage study: implications for subject safety and lead-time bias. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12(4):372-379.

(14) Zuna RE, Allen RA, Moore WE, Mattu R, Dunn ST. Comparison of human papillomavirus genotypes in high-grade squamous intraepithelial lesions and invasive cervical carcinoma: evidence for differences in biologic potential of precursor lesions. *Mod Pathol* 2004; 17(11):1314-1322.

<!-- [if !supportEmptyParas]-- > <!-- [endif]-- >

Web mantenido y actualizado por el [Servicio de informática](#) uclm. Modificado: 29/09/2005 21:56:28