



## RESEARCH ARTICLE

### POST-LOOP ELECTROSURGICAL EXCISION RECURRENT LESION CORRELATED TO OVEREXPRESSION OF P16/KI-67

<sup>1,\*</sup>Amaranta Suazo Sánchez, <sup>2</sup>Sara Elia Hernández Flores, <sup>3</sup>Candice Ramón Alcantara, <sup>4</sup>Laura Elena Gómez Leal and <sup>5</sup>Abigail López Rodríguez

<sup>1</sup>3er Year Student Resident Gynecology and Obstetrics in Centro Médico Naval

<sup>2</sup>Chief of Delivery Department in Centro Médico Naval

<sup>3</sup>3er Year Student Resident Gynecology and Obstetrics

<sup>4</sup>Anesthesiology Dpt. Centro Médico ABC Santa Fe

<sup>5</sup>5th Year Medicine Student, Instituto Politécnico Nacional

#### ARTICLE INFO

##### Article History:

Received 15<sup>th</sup> October, 2021

Received in revised form

14<sup>th</sup> November, 2021

Accepted 19<sup>th</sup> December, 2021

Published online 30<sup>th</sup> January, 2022

##### Keywords:

Recidiva, Lesión Cervical,  
Virus De Papiloma Humano,  
Sobreexpresión P16/Ki67

#### ABSTRACT

La recidiva de lesión es un problema de Salud Pública en México, alcanzando una incidencia de hasta 21.1% postratamiento. La sobreexpresión de inmunohistoquímica de p16/ki67 se da sobretodo en pacientes con lesiones de alto grado, las cuales son en las que tiene mayor riesgo de evolucionar a enfermedad maligna. Las lesiones de alto grado son aquellas junto a varios factores de riesgo los que tienen más probabilidad de recidivar. Es necesario estudiar las variables influyentes posiblemente influyentes en la aparición de recidivas de lesión postcono al no existir investigaciones respecto al tema para mejorar e implementar de mejor forma los recursos humanos y financieros. **Objetivos:** Determinar la asociación entre la recidiva de lesiones intraepiteliales de alto grado de acuerdo a la sobreexpresión de p16/ki67 por método de inmunohistoquímica en los pacientes del Centro Médico Naval- Clínica de Colposcopia en el periodo de 2015 a la fecha. **Material y Métodos:** se evaluaron las características sociodemográficas, del diagnóstico de recurrencia, y el perfil de expresión de ki67/p16 mediante X2 de Pearson y prueba exacta de Fisher, para variables cualitativas y prueba T de Student o U de Mann-Whitney para las variables cuantitativas. La asociación con recurrencia se realizó con técnica de Kaplan-Meier. Usando el programa SPSS 22. Diseño: casos y controles Población: pacientes postconizadas atendidas en el servicio de Colposcopia de CEMENAV. **Resultados:** Se realizó prueba de Exacta de Fisher para la asociación de Expresión de P16/KI67 con la recidiva de las lesiones, encontrando una p significativa de 0.002, con un riesgo de 5.775 más de padecer recidiva de la lesión con la sobreexpresión de P16/KI67 y un Intervalo de Confianza del 95% de 2.496 a 16.98. Existe asociación entre la recidiva de lesiones intraepiteliales y la sobreexpresión de la tinción dual de p16/ki67 en los pacientes del Centro Médico Naval-Clínica de Colposcopia en el periodo de 2015-2020.

#### INTRODUCTION

El Cáncer Cervicouterino y las lesiones preinvasoras son de las problemáticas principales en los Sistemas de Salud de los países en vías de desarrollo, y las lesiones cervicales son precursoras del cáncer invasor.<sup>1</sup> El cáncer cervicouterino es el segundo cáncer más frecuente en la mujer.<sup>2</sup> 80% de los casos ocurren en países con demografía análoga a la mexicana, siendo el principal objetivo de la colposcopia la detección temprana y la aplicación de tratamientos oportunos.<sup>3</sup> En las últimas décadas se ha observado la eficacia del diagnóstico y tratamiento temprano. Aún así la población más afectada son las mujeres del grupo de 25 a 29 años de edad.<sup>4,5,6</sup> Se estiman que se diagnóstica 500,000 pacientes con Cáncer cervicouterino al año.

Un 12%<sup>4,7</sup> Sin embargo y a pesar de los tratamientos que se empleen: cono frío, láser CO2, cono LEEP, la recidiva alcanza un porcentaje de hasta 21.1% en el primer año de seguimiento.<sup>1,14</sup> Las lesiones son de lenta y progresiva evolución por lo cual se deben de estudiar detenidamente todos los factores de riesgos y factores influyentes que evolucionan a recidivas.<sup>1,2,13</sup> Gracias al estudio de los factores de riesgo como tabaquismo, inmunosupresión entre otros descritos se mejoró la detección oportuna en etapas tempranas dentro de la evolución natural de la enfermedad. Así se puede evitar y disminuir el porcentaje de mortalidad, que alcanza hasta un 83% en países en vías de desarrollo.<sup>7</sup> La persistencia o recidiva de lesión va de un 3.67% a 1.47% en lesiones de alto grado, antes conocidas como NIC II y NIC III.<sup>7,17</sup> Se han estudiado diversos factores de riesgos (en las recidivas) tales como la multiparidad, los bordes libres de lesión, actividad sexual, tipo de abordaje quirúrgico y cono, número de parejas, infecciones de repetición entre otros factores demográficos.<sup>7,12,18</sup>

\*Corresponding Author: Amaranta Suazo Sánchez,

3er Year Student Resident Gynecology and Obstetrics in Centro Médico Naval.

La mayoría de los pacientes presenta lesiones y clínica asintomática, por lo cual son necesarios los estudios de screening, siendo obligatoriamente la clasificación de acuerdo a criterios histológicos<sup>3,4</sup>. De ellas, la clasificación con mayor sensibilidad y especificidad para las lesiones es el marcador y tinción dual de p16/ki67 (inmunohistoquímica). Definiéndose como sobreexpresión la aparición de esta tinción en las muestras.<sup>9,16</sup> Se observa mayor sobreexpresión de p16/ki67 en las células anormales en las lesiones de alto grado, siendo usado mayoritariamente este marcador de tinción dual para determinar el nivel de afección de la lesión en muestras dudosas, lamentablemente solo se ha estudiado como método de distinción y clasificación en lesiones indeterminadas por el costo que supone a los hospitales.<sup>9,12</sup> A mayor grado de transformación y lesión intraepitelial se observa mayor incidencia y persistencia de lesión.<sup>1,9</sup> El "p16" es un marcador de supresión y el "Ki67" uno de proliferación, no ocurren en las mismas células, por lo cual se usan en ciclos desregulados, es decir en eventos oncogénicos. Los cuales se han podido observar en pacientes con recidivas o reinfección así como en aquellos que progresan a enfermedad maligna.<sup>9,13,14</sup> El ki67 tiene mayor relevancia como marcador de proliferación teniendo influencia mayoritaria en la persistencia de la lesión, perpetuando sobre todo en líneas celulares afectadas. En pacientes con híbridos oncogénicos se ha observado mayor incidencia de recidivas, teniendo también mayor expresión de esta tinción dual.<sup>9,14</sup>

## MATERIALS AND METHODS

### Tipo de estudio

### CASOS Y CONTROLES

**Ubicación temporal y especial:** Se obtendrán los resultados de las biopsias y colposcopias y los reportes de expedientes que se realizaron en las instalaciones en la Clínica de Colposcopia de Centro Médico naval del periodo del 2015 al 2020

**Población de estudio:** Todos los Mujeres postoperadas de conización durante los años 2015 a diciembre del 2020 en seguimiento por la clínica de Colposcopia de CEMENAV con reporte de inmunohistoquímica (tinción dual de p16/ki67)

### Tipo de muestreo:

**A conveniencia:** Se incluyó toda la población que reúna las características previamente descritas de acuerdo a los criterios establecidos, clasificándolos en caso y controles. Se buscará tener al menos dos controles por cada caso; si hubiera más controles se erigirán mediante la técnica de casos consecutivos a partir de los más recientes. Por lo cual no se consideró usar fórmulas para escoger el tamaño de muestra.

- Se revisaron las biopsias cervicales de alto grado de acuerdo al registro de libreta de Patología.
- Se revisaron los expedientes de las pacientes con lesiones de alto grado eligiendo las pacientes postconizadas con seguimiento que cumplan los criterios de inclusión para los casos (reporte de inmunohistoquímica entre otras variables descritas).
- Se recabó información y se vació en la base de datos

- Se revisó la libreta de procedimientos colposcópicas para escoger los controles (de 1 a 2 por reporte de caso) con los mismos criterios de inclusión, no inclusión y eliminación.

Se revisaron exhaustivamente los expedientes de los casos y controles, así como se analizó cuidadosamente los reportes de biopsias y conos de cada uno de los expedientes de los pacientes, integrando la base de datos con la información obtenida. El presente trabajo de investigación se realizó en coordinación y autorización previa del Departamento de enseñanza y Calidad del CEMENAV, así como el Departamento de Investigación de la Escuela de Posgrados de Sanidad naval

## RESULTS

Se analizaron 115 expedientes de los cuales se eliminaron 19 por no cumplir las características requeridas para el estudio, al no encontrarse el reporte completo de histopatología por ende no contaba con el resultado descrito de la sobreexpresión de la tinción dual. Se realizó prueba de Exacta de Fisher para la asociación de Expresión de P16/KI67 con la edad de los pacientes, utilizando la mediana de 33 años de edad como punto de corte, no encontrando una asociación o significancia estadística ( $p=0.640$ ) Usando el Test de Fisher  $P$  value 0.6401 no significativa ( $P < 0.05$ ).

**Tabla 1. De contingencias de bordes libres y recidiva**

	Recidiva si	Recidiva no
Bordes libres de lesión	14	63
Margenes comprometidos	10	9

**Tabla 2. De Contingencias Sobreexpresión Y Recidiva**

	Exp p16/ki67	No exp p16/ki67	Total
Recidiva +	17	7	24
Recidiva -	19	53	72
Total	36	60	96

### BORDES DE LESION

Se encontró que 77 pacientes (80.2%) se encontraban con Bordes libres de lesión y 19 pacientes con bordes comprometidos (19.5). Con una Odds Ratio de 0.2. Chi Cuadrada de 7.9 con Intervalo de Confianza del 95% (0.1 a 0.6) con una  $p$  de 0.0050 estadísticamente significativa.

**RECIDIVA Y SOBREEXPRESION DE P16/KI67:** Se realizó prueba de Exacta de Fisher para la asociación de Expresión de P16/KI67 con la recidiva de las lesiones, encontrando una  $p$  significativa de 0.002, con un riesgo de 5.775 más de padecer recidiva de la lesión con la sobreexpresión de P16/KI67 y un Intervalo de Confianza del 95% de 2.496 a 16.98.

El test aplicado es el de Fisher's, de acuerdo a las variables dicotómicas estudiadas con una  $P$  estadísticamente significativa por ser menos a ( $P < 0.05$ ) El promedio de aparición de la recidiva es de 13.79 meses y el promedio de seguimiento de las pacientes que no recidivaron 27.59 meses la Odds ratio de casos y controles es de 6.774 (IC del 95% de 2.496 a 16.98)

## DISCUSION

La prevalencia de recibidas de lesión es de 21% de acuerdo a diversos estudios en México, en la Clínica de Colposcopia de CEMENAV del año 2015 al 2020 es de 23.1% siendo similar o cercana a la descrita anteriormente en la literatura estudiada.<sup>1,11</sup> El promedio de edad de las pacientes estudiadas a la edad del cono es de 35.04 años. Lo cual si coincide con la literatura por ser mujeres en edad reproductiva considerada de los 20 a los 45 años.<sup>9,11,12</sup> Asimismo se realizó un seguimiento colposcópico en las recidivas de 13.7 meses y el promedio de seguimiento de las pacientes que no recidivaron 27.5 meses, siendo menor al seguimiento a 5 años en el estudio Mexicano de Merlos-Gutierrez. Con respecto a la sobreexpresión no se puede realizar comparativa de datos puesto que el único dato estadísticamente significativo para Merlos-Gutierrez fue la aparición de híbridos oncogénicos y no se reportan los hallazgos histológicos de las muestras.<sup>1,10</sup> El porcentaje de recidivas en España es de 14.7% siendo menor al reportado en nuestro estudio, siendo la única reportada con significancia estadística los márgenes endocervicales comprometidos. En nuestro estudio la P de dicha variable no fue significativa, sin embargo cabe señalar que en nuestro Hospital no existe variación de técnica quirúrgica al realizarse los conos tipo LEEP (asa electroquirúrgica) en los dos estudios no se considera una muestra suficiente para extrapolarla a la población general.<sup>7,18,19</sup> Los factores descritos con mayor relevancia en diversos estudios fueron el número de parejas sexuales, y en nuestro estudio no existió relación de la misma. Se hace la observación, que a pesar de que los datos son fidedignos de los expedientes clínicos digitales las pacientes pueden mentir los datos sociodemográficos considerados sensibles (inicio de vida sexual o número de parejas sexuales) por lo cuales no fueron las variables mayormente estudiadas en este trabajo.<sup>8,19,20</sup> En Estados Unidos se observó una incidencia de recidiva menor a los estudios anteriormente mencionados puesto que la técnica usada para abordaje de lesión fue la de cono asa LEEP, siendo asimismo mucho menos a la prevalencia reportada en nuestro estudio. Asimismo señalamos también el uso de la inmunohistoquímica de tinción dual como el mejor método de estudio para clasificación de la lesión y la recidiva de lesión, también se observó que el promedio de seguimiento fue menor y asimismo las pacientes que recidivaron en nuestro estudio recidivaron más rápido que otras pacientes, con un promedio de recidiva de lesión a los 13.7 meses contra los 6.7 años de recidiva en el estudio de Cohorte Realizado por la Division de Cancer, epidemiología y Genética de Aimée Kreimer.<sup>12,19,20</sup>

## CONCLUSION

Pudimos observar que efectivamente las pacientes con sobreexpresión de p16 y ki67 tienen mayor riesgo de presentar recidivas de lesión, no pudiendo extrapolar este resultado con ningún estudio en México o los anteriormente descritos, ya que se centran en el estudio de variables sociodemográficas, técnica quirúrgica u oncogenes.

## ACKNOWLEDGMENT: None

## CONFLICT OF INTEREST

None of the authors and coauthors have (or have had) a relationship with any pharmaceutical or sponsor. Ninguno de los autores o coautores tiene algún conflicto de interés

## FUNDING STATEMENT: No Fundings

## REFERENCES

- Merlos-Gutiérrez, Vargas Espinoza, *Et al.* Recidiva de lesión intraepitelial cervical en pacientes postresección de cono con asa diatérmica. *Ginecol Obst Mex Febrero*, 84 (95-104)
- Martínez B, Acosta R, Barrios. Asa Diatérmica en neoplasia cervical intracervical. Estudio histológico. *Rev Mex Patol Clinica* 2009 56; (3):177-182
- Martínez B, Acosta R, Barrios MA, Carbajales AI. Asa diatérmica en neoplasia intracervical. Estudio histológico. *Rev Mex Patol Clin* 2009 56; (3):177-182
- Carvajal JM, Torres RS, González A, Pérez-Montiel D, Lasad F *et al.* Factores asociados a enfermedad residual en el cono central. *Gaceta Mexicana de Oncología*. 2015;14(1):21-27.
- Montero León JF, Bosques Diego O, Delgado Almanza R, Díaz Ortega I. Tratamiento y seguimiento de las lesiones premalignas del cuello uterino. *Rev Cubana Cir*. 2008; 47(3):1-8
- Raul Aguirre Hernández, Leopoldo Medina Carrillo, *et al.* (2007). Factores relacionados con el cáncer cervicouterino en el estado de Nayarit, México. *Ginecol Obstet Mex*, 75, 311-306.
- Matilde Lucia de Montero. (2013). Persistencia o recidivas de NIC en pacientes conizadas. *Rev Obst Ginecol Venez*, 73, 98-107.
- Lía Barrios Sierra, Liliana María Agresott, *et al.* (2014). Expresión simultánea de los marcadores p16INK4a y Ki-67 en extendidos de citología cervicovaginal anormales de archivo. *Medicina y Laboratorio*, 20, 73-86.
- Rafael Comino Delgado. (2016). Valor de p16 en el cribado y diagnóstico de las lesiones del cérvix uterino. 17 de diciembre del 2021, de ROCHE Sitio web: [https://www.seap.es/documents/10157/287128/p16\\_cribad\\_o.pdf](https://www.seap.es/documents/10157/287128/p16_cribad_o.pdf)
- Clara Eugenia Moreno-Ramirez, Orlando Roman Cruz-Terayo, *et al.* (2017). Expresión de p16 y correlación citocolpohistológica en lesiones de cérvix en pacientes de Puerto Vallarta, Jalisco. *Rev Esp Med Quir*, 22, 153-161.
- Aguirre HR, Medina CL, Montoya FH, *et al.* Factores relacionados con el cáncer cervicouterino en el estado de Nayarit, México. *Ginecol Obstet Mex*. 2007;75(06):311-316
- Pluvio J, Coronado Martin, Javier García Santos, *et al.* (2009). La inmunosupresión es un factor mayor de riesgo en la recidiva de las lesiones del tracto genital inferior asociadas al virus de papiloma humano. *Progresos de Ginecología y Obstetricia*, ELSEVIER, 53 (5), 179-188.
- Kably A, Ruiz Moreno JA, Lazcano E, Vargas VM, Aguado RA, Consenso para la prevención del cáncer cervicouterino en México. *Ginecol Obstet Mex* 2011;79(12):785-787.
- Valderrama M, Campos FE, Cárcamo CP, García PJ. Factores asociados a lesiones cervicales o presencia del virus del papiloma humano en dos poblaciones de estudiantes de Lima. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2007; 24(3): 234-39.
- McIntyre-Seltman K, Castle PE, Guido R, Schiffman M, Wheeler CM. Smoking is a risk factor for cervical intraepithelial neoplasia grade 3 among oncogenic human papillomavirus DNA-positive women with equivocal or mildly abnormal cytology. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14(5):1165-70.

Flannelly G, Bolger B, Fawzi H, De Lopes AB, Monaghan JM. Follow up after LLETZ: could schedules be modified according to risk of recurrence BJOG 2001;108(10):1025-30.

Heller. D. American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. Report of a New ISSVD Classification of VIN. J Low Tract Disease., 11 (2007), pp. 46-47

Joura. E.A. Epidemiology, diagnosis and treatment of vulvar intraepithelial neoplasia. Curr Opin Obstet Gynecol., 14 (2002), pp. 39-43

De Palo, G. S. Dexeus, W. Chanen. Neoplasia intraepitelial cervical. Patología y tratamiento del tracto genital inferior, pp. 70-101

Encuesta española sobre resultados citológicos anormales, año 2005. Boletín n.º 20 de la Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia. Segundo semestre 2006, p. 10.

\*\*\*\*\*