

Carcinoma de vulva y lesiones precursoras: estudio epidemiológico y citohistológico

Ana María Puig Rullán¹, Cristóbal Martínez Delgado², Concepción Millana de Ynés³, Agustín Luque Mildea⁴, Fulgencio Jiménez Sánchez⁵, Juliana Fariñas González⁶

^{1y5} Serv. Anatomía Patológica. Hosp. Santa Bárbara. Ciudad Real. ² Unidad Investigación. Hosp. Alarcos. Ciudad Real. ^{3 y 6} Cátedra Anatomía Patológica 2. Hospital Clínico San Carlos. Madrid. ^{4 y 5} Serv. Obstetricia y Ginecología. Hospital Santa Bárbara. Ciudad Real. Proyecto financiado por la Junta de Comunidades de Castilla la Mancha con el número 97391.

RESUMEN

Introducción: A pesar de la accesibilidad de la región vulvar tanto en la exploración clínica como en la obtención de las muestras citológicas, los conocimientos de su patología neoplásica maligna y de lesiones precursoras son muy inferiores a los que se han obtenido en otras estructuras del aparato genital femenino. No debemos olvidar que aunque la patología de esta región es menos frecuente, puede alcanzar cifras nada despreciables.

Objetivos: Determinar la prevalencia del carcinoma de vulva y lesiones precursoras en una zona de salud de Ciudad Real. Establecer la concordancia diagnóstica entre la citología vulvar por raspado y biopsia vulvar. Conocer si existe relación entre lesiones precursoras y carcinoma con el virus del papiloma humano.

Diseño: Estudio Transversal.

Sujetos de estudio: Muestra representativa de mujeres mayores de 45 años que han acudido a programas de atención a la mujer (n=484) de áreas urbana y rural. Se han realizado 21 biopsias vulvares.

Ámbito del estudio: Puertollano (Ciudad Real). España.

Resultados: En nuestro medio, las mujeres presentaron unas características socioculturales homogéneas, lo que explica la escasa incidencia de patología vulvar.

La concordancia entre la morfología diagnosticada por la toma vulvar con la triple toma ha sido elevada.

En las lesiones intraepiteliales de vulva biopsiadas, el V.P.H. obtenido en nuestra muestra fue el subtipo 6

Conclusión: Dado el hallazgo de dos casos de neoplasia genital multicéntrica asociada a V.P.H., creemos que sería interesante la realización de raspado vulvar a toda mujer con lesión intraepitelial de cervix uterino, para obtener datos de prevalencia de neoplasia genital multicéntrica.

Palabras claves: Vulva, V.P.H., P.C.R., citología, V.I.N.

INTRODUCCIÓN

A pesar de la accesibilidad de la región vulvar tanto en la exploración clínica como en la obtención de las muestras citológicas, los conocimientos de su patología neoplásica maligna y de lesiones precursoras son muy inferiores a los que se han obtenido en otras estructuras del aparato genital femenino. No debemos olvidar que aunque la patología de esta región es menos frecuente, puede alcanzar cifras nada despreciables (1,2).

Tradicionalmente, se ha considerado que el carcinoma epidermoide de vulva es una neoplasia poco frecuente, cuya edad de presentación estaba entre los 70-80 años siendo muy rara en mujeres jóvenes. La incidencia de esta neoformación ha aumentado ligeramente en mujeres por debajo de los 45 años, presumiblemente como resultado de cambios en el comportamiento sexual y a la mejora de conocimientos médicos (3).

Recientemente, las investigaciones se han centrado en tres aspectos:

1. Las lesiones precancerosas de la vulva, se agrupan actualmente bajo el término de neoplasia vulvar intraepitelial (V.I.N.) (4). El riesgo de progresión de estas lesiones a carcinoma invasor se distribuye en dos grupos distintos: a) V.I.N. en mujeres jóvenes, con riesgo muy bajo sobre todo si son tratadas. Incluso pueden regresar espontáneamente. Las lesiones se asocian a infecciones por (V.P.H.) y suelen ser multifocales con otras localizaciones en el tracto genital. b) V.I.N. en mujeres de edad avanzada o inmunosuprimidas. Tienen un mayor riesgo de progresión a cáncer invasor. Suelen ser lesiones unifocales y se asocian menos frecuentemente a infección por (V.P.H.). Las mujeres con positividad para el virus de inmunodeficiencia humana (V.I.H.) son más proclives a desarrollar V.I.N. y tienen mayor riesgo de recidiva después del tratamiento. Además, la lesión puede progresar a carcinoma invasor (5).

2. La descripción reciente de dos tipos de carcinomas vulvares:

Los que ocurren en mujeres jóvenes asociados a V.I.N. Suelen ser tumores verrucosos o basaloides y se detecta el subtipo 16 en el 75% de los casos. (6,7)

Los que aparecen en mujeres de mayor edad, como el carcinoma epidermoide bien diferenciado queratinizante que no se asocia a V.I.N., pero sí a hiperplasia epitelial o a liquen escleroatrófico (8).

3. La posible relación del cáncer de vulva y comportamiento sexual. Para algunos autores las neoplasias vulvares están asociadas a factores sexuales tales como: edad temprana del primer coito, promiscuidad, infecciones venéreas, inflamaciones vulvares, condilomas genitales previos, cáncer del cervix uterino e incluso hábito tabáquico.

SUJETOS Y MÉTODOS

Se ha realizado un estudio de prevalencia de tipo transversal durante el período comprendido entre el mes de julio de 1999 hasta diciembre de 2000. Se estudiaron todas las mujeres mayores de 45 años que acudieron a programas de atención a la mujer en las áreas urbana y rural de la zona de salud de Puertollano (Ciudad Real).

Se recogieron los siguientes datos demográficos: Edad, trabajo en casa o fuera de ella, edad del primer coito, número de parejas sexuales, número de hijos, años con anticoncepción hormonal, patología ginecológica previa, estatus hormonal (menopausia o no).

En total han participado 484 mujeres, a las que hemos realizado triple toma citológica de Weid, citología vulvar por raspado del vestíbulo o de los labios menores. Las tomas citológicas se procesaron y tiñeron según el método de Papanicolau. Para clasificar el diagnóstico de la triple toma y del raspado vulvar hemos utilizado el sistema de Bethesda 1991 (tabla 1).

Además del diagnóstico del sistema Bethesda también se recogieron los siguientes datos microbiológicos: Presencia de Bacilo de Doderlein, Gardnerella vaginal, ausencia de flora y datos sugestivos de infección por clamydeas.

El aspecto hormonal de la triple toma se clasificó como: No es valorable por inflamación, frotis citolítico, frotis atrófico, frotis hipotrófico, frotis intermedio, frotis estrogénico, frotis luteínico, frotis inespecífico y la imposibilidad de realizar la evaluación hormonal por otros factores.

Tabla 1. Clasificación de Bethesda

Dentro de los límites de la normalidad		
Cambios celulares benignos		
Infección Tricomonas vaginales Hongos Flora cocobacilar Bacterias morfológicamente compatible con actinomices Cambios celulares asociados con herpes virus	Cambios reactivos Cambios celulares reactivos asociados a: <ul style="list-style-type: none"> • Inflamación(incluida reparación típica) • Atrofia con inflamación (vaginitis atrófica) • Radiación • Dispositivo intrauterino • Otros 	
Anomalías de la celularidad epitelial		
Células escamosas	Células glandulares	Otros tumores
– Atipia escamosa de significado incierto – Lesión intraepitelial de bajo grado incluyendo VPH, displasia leve/CIN1 – Lesión intraepitelial de alto grado incluyendo Displasia moderada y severa, CIS/Cin2y Cin3 – Carcinoma epidermoide	– Células endometriales, citologicamente benignas, en mujeres postmenopáusicas – Atipia de células glandulares de significado incierto – Adenocarcinoma – Adenocarcinoma endocervical – Adenocarcinoma endometrial	– Benignos – Malignos

Los resultados obtenidos en la citología vulvar se clasificaron como:

1. Diagnóstico morfológico.

Ausencia de celularidad, dentro de los límites de la normalidad, atipia celular de significado incierto, lesión intraepitelial de bajo grado, lesión intraepitelial de alto grado, carcinoma epidermoide, otros tumores y presencia de escamas anucleadas (células hiperqueratósicas).

2. Diagnóstico microbiológico.

Las mismas posibilidades que en la triple toma.

3. Hemos intentado la posibilidad de valoración hormonal de las muestras vulvares.

Las hemos clasificado de igual forma que en la triple toma.

Las biopsias de la vulva se realizaron bien por escisión en cuña o por punch y se fijaron en formol tamponado al 10%. Se procesaron, cortaron y tiñeron según métodos habituales.

Las biopsias vulvares se diagnosticaron siguiendo las pautas de la Sociedad Internacional para el estudio de las Enfermedades Vulvares (I.S.S.V.D.). Los resultados de la biopsia vulvar, los hemos clasificado como: No realizada, normal, displasia leve, displasia moderada-seve-

ra, carcinoma epidermoide, liquen escleroatrófico, hiperplasia epitelial típica y otros.

Se realizaron 21 biopsias vulvares. En todos los casos de lesión citológica intraepitelial, en los carcinomas y en las lesiones macroscópicas de liquen escleroatrófico o de leucoplasia.

Para la realización de la técnica de P.C.R. se utilizaron uno o dos cortes de 5 micras, según el tamaño de la pieza y se introdujeron en tubos de Eppendorf de 1,5 ml.

Para la extracción y amplificación genómica del A.D.N. se utilizó el KIT HPVFast de Pharma-Gen que se realiza sobre un fragmento de unas 450pb, dentro de la región L1 del V.P.H. Para la interpretación de los resultados se usaron dos tipos de enzimas de restricción(incluidas en el KIT). La región L1 presenta un patrón de restricción característico que permite distinguir más de 50 tipos de virus que afectan a mucosas. Las bandas del A.D.N. se visualizaron al correr las muestras sobre el gel de agarosa Metaphor y 0,5 microgramos de A.D.N. molecular Wieth Marker VIII (Boehringer-MannHein).

En todos los casos estudiados para verificar que funcionaba la reacción en cadena de la polimerasa, se utilizó un control negativo y otro posi-

tivo además del control interno de cada muestra que proporcionó el KIT VPHFast.

Los resultados de la P.C.R. los hemos clasificado como: No realizado, realizado negativo, inhibido, realizado positivo-Su tipo de virus hallado.

La ampliación genómica del A.D.N. del V.P.H. se realizó mediante técnica de P.C.R. en seis casos de condilomas, en diez de liquen escleroatrófico, en tres casos de hiperplasia epitelial sin atípa y en dos carcinoma epidermoides.

Los datos se volcaron en Access 97 y se analizaron con la v. 9 de S.P.S.S. En principio se realizó un análisis descriptivo de las variables recogidas y posteriormente, mediante regresión logística se describió la relación entre la presencia de escamas y frotis atrófico con la edad.

RESULTADOS

Análisis descriptivos

Datos demográficos: Las mujeres estudiadas tenían una edad comprendida entre los 45 y los 88 años. La mayoría (91%) tenían como ocupación «sus labores» y tan solo un 9% trabajaban fuera de casa. La edad del primer coito estaba entre los 20-26 años. El 96% había tenido una sola pareja. El 60% había tenido entre 2 y 3 hijos. El 74% no había recibido anticoncepción hormonal. El 78% eran menopáusicas. El 90% no había recibido terapia hormonal sustitutiva. El 85.5% no había presentado ninguna patología ginecológica previa.

Citología vulvar

El 97% de los raspados vulvares se tomaron de vestíbulo y sólo un 3% de los labios menores. El 0,2% de las extensiones citológicas no presentaron células.

El 0,4% de las triples tomas tenían patología frente al 1,6% de las citologías vulvares. En cinco pacientes (1%) la lesión intraepitelial fue de bajo grado y en 1 paciente (0,1%) fue de alto grado. Dos casos fueron carcinomas epidermoides (0,4%) y un caso (0,1%) adenocarcinoma metastásico.

El 50% de las extensiones vulvares mostraban escamas anucleadas.

Comparando ambos procedimientos hemos encontrado en dos ocasiones que no existía material valorable en el raspado de la vulva y la triple toma fue normal. En cuatro casos de raspado vulvar, se observaron lesiones intraepiteliales de bajo grado y en la triple toma no había alteraciones. En un caso con lesión intraepitelial de bajo grado en la vulva también existía la misma lesión en la triple toma. En esta mujer la P.C.R. para el V.P.H. en la biopsia vulvar resultó inhibido, pero en la toma del cervix mediante captura híbrida II, se identificó un grupo de V.P.H. de alto riesgo oncogénico y se realizó conización a la paciente. En las dos mujeres con carcinoma epidermoide en el raspado vulvar, comprobado por biopsia, la triple toma fue normal. Se diagnosticó una metástasis de un carcinoma en vulva. La paciente estaba operada de un carcinoma lobulillar de mama y la triple toma fue normal. No disponemos de biopsia de la vulva de esta paciente (tablas 2 y 3).

De las veintiuna biopsias vulvares realizadas, cinco casos presentaban displasia leve, uno moderada, dos carcinoma epidermoide, diez liquen escleroatrófico y tres hiperplasia epitelial sin atípa.

La P.C.R. efectuada en las biopsias fue negativa en trece ocasiones, inhibida en dos casos y positiva en seis. El subtipo 6 de V.P.H. se encontró en cinco condilomas y un liquen escleroatrófico.

Análisis inferencial

La relación entre la edad y la presencia de escamas en las extensiones vulvares se estudió

Tabla 2. Resultados microbiológicos de la triple toma frente a citología vulvar

	Triple toma	Citología vulvar
Doderlein	44,8%	45%
Sin flora	36,5%	16%
Hongos	2,3%	4%
Gardnerella	1,7%	6,6%
Cocobacilos	17,6%	28,7%
Trichomonas	0,6%	0,2%
Sugestivo clamyeas	0,4%	
Sugestivo V.P.H.	0,1	0,2

Tabla 3. Resultados aspecto hormonal de la triple toma frente a citología vulvar

	Triple toma	Citología vulvar
No valorable por inflamación atrófico	2,8%	5%
Citolítico	3,4%	4%
Atrófico	46,1%	35,4%
Hipotrófico	3%	7%
Intermedio	17,2%	24,1%
Estrogénico	16,5%	16,5%
Luteínico	5,7%	0%
Inespecífico	4,7%	0%
No evaluación hormonal	0,6%	8%

mediante regresión logística. Hay una relación estadísticamente significativa de forma que a mayor edad, hay mayor probabilidad de encontrar escamas anucleadas ($p < 0,001$).

Hemos comparado la morfología del raspado vulvar con la morfología de la triple toma. En el 98,2% había concordancia morfológica entre ambas tomas.

DISCUSIÓN

En nuestra muestra, las mujeres presentaron escasos factores de riesgo relacionados con la aparición de neoplasias vulvares. Destacaríamos las costumbres sexuales tradicionales (edad del primer coito 20-26 años, el 96,3% han tenido una única pareja) y la ausencia de patología ginecológica previa en el 85,5%. Esto explicaría el bajo índice de enfermedades de transmisión sexual encontradas.

Las dos mujeres con carcinoma epidermoide tenían más de 80 años y era de esperar que sus neoplasias no estuvieran asociadas al V.P.H., ya que los carcinomas epidermoides queratinizantes comunes, se originan de novo en epitelios sin lesiones asociadas al mismo. Sabemos que suelen asociarse a liquen escleroatrófico o a hiperplasia epitelial.

De igual forma la presencia de liquen escleroatrófico, hiperplasia epitelial y lesiones epiteliales, solo aparecieron en mujeres de más de 54 años, como era de esperar por las características de la muestra.

La autonomía económica y las nuevas condiciones socioculturales de las mujeres están originando un cambio en el comportamiento sexual de las mismas. Con este cambio en el patrón de conducta femenino, es previsible que en los próximos años las revisiones ginecológicas muestren un aumento en la incidencia de V.P.H. y lesiones vulvares asociadas.

El subtipo de V.P.H. ha sido el 6 como era de esperar.

Coincidimos con los autores que han realizado estudios similares de citología vulvar: que mediante raspados y extendidos efectuados de forma adecuada, la citología vulvar proporciona datos morfológicos suficientes que permiten diagnosticar las neoplasias malignas escamosas y las displasias asociadas a condilomas. Sin embargo, no hemos podido diagnosticar citológicamente los casos de liquen escleroatrófico o de hiperplasia epitelial en los raspados vulvares, posiblemente porque el número de casos con esta patología no ha sido muy importante. Únicamente en un caso hemos podido relacionar el liquen escleroatrófico con el V.P.H. (9).

Creemos que sería interesante realizar raspados vulvares a todas las mujeres que presenten lesiones intraepiteliales de cervix uterino, para poder tener datos epidemiológicos de neoplasias genitales multicéntricas asociadas al V.P.H. (10).

La citología vulvar tomada de vestíbulo permite un conocimiento adecuado de la fase de ciclo hormonal femenino, como han reseñado otros autores (11).

CONCLUSIONES

En nuestro medio, las mujeres presentaron unas características socioculturales homogéneas, lo que explica la escasa incidencia de patología vulvar.

La concordancia entre la morfología diagnosticada por la toma vulvar con la triple toma ha sido elevada.

En las lesiones intraepiteliales de vulva biopsiadas, el V.P.H. obtenido en nuestra muestra fue el subtipo 6.

La presencia de escamas anucleadas en los raspados vulvares tiene relación directa con la edad de las mujeres.

Dado el hallazgo de dos casos de neoplasia genital multicéntrica asociada a V.P.H., creemos que sería interesante la realización de raspado vulvar a toda mujer con lesión intraepitelial de cervix uterino, para obtener datos de prevalencia de neoplasia genital multicéntrica.

Agradecimientos

A las Técnicas en Anatomía Patológica de la Unidad, Srtas. María José Navajas y Soledad del Campo que han procesado las extensiones citológicas.

A D. Luis López-Espinosa que colaboró en la Introducción de los datos en la Base ACCES.

BIBLIOGRAFÍA

1. Jiménez-Ayala M, Vilaplana E, Nogales Ortiz F, Nogales Fernández F: Citopatología Ginecológica 2.ª edición. Editorial Científico Médica. Barcelona. 1985.
2. Prat J: Pathology of vulvar intraepithelial lesions and early invasive carcinoma. *Hum. Pathol.* 22(2): 877-883. 1991.
3. Jones RW, Baranyai J, Stables S: Trends in squamous cell carcinoma of the vulva: The influence of vulvar intraepithelial neoplasia. *90 (3)* 448-452, 1997.
4. Hope K, Haefner K, Tate J, Mclachlin, Crum C: Vulvar Intraepithelial Neoplasia: Age, Morphological Phenotype. Papillomavirus DNA, and coexisting invasive Carcinoma. *Human Pathology.* 6: 147-158, 1995.
5. Kurman R, Tohi T, Schiffman M: Basaloid and warty carcinomas of the vulva. Distinctive Types of squamous cell carcinoma. Frequently associated human papillomavirus: *Am. J. Surg. Pathol.* 72 (2): 133-145, 1993.
6. Bosch FX: The epidemiological association of HPV and vulvar cancer. *Servei D'epidemiologia I register del cancer.* Barcelona. Scientific Sessions. Eurogin 1997.
7. Hildesheim A, Han Ch, Briton L. Human Papillomavirus Type 16 and risk of Preinvasive and Invasive Vulvar Cancer. Results from a seroepidemiological Case-control Study. *Obstet & Gynecol.* 90: 748-54. 1997.
8. Prat J, Lerma E, Matias-Guiu X. Basal cell dysplasia of the vulva preceding the development of carcinoma in elderly patients with lichen sclerosis and squamous cell hyperplasia. *Am. J. Surg. Pathol.* 1997.
9. Van Hoesven K, Redleman G, Artymyshyn R. Cytologic Findings in Lichen Sclerosus. *Acta Cytol.* 41: 474-480, 1997.
10. Van Beurden, Kate F, Smiths H, Berkhout R, Craen A. Multifocal Vulvar Intraepithelial Neoplasia grade III and Multicentric lower genital tract Neoplasia is associated with transcriptional active human papillomavirus.
11. Fernández-Cid A, López Marin L. Citopatología ginecológica y mamaria. Cap 20, Pág. 489-490. Ediciones científicas técnicas. SA. 1993 2.ª ed. Barcelona.