

Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București



TEZĂ DE DOCTORAT

**Factori predictivi pentru boala reziduală sau recurentă
după tratamentul leziunilor neoplazice cervicale
intraepiteliale de grad înalt**

REZUMAT

Conducător științific

Prof. Dr. Radu Vlădăreanu

Doctorand

Călina Dragosloveanu (căs. Maier)

București, 2016

Cuprins

Partea Generală

Introducere.....	5
I. Evoluția conceptului leziunilor neoplazice cervicale intraepiteliale – terminologie și perspectivă istorică	7
I.1. De la Hippocrate- Rigoni-Stern până la zur Hausen	7
I.2. Începuturile colposcopiei	7
I.3. Începuturile screeningului citologic cervical	9
I.4. Evoluția terminologiei.....	10
II. Noțiuni de embriologie, anatomie și histologie ale colului uterin	15
II.1. Dezvoltare embriologică.....	15
II.2. Anatomia colului uterin	16
II.4. Aspecte citologice normale ale colului uterin.....	25
Bibliografie.....	28
III. Zona de transformare a colului uterin.....	30
III.1. Istoric natural.....	30
III.2. Aspecte histologice ale metaplaziei scuamoase	31
III.3. Aspecte colposcopice ale zonei de transformare normale.....	32
III.4. Zona de transformare anormală.....	36
Bibliografie.....	37
IV. Infecția cu papilomavirus uman- factor necesar în carcinogeneza cervicală.....	38
IV. 1. Introducere	38
IV. 2. Biologia moleculară a papilomavirusului uman.....	38
IV. 3. Clasificarea epidemiologică a tulpinilor HPV	41
IV. 3. 1. Tulpinile virale de risc scăzut.....	41
IV. 3. 2. Tulpinile virale de risc crescut	41
IV. 4. Ciclul celular al papilomavirusului uman	42
IV. 5. Răspunsul imun în infecția cu papilomavirus uman	45
IV. 6. Progresia infecției persistente cu HPV către neoplazie intraepitelială de grad înalt.....	46
Bibliografie.....	47
V. Diagnosticul leziunilor neoplazice cervicale intraepiteliale de grad înalt.....	49
V. 1. Introducere.....	49
V. 2. Examinarea colposcopică	49
V. 2. 1. Acuratețea examenului colposcopic	49
V. 2. 2. Aspecte colposcopice caracteristice CIN2/3	50
V. 2. 3. Sistemele de raportare colposcopică.....	55
V. 3. Diagnosticul histologic	59
V. 3. 1. Biopsia exocervicală.....	59
V. 3. 2. Biopsia canalului endocervical.....	59
V. 3. 3. Aspecte histopatologice.....	60
V. 4. Diagnostic citologic- Leziune intraepitelială scuamoasă de grad înalt (HSIL).....	61
V. 5. Markerii biologici pentru neoplaziile cervicale scuamoase și glandulare	61
Bibliografie.....	63

VI. Opțiuni de tratament al leziunilor neoplazice cervicale intraepiteliale de grad înalt	65
VI. 1. Introducere	65
VI. 2. Tratamentul pacientelor diagnosticate citologic cu leziuni scuamoase intraepiteliale de grad înalt (HSIL).....	65
VI. 3. Tratamentul pacientelor diagnosticate histologic cu leziuni scuamoase intraepiteliale de grad înalt (CIN2/3)	67
VI. 4. Urmărirea după tratament a pacientelor tratate pentru leziunile scuamoase intraepiteliale de grad înalt (CIN2/3)	68
VI. 5. Metode de tratament al leziunilor scuamoase intraepiteliale de grad înalt (CIN2/3) 68	
V. 6. Metode adjuvante și noi perspective în tratamentul leziunilor scuamoase intraepiteliale de grad înalt	73
Bibliografie.....	75

Partea Specială

Premisele lucrării	77
Material și Metode generale	79
Studiul I	87
Introducere.....	87
Obiective.....	87
Material și Metodă.....	87
Rezultate	88
Discuții	107
Concluzii.....	109
Studiul II	110
Introducere.....	110
Obiective.....	110
Material și Metodă.....	111
Rezultate	112
Discuții	135
Concluzii.....	137
Studiul III	139
Introducere.....	139
Obiective.....	140
Material și Metode.....	140
Rezultate	142
Discuții	171
Concluzii.....	175
Discuții și concluzii generale.....	177
Importanța practică a tezei de doctorat.....	182
Bibliografie.....	183
Anexe.....	187

Introducere

Cancerul de col uterin reprezintă în continuare o prioritate majoră de sănătate publică la nivel mondial; în cel puțin o treime din țări este cea mai frecventă cauză de neoplazie în rândul populației feminine, iar pentru femeile cu vârste sub 45 de ani este printre primele trei cauze de neoplazie în 90% din țări.¹ În ciuda progreselor remarcabile realizate în prevenția și tratamentul leziunilor precursore canceroase prin parteneriatul screening citologic și genotipic HPV (Human Papillomavirus- papilomavirus uman) și colposcopie,² dar și prin introducerea vaccinării profilactice anti-HPV în țări dezvoltate precum Australia, SUA, Olanda, Danemarca, datele statistice din România se mențin îngrijorătoare, arătând că patologia neoplazică a colului uterin reprezintă a treia cauză de cancer în populația feminină și a doua cauză de cancer la femeile cu vârste între 15 și 44 de ani.³

Dezvoltarea carcinomului cervical invaziv este precedată pe o perioadă variabilă de timp, în cursul unui proces multistadial, de leziunile neoplazice cervicale intraepiteliale de grad înalt (Cervical Intraepithelial neoplasia- CIN)^{4,5} care dacă sunt diagnosticate și tratate corespunzător întrerup secvența dezvoltării neoplazice.⁶ Cu toate acestea, studiile recente arată că 10 până la 15% dintre pacientele tratate pentru CIN2/3 sunt ulterior diagnosticate cu leziuni cervicale persistente sau recurente,⁷ subliniind astfel necesitatea stabilirii unor protocoale de urmărire particulare pentru acest grup de paciente.

Factorul necesar pentru transformarea celulară cervicală neoplazică îl constituie infecția persistentă cu tulpini oncogenice HPV⁸ în relație cu variați cofactori adjuvanți în promovarea carcinogenezei. Preocuparea continuă asupra complexității istoriei naturale a infecției virale HPV și interacțiunea acesteia cu celulele-gazdă și sistemul imun a permis dezvoltarea tehnicilor de diagnostic molecular cu sensibilitate și specificitate cât mai ridicate, elaborarea variantelor de screening aplicabile la nivel populațional, validarea și implementarea strategiilor globale pentru vaccinarea profilactică anti-HPV, crescând totodată nivelul de cunoaștere și înțelegere ale patologiei variate induse de HPV.

În era medicinei moleculare în care oportunitățile de diagnostic imunocitochimic și genotipic joacă roluri din ce în ce mai pregnante în abordarea de tip preventiv a neoplasmului cervical, examinarea colposcopică își păstrează indicațiile menținându-se în congruență cu multiplele elemente de noutate care necesită o rapidă translatăre în practica clinică curentă.

Este important de observat totuși că virusul HPV este unul dintre puținii agenți cu cert potențial inductor neoplazic pentru care oportunitățile de prevenție au întâlnit numeroase bariere socio-politice a căror natură variază în funcție de țară și climat cultural. În ceea ce privește programul de vaccinare anti-HPV din țara noastră debutat în anul 2010 având drept populație-țintă fetele cu vârsta de 12 ani, acoperirea vaccinală a fost de sub 5%.⁹ Unul dintre cei mai importanți factori implicați în refractaritatea părinților de a aproba vaccinarea a fost reprezentat de lipsa de informare referitoare la eficacitatea și profilul de siguranță ale vaccinului tetravalent.

Nivelul de informații ale adolescenților despre infecția HPV, vaccinul anti-HPV și testul Babeș-Papanicolau este alarmant de redus și corelat cu debutul precoce al vieții sexuale, veniturile familiale și auto-percepția asupra relației cu membrii familiei;¹⁰ acest

aspect subliniază nevoia acută de dezvoltare a campaniilor educaționale care să includă participarea activă a mijloacelor mass-media, școlilor, medicilor și părinților pentru a putea alinia rata națională de vaccinare anti-HPV celei din țările dezvoltate. În consecință, sunt imperios necesare în țara noastră adoptarea și extinderea unui repertoriu de politici de sănătate al căror punct convergent să fie reprezentat de reducerea ratelor de incidență și prevalență ale leziunilor HPV- induse.

Una dintre verigile fundamentale în reducerea incidenței cancerului cervical invaziv o constituie tratamentul leziunilor cervicale intraepiteliale de grad înalt,¹¹ atât electrorezeceția cu ansă diatermică (ERAD), cât și conizația chirurgicală sunt opțiuni conservatoare fezabile în managementul CIN2+, având valențe simultan terapeutică și diagnostică.¹² Cu toate acestea, studiile clinice au demonstrat că pacientele care beneficiază de terapie pentru CIN 2+ prezintă în continuare un risc de a fi diagnosticate cu cancer cervical mai ridicat decât în rândul femeilor sănătoase. Astfel, o metaanaliză a arătat că incidența cancerului cervical invaziv este 56/100.000 pentru cel puțin 20 de ani după tratament, rată de 10 ori mai crescută comparativ cu populația generală;¹³ similar, un alt studiu a raportat rate cumulative ale CIN2/3 în primii 6 ani după tratament de 14%.¹⁴

Factorii de risc pentru recurența/ persistența lezională după tratamentul CIN rămân un subiect controversat și multiple studii desfășurate pe parcursul ultimilor ani s-au concentrat asupra identificării acestora, raportând rezultate contradictorii.

În acest context, scopurile acestei lucrări reprezentate de identificarea factorilor predictivi pentru persistența/recurența post-terapie a leziunilor cervicale intraepiteliale de grad înalt și definirea unui grup populațional la risc care să necesite ulterior programe de urmărire individualizate constituie elementele definerii care, în conjuncție cu optimizarea modalităților de prevenție primară a infecției HPV, participă la edificarea uneia dintre prioritățile actuale de sănătate publică la nivel național: reducerea incidenței cancerului de col uterin.

Partea Specială

În lucrarea de față, procesul de cercetare științifică a fost organizat pe trei linii de studiu inter- conectate:

I. Corelația factorilor demografici cu rata de persistență/ recurență a leziunilor neoplazice cervicale intraepiteliale după conizație.

II. Dinamica infecției cervicale cu papilomavirus uman și a examenului citologic cervical la pacientele tratate conservator pentru neoplazie cervicală intraepitelială de grad înalt.

III. Contribuția factorilor anatomo- patologici ai piesei de conizație și a aspectului colposcopic (obiectivat prin Indicele Colposcopic Reid) la predicția bolii persistente/ recurente cervicale.

Astfel, modelul epidemiologic de studiu a fost analitic, observațional, longitudinal, prospectiv de cohortă tip I desfășurate în cadrul Spitalului Clinic de Obstetrică- Ginecologie ”Profesor Doctor Panait Sîrbu” în perioada noiembrie 2013- februarie 2016. Inițial au fost incluse în studiu 293 de paciente diagnosticate cu displazie cervicală de grad înalt la care s-a practicat terapie excizională cervicală conservatoare (conizație) în cadrul clinicii noastre. Din numărul total inițial 3 paciente au fost pierdute din protocolul de urmărire motiv pentru care au fost excluse din studiu; astfel lotul total final de urmărire a fost alcătuit din 290 de paciente.

Selectarea pacientelor și colectarea datelor

Pentru lotul de studiu s-au folosit următoarele criterii de includere și excludere a pacientelor.

Criteriile de includere:

- Diagnostic inițial de displazie cervicală scuamoasă de grad înalt (citologic/ histologic)
- Terapie inițială excizională cervicală conservatoare (electroconizație/ conizație chirurgicală) efectuată în clinica noastră
- Examinare și diagnostic histopatologic efectuat în clinica noastră
- Examinare colposcopică anterior intervenției chirurgicale efectuată în clinica noastră
- Determinarea statusului infecției cervicale HPV (identificarea genotipică a tulpinilor virale prin metoda reacției de polimerizare în lanț- PCR, polymerase chain reaction) înaintea intervenției chirurgicale și la cel puțin o vizită de urmărire post-terapie
- Participarea la minimum două vizite de urmărire post-terapie (la 12, respectiv 24 de luni de la intervenția chirurgicală)

- Consimțăminte informate referitoare la examinarea colposcopică, anestezie și intervenții chirurgicale (biopsie cervicală, curetaj endocervical, excizie cervicală, histerectomie totală simplă/ radicală) semnate de către fiecare pacientă.

Criteriile de excludere:

- Diagnostic inițial de anomalii glandulare cervicale (citologic/ histologic)
- Diagnostic inițial de carcinom cervical (citologic/ histologic)
- Paciente care au beneficiat anterior de terapie excizională cervicală
- Paciente însărcinate
- Vârsta sub 21 de ani
- Absența examinării colposcopice anterior intervenției chirurgicale sau efectuarea acesteia într-un alt departament de colposcopie
- Absența determinării statusului infecției cervicale HPV
- Prelucrarea și examinarea pieselor histologice într-un alt departament de anatomo-patologie
- Lipsa de complianță a pacienților la tratament/ cel puțin două vizite de urmărire post-terapie
- Absența consimțămintelor informate referitoare la examinarea colposcopică, anestezie și intervenții chirurgicale (biopsie cervicală, curetaj endocervical, excizie cervicală, histerectomie totală simplă/ radicală) semnate de către fiecare pacientă.

Pe baza diagnosticului inițial de displazie cervicală de grad înalt pacientele au fost subîmpărțite în două categorii: cele cu diagnostic citologic (leziune scuamoasă intraepitelială de grad înalt- HSIL, conform Sistemului Bethesda de raportare a citologiei cervicale în mediu lichid),¹⁵ respectiv cele cu diagnostic histologic obținut în urma biopsiei cervicale (neoplazie cervicală intraepitelială de grad înalt- CIN 2/3, conform clasificării Organizației Mondiale a Sănătății a Tumorilor).¹⁶

Examinarea colposcopică

Toate pacientele au beneficiat inițial de examinare colposcopică în cadrul Departamentului de Colposcopie al clinicii noastre efectuată de către medicii specialiști/primari cu competență în Colposcopie, iar diagnosticul colposcopic s-a stabilit pe baza Indicelui Colposcopic Reid (ICR). Scorul total al impresiei colposcopice a fost următorul: 0-2 puncte (aspect normal/ CIN 1- leziune de grad scăzut), 3-5 puncte (CIN 1/2- leziune de grad intermediar) și 6-8 puncte (CIN 2/3- leziune de grad înalt).¹⁷

Pentru fiecare pacientă care a beneficiat de examinare colposcopică s-a completat de către medic o fișă personală de colposcopie, datată, conținând date referitoare la istoricul pacientei, rezultatul examinării (descriptiv și concluzionat sub forma ICR), recomandările ulterioare și o colpofotografie atașată.

Examinarea citologică cervicală

În cadrul lotului, examinarea citologică cervicală din programul de urmărire post-terapie s-a efectuat utilizând tehnologia citologiei în mediu lichid cu sistemul de procesare

celulară în monostrat SurePath™ (BD Diagnostics Corporation, Franklin Lakes, NJ).²⁴ Prelucrarea și procesarea lamelor colorate prin metoda Papanicolaou au fost efectuate conform protocolului impus de producător,¹⁸ ulterior diagnosticul citologic fiind stabilit de către medicii anatomo-patologi din Departamentul de Anatomo-Patologie al clinicii conform Sistemului Bethesda de raportare a citologiei cervicale în mediu lichid.¹⁵

Testarea infecției HPV

Genotiparea HPV a fost efectuată de rutină la toate pacientele înaintea intervenției chirurgicale și în cadrul a cel puțin uneia dintre vizitele de urmărire post-tratament (la 12, respectiv 24 de luni). Având în vedere recomandările ghidurilor elaborate de către Societatea Americană de Colposcopie și Patologie Cervicală (ASCCP),¹² doar rezultatul genotipării pentru tulpinile HPV de risc oncogen înalt trebuie luat în considerare în evaluarea pacientelor cu rezultate citologice cervicale modificate. În consecință, persistența sau re-infecția HPV observate în cadrul programului de urmărire a pacientelor post-terapie se referă exclusiv la prezența tulpinilor HPV de risc oncogen ridicat.

Tehnica terapiei excizionale conservatoare a colului uterin

În cadrul studiului pacientele au beneficiat ca terapie inițială excizională conservatoare de conizație, fie prin electroconizație cu ansa diatermică, fie prin conizație chirurgicală. Indicațiile pentru practicarea conizației chirurgicale au fost reprezentate de:

- lipsa corelației între rezultatul citologic și examinarea colposcopică
- aspect colposcopic de leziune de grad înalt cu componentă endocervicală
- examinare colposcopică nesatisfăcătoare
- aspect colposcopic înalt sugestiv pentru carcinom invaziv.

Toate pacientele intrate în studiu au semnat un consimțământ informat referitor la intervenția chirurgicală de excizie cervicală și la utilizarea ulterioară a pieselor anatomo-patologice în clinică.

Protocolul de urmărire post-terapie

Vizitele standard de urmărire post-terapie au fost stabilite la 12 și respectiv 24 de luni, conform recomandărilor ghidurilor elaborate de către Societatea Americană de Colposcopie și Patologie Cervicală (ASCCP).¹² În cazurile în care leziuni de tip CIN 2,3 au fost identificate la nivelul marginilor de excizie (margini pozitive de grad înalt) a fost aleasă ca strategie de urmărire re-excizia (conizație) sau histerectomia totală simplă dacă re-excizia nu a fost fezabilă sau pacienta și-a exprimat ferm opțiunea în acest sens.

Fiecare vizită de monitorizare a constat din: examinare clinică ginecologică, testare citologică Babeș-Papanicolaou în mediu lichid și testare HPV (co-testare). În cazurile în care rezultatul co-testării a fost anormal (examen citologic și/sau testare HPV pozitivă) s-a efectuat examinare colposcopică și curetaj endocervical de rutină; orice leziune identificată la examinarea colposcopică a beneficiat de biopsie.

În cazurile în care rezultele ambelor co-testări sunt normale, retestarea la 3 ani a fost recomandată tuturor pacientelor și pentru acestea boala persistentă/recurentă a fost considerată absentă pe parcursul studiului.

Criteriile pentru definirea bolii persistente/ recurente s-au bazat pe evidențierea histologică a leziunilor neoplazice cervicale intrapiteliale pe piesele provenind din biopsie cervicală, curetaj endocervical, re-excizie sau histerectomie totală prelevate în cursul programului de urmărire post-terapie. În cadrul acestui studiu nu am trasat o diferențiere netă între leziunile persistente/reziduale și cele recurente bazată pe criteriul temporal, așa cum propun unii autori, conform căruia leziunile persistente constau în identificarea CIN în primul an post-terapie, iar cele recurente în reapariția CIN la mai mult de un an de la tratament.^{19,20} Pentru cazurile cu leziuni persistente/recurente dovedite histologic decizia de a reintervenii chirurgical s-a luat în funcție de gravitatea displaziei, vârsta pacientei, dorința de a își menține funcția fertilă.

În cazurile în care, în cursul programului de urmărire post-terapie, diagnosticul leziunilor persistente/ recurente a fost de carcinom cervical in situ și carcinom microinvasiv abordarea terapeutică a fost diferențiată în funcție de stadializarea FIGO.²¹ Astfel, în cazurile diagnosticate cu carcinom intraepitelial (in situ, stadiul 0) s-a practicat re-excizie prin conizație sau histerectomie totală simplă dacă re-excizia nu a fost fezabilă sau pacienta și-a exprimat opțiunea în acest sens.

În cazurile diagnosticate cu carcinom cervical stadiul IA1 fără invazia spațiului vascular limfatic s-au practicat histerectomie totală simplă (la pacientele care nu își mai doresc menținerea funcției reproducătoare) sau conizație chirurgicală (în caz contrar). Pentru tumorile stadiul IA1 cu invazia spațiului vascular limfatic s-a practicat histerectomie radicală modificată (clasa II, conform clasificării Piver-Rutledge) cu limfadenectomie pelvină. Pentru cazurile diagnosticate cu carcinom stadiul IA2 s-a practicat histerectomie radicală (clasa III, conform clasificării Piver-Rutledge) cu limfadenectomie pelvină.

Pentru cazurile care au necesitat reintervenție chirurgicală aceasta a fost spațiată la minim 6 săptămâni de la prima conizație pentru a evita morbiditatea infecțioasă.

Pacientele care au beneficiat de intervenții chirurgicale pentru carcinom cervical microinvasiv (stadiul FIGO IA1/2) au intrat ulterior în programul de urmărire post-terapie standardizat pentru acest diagnostic, respectiv la fiecare trei luni în primii trei ani de la intervenția chirurgicală, apoi la 6 luni pentru următorii doi ani și ulterior anual. Programul a constat din: examinare clinică pentru depistarea eventualelor limfadenopatii, examinare pelvină (cu speculul și bi-manuală) și citologică din bontul vaginal sistematic la fiecare vizită; optarea pentru examinarea computer-tomografică cu substanță de contrast abdomino-pelvină, rectosigmoidoscopia, cistoscopia sau biopsia oricărei leziuni suspecte s-a făcut în funcție de coroborarea simptomelor pacientei și a semnelor clinice.

Toate pacientele care au fost urmărite pe parcursul studiului au semnat fișe de consimțământ informat în concordanță cu principiile etice ale Declarației de la Helsinki referitoare la: participarea la studiu, internarea în clinică, intervenția chirurgicală și anestezie, comunicarea datelor medicale, păstrarea și utilizarea ulterioară a pieselor anatomo-patologice obținute în urma intervențiilor chirurgicale. Studiul a fost aprobat de Comisia de Etică a Spitalului Clinic de Obstetrică și Ginecologie ”Profesor Doctor Panait Sîrbu”.

Analiza statistică a datelor

Datele au fost introduse într-o bază de date și ulterior analize cu ajutorul programului SPSS 20.0.0. Pentru variabilele continue s-a utilizat media± deviația standard, mediana și

intervalul corespunzător primei și celei de-a treia quartile, iar pentru cele categoriale raportarea s-a făcut sub formă de procente. Caracteristicile descriptive ale lotului au fost comparate între lotul la care s-a înregistrat prezența bolii persistente/ recurente și cel la care aceasta a fost absentă utilizând testele Fischer exact pentru variabilele categoriale și respectiv, testele Mann-Whitney și Student t pentru variabilele continue. Utilizând modelul de regresie univariată logistică am definit factorii corelați semnificativ statistic cu persistența/ recurența lezională după tratament ca factori de prognostic independenți, estimarea riscului fiind efectuată prin calcularea riscului relativ (RR) cu intervale de confidență de 95%. Pentru a evalua influența între acești factori în scopul creerii unui model predictiv global am utilizat regresia multivariată logistică.

Pentru a evalua riscul pe termen lung de recurență lezională în funcție de anumiți factori predictivi am realizat curbe Kaplan-Meier corespunzătoare care au fost comparate cu testul Mantel- Cox (Log Rank).

În scopul sintetizării și ilustrării adecvate a rezultatelor obținute am realizat tabele și grafice corespunzătoare.

Pentru toate datele analizate nivelul de semnificație statistică a fost ales pentru o valoare $p < 0.05$.

Studiul I

Corelația factorilor demografici cu rata de persistență/ recurență a leziunilor neoplazice cervicale intraepiteliale după conizație

Obiective

În acest studiu ne-am propus să evaluăm factorii demografici care caracterizează lotul analizat potențial implicați în persistența/ recurența leziunilor neoplazice cervicale intraepitelial după terapia excizională primară. Astfel, identificarea acestora contribuie la optimizarea protocolului de monitorizare post-terapie prin conturarea unui model de risc care să permită o intervenție terapeutică optimă și promptă și totodată să evite supratratamentul.

Material și Metodă

Am efectuat un studiu analitic, observațional, longitudinal, prospectiv de cohortă tip I desfășurat în cadrul Spitalului Clinic de Obstetrică- Ginecologie "Profesor Doctor Panait Sîrbu" în perioada noiembrie 2013- februarie 2016 pe 290 de paciente diagnosticate cu displazie cervicală de grad înalt la care s-a practicat terapie excizională cervicală conservatoare (conizație) în cadrul clinicii noastre.

Toate pacientele au beneficiat de conizație, fie prin electroconizație cu ansa diatermică, fie prin conizație chirurgicală. La momentul internării în clinică, după semnarea fișelor de consimțământ corespunzătoare, pacientelor li s-au completat fișele de observație, iar datele anamnestice pe care le-am urmărit în studiu au fost colectate și ulterior introduse în baza de date a studiului.

În consecință, din datele anamnestice și examinarea clinică ale pacientelor am obținut următorii parametri:

- vârsta (exprimată în ani)
- indicele de masă corporală (definit în text ca IMC, calculat după formula: $IMC = \frac{\text{numărul de kilograme}}{\text{înălțimea}^2}$ (exprimată în metri)
- mediul de rezidență (urban/ rural)
- nivelul de studii (superioare/ medii și inferioare, conform ISCED)
- consumul de tutun (pentru pacientele fumătoare cuantificarea s-a efectuat cu ajutorul parametrului pachete- an calculat după formula: număr de pachete de țigări fumate pe zi înmulțit cu numărul de ani de fumat)
- menopauză instalată
- paritatea (nulipară/ multipară= absența/ prezența a cel puțin unei nașteri)
- prezența a ≥ 4 nașteri, în cazul pacientelor multipare
- tipul nașterii (vaginală/ prin operație cezariană), în cazul pacientelor multipare; nu am efectuat o delimitare între nașterile spontane și cele instrumentale
- vârsta pacientei la momentul primei nașteri (definită în text ca VPN), în cazul pacientelor multipare
- avorturi ≥ 3

- vârsta de debut a vieții sexuale (definită în text ca VDVS) ≤ 16 ani
- intervalul VDVS- VPS ≤ 2 ani
- afirmativ ≥ 5 parteneri sexuali diferiți
- contact sexual neprotejat
- utilizarea contraceptivelor orale combinate pe o perioadă ≥ 5 ani
- prezența unui sindrom de imunosupresie (diagnosticat anterior)
- prezența infecției HIV (diagnosticată anterior).

Protocolul de monitorizare post-terapie și criteriile de definire a leziunilor cervicale reziduale/ recurente utilizate în studiu sunt concordante cu cele menționate anterior. Similar, pentru analiza statistică am utilizat testele specifice pe care le-am prezentat în secțiunea de mai sus; toate variabilele pentru care în analiza univariată am identificat relevanță statistică au fost introduse într-un model de analiză logistică multivariată. Nivelul de semnificație statistică a fost stabilit pentru o valoare $p < 0.05$.

Rezultate

Am redat sintetic parametrii demografici ai pacientelor din lotul de studiu în tabelul de mai jos (Tabel 1.1).

Tabel 1.1. Caracteristicile demografice ale pacientelor din lotul de studiu

Factori	Total (N= 290)
Vârsta	44.113 \pm 10.6067 43.0 [36.0, 54.0]
Vârsta < 40 ani	116 (40%)
IMC (Kg/m2)	26.844 \pm 3.7322 26.7 [24.2, 29.2]
Mediu urban	212/290 (73.1%)
Studii superioare	157/290(54.1%)
Fumătoare	116/290 (40.0%)
Pachete-an	11.22 \pm 4.534 11.0 [8.0, 15.0]
Menopauză	71/290 (24.5%)
Nuliparitate	83/290 (28.6%)
Paritate ≥ 4	30/207 (14.5%)
Naștere spontană	140/207 (67.6%)
Avorturi ≥ 3	116/290 (40.0%)
VDVS ≤ 16 ani	28/290 (9.7%)
VPS	22.13 \pm 3.554 [21.0 [20.0, 25.0]
VPS-VDVS ≤ 2 ani	87/207 (42.02%)
> 5 parteneri	20/290 (6.89%)
Fără prezervativ	151/290 (52.1%)
COC > 5 ani	52/290 (17.9%)
Imunosupresie	9/290 (3.1%)
Infecție HIV	3/290 (1.03%)

După o perioadă medie de urmărire de 24.97 ± 1.11 luni (valoarea mediană de 25 de luni) am înregistrat în lotul de studiu o **rată de de persistență/ recurență** a leziunilor displazice de 30.68% (89/290 de paciente). Pentru a putea realiza o analiză optimă a factorilor potențial implicați în persistența/ recurența CIN după tratament lotul de studiu a fost divizat în două sub-loturi pe care le-am denumit "lotul cu persistență/ recurență CIN", respectiv "lotul fără persistență/ recurență CIN". În consecință, sub-lotul de paciente la care s-au depistat leziuni cervicale displazice persistente/ recurente a fost alcătuit din 89 de paciente, respectiv lotul de paciente fără acest tip de leziuni pe perioada monitorizării alcătuit din 201 de paciente.

În primul rând am urmărit existența unei asociații semnificativ statistice între factorii demografici care caracterizează lotul de studiu și persistența/ recurența CIN după terapia primară excizională cervicală. În acest sens, utilizând testele Mann-Whitney și Fischer exact am comparat cele două sub-loturi în funcție de parametrii demografici definiți anterior și am obținut diferențe semnificative ($p < 0.05$) în ceea ce privește:

- vârsta medie (exprimată în ani)
- indicele de masă corporală mediu (kg/m^2)
- rezidența în mediul urban
- nivelul superior al studiilor (corespunzător ISCED)
- statusul de fumătoare și valoarea medie a consumului de tutun (pachete-an)
- statusul de menopauză
- nuliparitatea
- paritatea ≥ 4
- nașterea spontană, pentru pacientele multipare
- numărul de avorturi ≥ 3
- $\text{VDVS} \leq 16$ ani
- media vârstei la prima sarcină, pentru pacientele multipare
- valoarea indicelui VPS- $\text{VDVS} \leq 2$ ani
- lipsa afirmativă a utilizării contracepției de barieră (prezervativ)
- prezența infecției cu HIV.

Nu am observat nici o diferență statistică între cele două sub-loturi în ceea ce privește utilizarea contracepției orale (pilula contraceptivă) pe o durată afirmativ mai mare decât 5 ani, prezența afirmativă a mai mult de cinci parteneri sexuali de-a lungul vieții și statusul de imunosupresie (raportat ca valoare totală a lotului alcătuit din pacientele cu sindroame de imunosupresie). Pe de altă parte, remarcăm că infecția cu HIV prezintă asociere semnificativă cu riscul de persistență/ recurență lezională dat fiind că toate cele 3 paciente seropozitive au fost ulterior diagnosticate cu CIN persistentă/ recurentă după tratament.

Din lotul analizat am constituit un sub-lot alcătuit din pacientele diagnosticate cu **sindroame de imunosupresie**, respectiv 9/290 de paciente (3.1%), astfel:

- șase paciente (2.06% din total) au prezentat infecție cu HIV, aflându-se în tratament cu agenți antiretrovirali.
- pacientă cu istoric de limfom Hodgkin stadiu II A care a beneficiat de chimioterapie (schemă terapeutică ABVD: doxorubicină, bleomicină, vinblastină și dacarbazină) urmată de radioterapie toracică și aflată pe parcursul studiului în remisiune clinică.³⁰

- pacientă la care s-a practicat mastectomie totală stângă cu evidare limfoganglionară axilară pentru neoplasm mamar care a urmat radiochimioterapie adjuvantă, aflată pe parcursul studiului în perioada de monitorizare post-terapie oncologică.
- pacientă diagnosticată cu psoriazis vulgar aflată sub terapie biologică (cu anticorpi monoclonali umani recombinanți).

Pentru sub-lotul particular alcătuit din cele nouă paciente diagnosticate cu sindroame de imunosupresie am analizat individualizat evoluția patologiei cervicale displazice. Urmărind distribuția parametrilor demografici am observat că nu există diferențe semnificative statistic între aceste paciente și restul pacientelor imunocompetente, din lotul inițial.

Din cele 163 de paciente la care testarea HPV a fost pozitivă (infecție mixtă) la intrarea în studiu, șase paciente (66.7%) au făcut parte din sub-lotul cu imunosupresie, iar restul de 157 de paciente (55.9%) din sub-lotul fără imunosupresie, diferență nesemnificativă statistic ($p=0.73$). Totuși am observat o prevalență mai ridicată a infecției cu tulpina HPV 16 la pacientele cu imunosupresie (5/9 paciente, 55.6%) comparativ cu cele imunocompetente (60/280 paciente, 21.4%) ($p < 0.01$); acest rezultat este regăsit și la momentul celui de-al doilea control postoperator unde 42.9% din pacientele sub-lotului cu imunosupresie au fost pozitive pentru acest genotip viral comparativ cu 9.1% din sub-lotul fără imunosupresie ($p < 0.01$). Diferențele nu se mențin relevante nici în cazul genotipurilor HPV 18 (22.2% vs. 8.2%, $p=0.17$), HPV 53 (22.2% vs. 8.9%, $p=0.2$) și a infecției mixte HPV 16/18 (22.2% vs. 4.3%, $p=0.06$).

La momentul primului control postoperator trei paciente din sub-lotul cu imunosupresie au prezentat persistența HPV (42.9%) și 77 de paciente din sub-lotul fără imunosupresie (29.4%); analizând statistic, am observat că această diferență nu este semnificativă ($p=0.42$). Rezultatele sunt similare și pentru genotipurile analizate: HPV 16 (42.9% vs. 15.3%, $p=0.08$), HPV 18 (14.3% vs. 4.2%, $p=0.27$), HPV 53 (0% vs. 1.9%, $p=1$) și infecția mixtă HPV 16/18 (14.3% vs. 1.5%, $p=0.12$).

În cazul celui de-al doilea control procentul de paciente cu imunosupresie și persistența infecției HPV s-a menținut constant (42.9%), în vreme ce doar 17% din pacientele imunocompetente au prezentat infecție HPV. Diferențele nu au fost semnificative pentru tulpinile HPV 18 (14.3% vs. 2.4%, $p=0.17$), HPV 53 (0% vs. 1.2%, $p=1$) și respectiv infecția mixtă HPV 16/18 (14.3% vs. 0.8%, $p=0.07$).

Diferențele de distribuție a punctajelor ICR (Indicele Colposcopic Reid) între cele două sub-loturi au fost semnificative statistic doar pentru valorile de 7 și respectiv 8 puncte (33.3% vs. 11.4% și 22.2% vs. 2.5%, $p < 0.01$).

De asemenea, am observat că un procent mai ridicat din pacientele cu imunosupresie au prezentat leziuni displazice în piesele obținute prin curetaj endocervical (66.7% vs. 27%, $p < 0.01$); contrat, nu am obținut o diferență semnificativă în ceea ce privește gradul afectării glandulare (44.4% vs. 35.2%, $p=0.72$). Marginile de rezecție au fost pozitive pentru o treime din pacientele sub-lotului cu imunosupresie (3/9 paciente, 33.3%) și toate au conținut leziuni HSIL, în vreme ce la pacientele imunocompetente procentul a fost de 26 și respectiv 64.4 pentru margini de tip HSIL.

Examinarea citologică cervicală/ din bontul vaginal (la pacientele care au beneficiat de histerectomie totală) efectuată la momentul celor două controale de monitorizare post-terapie chirurgicală nu a prezentat diferențe semnificative statistic raportat la statusul de imunocompetență.

La pacientele diagnosticate cu sindroame de imunosupresie rata de reintervenții a fost de 55.6% (5/9 paciente) cu practicarea acestora la o medie de 12 ± 2.91 săptămâni; la trei paciente (60%) s-a practicat conizație, iar la două paciente (40%) s-a practicat histerectomie totală simplă. Perioada medie de urmărire pentru acest sub-lot a fost de 25.38 ± 1.58 luni. Comparând aceste variabile cu valorile înregistrate pentru sub-lotul pacientelor imunocompetente nu am obținut diferențe semnificative statistic ($p > 0.01$).

Nu am obținut diferențe semnificative statistic între cele două sub-loturi pentru categoriile de diagnostic histologic ($p=0.37$).

Sintetizând, pentru a defini în mod obiectiv relația dintre factorii demografici care caracterizează lotul de studiu și riscul de leziuni cervicale persistente/ recurente după terapia excizională primară am utilizat analiza de regresie logistică univariată. În urma acesteia am obținut că vârsta pacientelor se asociază în mod semnificativ statistic cu riscul de persistență/ recurență; mai exact, acest risc crește de 1.08 ori cu fiecare an în plus la valoarea vârstei exprimată în ani ($OR= 1.088$, $p < 0.01$). Totodată, luând în calcul vârsta mai mare de 40 de ani observăm ca această asociere statistică se menține, chiar valoarea riscului relativ fiind mai ridicată ($OR= 2.902$, $p < 0.01$). Rezultate similare în sensul forței de asociere dintre cei doi parametri am obținut și pentru valoarea greutății corporale exprimată cu ajutorul indicelui de masă corporală (IMC, $OR= 1.129$, $p < 0.01$), statusul de fumătoare ($OR= 3.71$, $p < 0.01$), prezența menopauzei instalate ($OR= 6.3$, $p < 0.01$). În ceea ce privește mediul de rezidență a pacientelor analiza statistică a demonstrat că mediul urban reprezintă un "factor de protecție" ($OR= 0.571$, $p < 0.01$), similar urmării studiilor superioare ($OR= 0.221$, $p < 0.01$).

Raportat la factorii care definesc istoricul obstetrical am observat în urma analizei de regresie logistică univariată relevanță statistică pentru statusul de nulipară ($OR= 0.483$, $p < 0.01$), numărul ridicat de avorturi ($OR= 4.96$, $p < 0.01$), paritatea mai mare decât 4 ($OR= 5.76$, $p < 0.01$), nașterea pe cale vaginală ($OR= 6.21$, $p < 0.01$); cu cât vârsta la momentul primei sarcini este mai mică cu atât riscul este mai redus, astfel încât acest parametru funcționează ca un factor protectiv ($OR= 0.8$, $p < 0.01$). Dintre elementele care definesc comportamentul sexual la risc pe care le-am utilizat în studiu, doar unul singur a fost identificat drept factor de risc pentru depistarea bolii cervicale reziduale/ persistente postoperator: neutilizarea contracepției de barieră (prezervativul masculin, $OR= 11.01$, $p < 0.01$).

Pentru a putea evalua care variabile pot fi considerate independent predictive pentru persistența/ recurența leziunilor displazice cervicale am introdus factorii cu relevanță statistică într-un model de analiză de regresie logistică multivariată. Astfel, am obținut că vârsta, statusul de fumătoare reprezintă factori independenți de risc pentru boala displazică cervicală reziduală/ recurentă ($OR= 1.08$, $OR= 3.96$, $p < 0.01$). Valoarea vârstei la momentul primei sarcini este factor protectiv, mai exact la creșterea acesteia se înregistrează o ușoară scădere a riscului ($OR=0.87$, $p < 0.01$).

Discuții

Vârsta medie a pacientelor diagnosticate cu leziuni displazice reziduale/ recurente a fost semnificativ statistic mai ridicată decât în cazul pacientelor la care acest tip de leziuni nu a fost depistat pe parcursul studiului. Rezultate similare au fost prezentate într-un studiu caz-control publicat de Silva și colaboratorii,²² spre deosebire de Baser care a observat că vârsta este invers corelată cu persistența infecției cu HPV.²³ Impactul pe care vârsta îl are asupra riscului de leziuni persistente/ recurente cervicale poate fi reflectat prin modularea sistemului imun,²⁴ selecția pozitivă de-a lungul timpului către persistența tulpinilor virale cu risc oncogenic ridicat²⁵ sau tendința pacientelor în climax de a prezenta joncțiunea scuamocilindrică ascensionată la nivelul canalului endocervical, limitând astfel excizia completă a leziunilor CIN 2/3.

Rezidența în mediul urban și urmarea studiilor superioare au fost identificați drept factori ”de protecție”; acest aspect traduce carențele majore în nivelul de informație referitoare la screeningul și opțiunile de tratament al leziunilor neoplazice cervicale pre-invazive în țara noastră și în mod special în zonele rurale; totodată, în aceste regiuni accesul la serviciile de sănătate este limitat și distribuit deficitar, explicând astfel ratele extrem de ridicate pe care cancerul cervical invaziv le prezintă în continuare în România.⁹ Rezultatele pe care le-am obținut în acest sens subliniază necesitatea ajustării și redefinirii politicilor de sănătate privind prevenția neoplasmului de col uterin și creșterea adresabilității și accesibilității persoanelor din zonele rurale la acestea.

În studiul pe care l-am efectuat, pacientele cu leziuni persistente/ recurente cervicale au prezentat o probabilitate de 3.71 de ori mai mare de a fi fumătoare; rezultatul nu este surprinzător având în vedere că fumatul este descris de multiple studii epidemiologice drept factor de risc pentru cancerul cervical invaziv, dar și pentru dezvoltarea CIN 3.²⁶

Utilizarea contraceptivelor orale pe o perioadă mai lungă de 5 ani nu reprezintă un factor de risc pentru boala reziduală/ recurentă în studiul prezent (OR= 0.89, p=0.75) contrar neutilizării contracepției de barieră (OR= 11.01, p< 0.01). Având în vedere că relația dintre utilizarea COC și riscul crescut de neoplazie cervicală este de tip linier doză- răspuns și reversibilă la 5-10 ani de la oprirea administrării,²⁷ aceasta ar putea fi o potențială explicație a rezultatelor pe care le-am obținut întrucât nu am delimitat exclusiv perioada de desfășurare a studiului administrarea de COC.

Comparând ratele de persistență/ recurență între sub-loturile cu infecție HIV pozitivă și respectiv negativă am observat că diferența este semnificativ statistică, toate cele 3 paciente seropozitive înregistrând persistență lezională după terapia primară; similar, într-un studiu recent rata reziduală a CIN 2/3 a fost de 63.6% în rândul pacientelor HIV-pozitive comparativ cu 31.8% la pacientele HIV- negative (OR=4.7, CI=1.9-11.5, p< 0.001).²⁸ În plus, în rândul pacientelor cu sindroame de imunopresie am evidențiat persistența infecției HPV 16 la momentul celui de-al doilea control, pozitivitatea curetajului endocervical și prezența leziunilor cervicale cu aspect colposcopic sever (ICR > 6 puncte). Totodată și rata marginilor de rezecție pozitive (conținând displazie de grad înalt, HSIL) a fost semnificativ mai ridicată la pacientele seropozitive (p< 0.01). Pe lângă statusul marginilor de rezecție, studiul lui Reimers și colaboratorii menționează electroconizația și titrul crescut al ARN-ului viral ca factori predictivi pentru recurență.²⁹ În studiul de față nu am analizat influența statusului

CD4, a viremiei sau a utilizării terapiei antiretrovirale asupra ratei de persistență/ recurență lezională. De asemenea, limitarea pe care o prezintă lucrarea în ceea ce privește acest parametru este eșantionul redus al pacientelor și faptul că, deși nu am identificat diferențe relevante statistic între sub-loturile cu și respectiv fără imunosupresie, nu putem cuantifica în mod obiectiv interacțiunea dintre vârstă, fumat, comportament sexual, istoric obstetrical și imunosupresie.

În particular, în cazul pacientei cunoscută în antecedente cu limfom Hodgkin la care s-au practicat două intervenții excizionale conservatoare cervicale și ulterior histerectomie totală pe cale abdominală, evoluția pacientei s-a menținut favorabilă, examenul citologic din bolta vaginală fiind negativ. Pacienta se află în continuare în urmărire în clinica noastră, iar patologia oncologică hematologică se menține în remisiune.³⁰

Deși putem afirma că tratamentul inițial pentru CIN 2/3 este mai puțin eficient în eradicarea leziunilor cervicale la pacientele imunodeprimite comparativ cu cele imunocompetente, sunt necesare studii suplimentare pe populații extinse pentru a confirma și consolida rezultatele pe care le-am obținut la aceste categorii de paciente la risc.

Concluzii

Concluzionând, în studiul efectuat am observat că cei mai importanți factori demografici predictivi pentru riscul de leziuni displazice cervicale persistente/ recurente după terapia excizională primară sunt vârsta avansată, fumatul și vârsta la momentul primei sarcini; acești trei factori impun, prin identificarea pacientelor la risc, optimizarea protocolului de urmărire post-terapie și un management individualizat. În plus, pacientele diagnosticate cu sindroame de imunosupresie (și în special cu infecție HIV) reprezintă o categorie aparte care necesită atenție suplimentară. În consecință, este de subliniat faptul că în regiunile în care accesul la testele rafinate de biologie moleculară (și chiar examinarea citologică cervicală) este dificil, conturarea unui model predictiv bazat pe factorii anamnestici de risc devine de o importanță crucială pentru a putea preveni dezvoltarea leziunilor neoplazice cervicale invazive.

Studiul II

Dinamica infecției cervicale cu papilomavirus uman și a examenului citologic cervical la pacientele tratate conservator pentru neoplazie cervicală intraepitelială de grad înalt.

Obiective

Scopurile acestui studiu au fost de a evalua dinamica infecției cervicale (persistența și reparația) cu HPV înainte și după efectuarea conizației la pacientele diagnosticate cu neoplazie cervicală intraepitelială de grad înalt și identificarea posibilibor factori de risc implicați în comportamentul infecției virale; de asemenea, am insistat asupra definirii tipurilor virale prezente în lotul de studiu. În plus, am urmărit trasarea potențialului impact pe care tipurile specifice de HPV l-ar putea avea asupra aspectului colposcopic lezional.

Totodată, am analizat și evoluția examenului citologic cervical drept componentă de urmărire a pacientelor pentru a putea prezenta pentru lotul de studiu impactul pe care co-testarea îl are asupra predicției ratei de persistență/ recurență lezională post-terapie primară.

Material și Metodă

Lotul de studiu a fost alcătuit din 290 de paciente diagnosticate cu displazie cervicală de grad înalt la care s-a practicat terapie excizională cervicală conservatoare (conizație), fie prin electroconizație cu ansa diatermică (238/290, 82.06%), fie prin conizație chirurgicală (52/290 de paciente, 17.9%). Examinarea colposcopică s-a efectuat la toate pacientele, iar aspectul colposcopic al leziunilor a fost obiectivat prin intermediul Indicelui Colposcopic Reid (ICR).

De asemenea, pentru întreg lotul de studiu s-a efectuat genotipare HPV înaintea intervenției chirurgicale și în cadrul a cel puțin unuia dintre controalele de urmărire (la 12, respectiv 24 de luni după tratament); testarea a fost de tip calitativ, rezultatul precizând tipul/ tipurile specifice ale infecției virale. Nu am efectuat și testare cantitativă pentru a evalua nivelul infecției virale. Am luat în calcul la pozitivitatea infecției virale doar prezența tipurilor cu risc oncogenic ridicat, conform recomandărilor ghidurilor actualizate ASCCP.²

Analiza statistică a urmărit definirea sensibilității, specificității, a valorilor predictive negative și pozitive pentru ambele componente ale co-testării, dar și identificarea variabilelor corelate cu rezultatele acestora. Ulterior, variabilele semnificative în analiza logistică univariată au fost introduse în modelul regresiei logistice multivariate pentru a identifica valoarea independentă de predicție a acestora.

Nivelul de semnificație statistică a fost stabilit pentru o valoare $p < 0.05$.

Rezultate

Rezultatele testării genotipice a **infecției cervicale cu HPV** la intrarea în studiu au arătat prevalența infecției pentru lotul de studiu de 99.65% (289/290 de paciente), pentru o singură pacientă din lot infecția cu HPV fiind absentă la nivelul colului uterin; mai mult decât jumătate dintre pacientele HPV pozitive (56.4%) au prezentat infecție cu mai mult decât o tulpină HPV (infecție mixtă).

Analizând detaliat distribuția în lot a tulpinilor HPV cu risc oncogenic ridicat am obținut următoarele rezultate: cea mai ridicată prevalență a prezentat-o infecția cu HPV 16 (65/289 de paciente, 22.5%), urmată de infecția cu HPV 18 (25/289 de paciente, 8.7%) și infecția cu HPV 53 (27/289 de paciente, 9.3%). De asemenea, 14 paciente (4.8%) au prezentat infecție mixtă cu tulpinile HPV 16 și 18

Astfel, am urmărit evidențierea corelațiilor între infecția cu HPV prezentă la momentul intrării pacientelor în studiu și respectiv la momentele celor două controale post-conizație primară (denumite în text "control 1"= controlul de la 12 luni postoperator și "control 2"= controlul de la 24 de luni postoperator) și riscul de persistență/ recurență. Menționăm că la momentul primului control testarea genotipică pentru infecția cervicală HPV s-a efectuat pentru 269 de paciente, întrucât au fost excluse cazurile care au beneficiat de histerectomie (21 cazuri) efectuate în primele 12 luni de la conizația inițială.

Din cele 269 de paciente care au beneficiat de genotipare HPV rezultatul a fost pozitiv la 80 de paciente (29.73%); dintre acestea 54 (78.3%) au prezentat persistența/ recurența leziunilor displazice, iar 26 (13%) s-au încadrat în sub-lotul fără persistență/ recurență. Prezența infecției HPV la momentul primului control se corelează statistic cu riscul de persistență/ recurență lezională ($p < 0.01$). Analizând detaliat această relație în funcție de distribuția tipurilor virale remarcăm că cel mai frecvent persistentă tulpină a fost HPV 16 (43/269 de paciente, 15.98%), urmată de HPV 18 (12/269 de paciente, 4.46%) și de tulpina HPV 53 și infecția mixtă HPV 16/18 cu distribuții egale în lot (5/269 de paciente, 1.85%). Diferențe semnificativ statistice între sub-loturile cu persistență/ recurență lezională și respectiv absența acesteia s-au obținut pentru genotipurile HPV 16, 18 și infecția mixtă HPV 16/18 ($p < 0.01$).

În ceea ce privește distribuția tulpinilor HPV comparativ între cele trei momente ale analizei putem remarca faptul că în toate cazurile s-a înregistrat o reducere generală a prevalenței infecției cervicale. Analizând distribuția tipurilor HPV detaliat pentru sub-lotul cu persistență/ recurență remarcăm că similar distribuției generale pentru întregul lor tulpina HPV 16 prezintă cea mai ridicată prevalență (60.7%), iar declinul valorilor este mult mai lent decât în cazul celorlalte tulpini. În plus, în cazul tulpinii HPV 53 la momentul celui de-al doilea control observăm negativarea acesteia. Analizând distribuția tipurilor HPV în sub-lotul fără recurență/ persistență observăm că tulpina HPV 53 este în acest caz cea mai frecventă (7.46%) și înregistrează la momentul primului control o scădere a prevalenței până la 1%, pentru ca la al doilea control prevalența să fie 1.5%. Tulpina HPV 16 este a doua ca frecvență în acest sub-lot și înregistrează o scădere a prevalenței de la 5.47% la 2%, iar tulpina HPV 18 se negativază la al doilea control. Infecția mixtă HPV 16/18 a fost negativă în lotul fără recurență/prevalență.

Am obținut corelații semnificativ statistice între prevalența mai ridicată a infecției HPV 16 la pacientele cu vârsta de peste 40 de ani față de cele sub 40 de ani (26.6% vs. 16.4%, $p < 0.01$) la momentul inițial, dar și la primul control (22% vs. 9%, $p < 0.01$); rezultate similare am înregistrat și pentru infecția cu HPV 18 la momentul intrării în studiu (11.6% vs. 4.3%, $p < 0.01$), dar nu și pentru primul sau al doilea control. Nu am observat nici o asociere semnificativă între prezența infecției cu HPV 53 sau 16/18 și nici a unei leziuni cu ICR mai mare decât 6 și vârsta pacientelor ($p > 0.01$).

Mergând mai departe, am translatat aceste asocieri pentru sub-lotul cu persistență/recurență și am observat că nu există nici o diferență semnificativă statistic între vârsta mai mică și respectiv mai mare de 40 de ani și infecția cu HPV.

Persistența infecției HPV la momentul primului control prezintă specificitate ridicată, iar valoarea predictivă negativă ridicată (92.06%) este un indicator al faptului că un rezultat negativ al testării poate exclude persistența/recurența lezională. Pentru cel de-al doilea control, rezultatele sunt similare și observăm că genotiparea HPV a reprezentat pentru lotul de studiu un factor predictiv relevant al riscului de leziuni reziduale/recurente cervicale.

Am observat că riscul de persistență a infecției HPV și în particular a tulpinii HPV 16 este mai ridicat la pacientele cu vârsta mai mare de 40 de ani, la pacientele fumătoare și la cele care nu utilizează contracepție de barieră. În plus, pacientele la care leziunea cervicală inițială a fost de grad înalt ca aspect colposcopic (ICR > 6) au prezentat rate mai ridicate de persistență a tulpinilor virale HPV 16 și HPV 18 la primul control.

Dintre parametrii anatomo-patologici am identificat relevanță statistică pentru asocierea persistenței infecției HPV și prezența marginilor de rezecție pozitive (genotipurile HPV 16 (42.4%), HPV 18 (12.1%) și infecția mixtă HPV 16/18 (6.1%); pentru tipul de leziune histologică a piesei de conizație primară această corelație nu a fost semnificativă ($p = 0.10$). Timpul mediu de urmărire a fost semnificativ mai lung pentru pacientele la care s-a identificat infecția HPV persistentă la primul control (25.68 ± 1.13 luni vs. 24.6 ± 0.84 luni, $p < 0.01$), iar această diferență s-a menținut pentru tulpinile HPV 16 (25.8 ± 1.14 luni vs. 24.76 ± 0.95 luni, $p < 0.01$) și HPV 18 (26 ± 0.89 luni vs. 24.87 ± 1.03 luni, $p < 0.01$).

Rezultatele examinării colposcopice efectuate tuturor pacientelor înainte practicării conizației au fost redade prin intermediul Indicelui Colposcopic Reid (ICR); la toate pacientele s-au înregistrat valori ale ICR de peste 2 puncte. Corelând valoarea ICR mai mică și respectiv mai mare decât 6 cu statusul infecției HPV la momentul intrării în studiu am observat că leziunile asociate cu prezența HPV 16 și/sau HPV 18 au prezentat o valoare a ICR mai ridicată; corelând valoarea ICR mai mică și respectiv mai mare decât 6 cu statusul infecției HPV la momentul intrării în studiu am observat că leziunile asociate cu prezența HPV 16 și/sau HPV 18 au prezentat o valoare a ICR mai ridicată. Dintre asocierile descrise anterior, la momentul efectuării primului control s-a menținut diferența semnificativă pentru corelația dintre infecția cu HPV 16 și impresia colposcopică ($p = 0.03$).

Am observat că severitatea rezultatului citologic obținut la controalele postoperatorii se corelează statistic cu riscul de a prezenta o leziune cervicală persistentă/recurentă. Pentru ambele determinări citologice am obținut valori foarte înalte de specificitate (99%, respectiv 99.5%) ceea ce subliniază acuratețea testărilor ca metode de urmărire a pacientelor după tratament.

Valorile predictive pozitive ale testărilor în ambele momente ale monitorizării au fost ridicate (97.4%, respectiv 99.5%) subliniind că un rezultat pozitiv se corelează direct cu riscul de persistență/recurență. Totuși, rezultatul negativ al testării citologice cervicale la al doilea control nu poate exclude leziunile displazice decât în proporție de 69.31% din cazuri, spre deosebire de primul control unde valoarea predictivă negativă pe care am obținut-o a fost de 93.42%.

Sintetizând, pentru infecția cervicală cu tulpini HPV cu risc oncogenic ridicat am observat că pozitivitatea acestora la momentul primului control post-conizație se asociază cu

un risc mai ridicat de a depista boala cervicală displazică persistentă/ recurentă mai devreme în cursul programului de monitorizare. Analizând statistic cu ajutorul curbelor de supraviețuire Kaplan- Meier putem concluziona că media intervalului temporal liber de leziuni displazice este semnificativ mai mare la pacientele la care testarea genotipică HPV a fost negativă la primul control după intervenția de rezecție cervicală (27.17 luni comparativ cu 26.30 luni, $p < 0.01$). Aceeași relație se menține și în cazul infecției cervicale persistente cu HPV la momentul celui de-al doilea control postoperator.

Analiza de regresie logistică univariată ne-a evidențiat că prezența infecției cervicale cu tulpini oncogene HPV la momentul intrării în studiu se corelează cu un risc de 6.8 ori mai ridicat pentru leziuni persistente/ recurente comparativ cu pacientele HPV negative (OR= 6.87, $p < 0.01$). În plus, analiza detaliată în funcție de tulpinile virale studiate ne-a evidențiat că această relație se menține valabilă pentru HPV 16 (OR= 26.5, $p < 0.01$) și HPV 18 (OR= 34.5, $p < 0.01$), dar nu și pentru HPV 53 (OR= 1.92, $p = 0.11$). Mergând mai departe, am introdus acești factori pentru care am obținut relevanță statistică în modelul de analiză de regresie multivariată logistică utilizând regresia hazard- proporțională Cox. Astfel, am obținut că prezența infecției virale cervicale cu tulpinile HPV 16 și 18 reprezintă factor independent de risc pentru boala displazică cervicală reziduală/ recurentă (OR= 4.87 și respectiv, OR= 13.06, $p < 0.01$).

Discuții

Analiza statistică a relevat că infecția persistentă cu HPV reprezintă un factor de risc semnificativ corelat cu riscul de persistentă/ recurență lezională după tratamentul inițial, rezultate convergente cu cele publicate de alte studii din literatură. Astfel, un studiu recent norvegian a observat că din cele 49 de paciente cu CIN2+ recurent 47 de paciente (95.9%) au prezentat infecție persistentă cu HPV, valoare mai ridicată decât cea obținută în studiul prezent (78.3%);²⁴ de asemenea, peste 75% din cazurile cu recurență CIN2+ au fost asociate cu HPV 16/18, similar studiului nostru. Spre deosebire de studiul lui Vintermyr, în lucrarea de față peste jumătate dintre paciente au prezentat infecție mixtă HPV (56.4%) antagonic opiniei conform căreia doar o singură tulpină HPV este în fapt responsabilă pentru dezvoltarea CIN2+.³¹

În plus, într-un studiu retrospectiv care a urmărit evoluția a 77 de paciente tratate chirurgical pentru displazie cervicală de grad înalt infecția preoperatorie cu HPV 16 a fost singurul factor independent predictiv pentru persistența infecției HPV;³² similar, în studiul prezentat cea mai frecventă tulpină, totodată asociată și cu cel mai ridicat procent de persistentă și cu riscul de boală displazică reziduală/ recurentă a fost HPV 16. Contrar, în studiul lui Gosvig și colaboratorii, după excizia zonei de transformare prin conizație, rata de persistentă pentru HPV 16 a fost mai redusă comparativ cu alte tulpini carcinogenice.³³ Tulpina HPV 16 prezintă cel mai ridicat potențial oncogenic, potențial fiind responsabilă pentru leziuni mai extinse la nivel cervical și, deci, o piesă de conizație mai mare care scade probabilitatea detectării repetate a HPV.

Un detaliu interesant în ceea ce privește ratele de persistentă a infecției HPV (evidențiate și în această lucrare) este legat de observația susținută de mai multe studii conform căreia tratamentul conservator poate eradica CIN, dar nu și infecția HPV; explicațiile rezidă în localizarea multicentrică a infecției HPV.³⁴

Analizând relația dintre infecția cu HPV și severitatea leziunilor evaluate colposcopic (prin intermediul ICR) am observat că leziunile cervicale asociate cu prezența HPV 16 și/sau HPV 18 au prezentat o valoare ICR mai ridicată. Acest rezultat este concordant cu cel raportat într-un studiu recent.³⁵ Această observație poate prezenta relevanță clinică, în contextul pacientelor la care leziunile induse de HPV 16 ar putea fi teoretic mai accesibile evaluării colposcopice, a diagnosticului și a biopsiilor țintite; pe de altă parte, în același context, putem considera subdiagnosticarea leziunilor cervicale induse de alte tulpini decât HPV 16. Totodată, nu putem neglija impactul pe care vaccinarea anti-HPV îl va putea avea asupra acurateței examinării colposcopice dată fiind reducerea prevalenței infecției cu HPV 16 ca proporție din totalitatea tulpinilor virale cu risc oncogenic ridicat.

Valoarea clinică a determinării încărcăturii virale HPV rămâne un subiect de controversă în literatură; unele studii sunt partizane ideii că nivelul viremiei se corelează cu riscul de persistență după conizație, cu o creștere a riscului cu 36% în cazul dublării viremiei sau cu valoarea minimă pre-conizație de 100 RLU (unități relative de lumină)/ control pozitive^{33,36} în vreme ce în alte studii această asociație nu a fost demonstrată.³⁷ În studiul de față, acest parametru nu a fost analizat întrucât genotiparea HPV efectuată a fost de tip calitativ.

În ceea ce privește testarea citologică cervicală efectuată în studiu, am observat că valorile predictive pozitive ale testărilor au fost ridicate în ambele momente ale controlului post-terapie, însă valoarea predictivă negativă a celui de-al doilea control a fost mai scăzută comparativ cu cea pentru primul control. În plus, un studiu a raportat că un rezultat citologic normal obținut la momentul controlului nu este un indicator al eliminării infecției HPV.²⁴ Un alt studiu efectuat la Kaiser Permanente Northern California a analizat eficacitatea celor două componente ale co-testării și au raportat ca riscul la 5 ani de leziuni CIN2+ recurente în cazul unui rezultat negativ al co-testării (2.4%) a fost mai redus decât în cazul unui test HPV negativ (3.7%, p=0.3) sau a unui rezultat Pap negativ (4.2%, p=0.1); pentru două rezultate negative ale co-testării riscul la 5 ani de CIN2+ a fost de 1.5%, valoare apropiată de 0.68% reprezentând riscul în cazul unui rezultat citologic negativ în cadrul programului de screening de rutină.³⁸ În acest sens, în ciuda limitărilor pe care în continuare le prezintă programele de monitorizare post-terapie în țara noastră, considerăm optimă utilizarea co-testării cu scopul depistării leziunilor cervicale recurente și permiterii abordării terapeutice prompte.

Concluzii

În studiul de față am observat că prezența infecției virale cu HPV (și în mod particular cu tulpinile oncogenice HPV 16 și 18) pre-conizație reprezintă un factor independent de risc pentru persistența/ recurența lezională după tratament, iar cel mai frecvent tip viral identificat în lotul de studiu a fost reprezentant de HPV 16 care se asociază cu leziuni cu aspect colposcopic de gravitate și prezintă un risc ridicat de persistență post-conizație. În acest sens, genotiparea virală permite identificarea categoriilor de paciente aflate la risc și care necesită astfel un protocol de monitorizare atentă cu depistarea precoce a leziunilor recurente și adresarea terapeutică adecvată, în condițiile ratelor alarmant de scăzute ale vaccinării anti-HPV. Totodată, co-testarea reprezintă actualmente cea mai valoroasă modalitate de urmărire post-terapie care necesită o implementare rapidă și larg distribuită la nivel național.

Studiul III

Contribuția factorilor anatomo- patologici ai piesei de conizație și a aspectului colposcopic (obiectivat prin Indicele Colposcopic Reid) la predicția bolii persistente/ recurente cervicale.

Obiective

În acest studiu ne-am propus să evaluăm relația dintre factorii anatomo- patologici care definesc piesa de conizație practică la pacientele diagnosticate (citologic/ histologic) cu displazie cervicală de grad înalt (leziune reziduală, statusul marginilor de rezecție, prezența artefactelor electrice, afectarea glandelor endocervicale, volumul conului excizat, curetajul endocervical) și rata de persistență/ recurență lezională pentru lotul de studiu. De asemenea, am analizat și interacțiunea dintre acești factori și statusul infecției cervicale cu HPV, aspectul colposcopic lezional și factorii demografici care caracterizează lotul de studiu.

Ne-am propus să evaluăm totodată și corelația dintre aspectul colposcopic al leziunilor cervicale (obiectivate prin intermediul Indicelui Colposcopic Reid, ICR) și factorii care definesc lotul de analiză și să stabilim rolul examenului colposcopic ca potențial factor predictiv pentru boala cervicală displazică reziduală/ recurentă.

Material și Metode

Din punct de vedere epidemiologic, modelul studiului efectuat a fost analitic, observațional, longitudinal, prospectiv de cohortă tip I desfășurat în cadrul Spitalului Clinic de Obstetrică- Ginecologie "Profesor Doctor Panait Sîrbu" în perioada noiembrie 2013- februarie 2016. Lotul de studiu a fost alcătuit din 290 de paciente diagnosticate cu displazie cervicală de grad înalt la care s-a practicat ca terapie excizională cervicală conservatoare primară conizația.

Factorii pe care i-am înregistrat și utilizat pentru lotul de studiu includ: statusul marginilor de rezecție (denumite "pozitive" dacă leziunea cervicală ajunge până la ≤ 1 mm de margine sau este prezentă franc la nivelul acestora; în plus, marginile pozitive au fost clasificate ca fiind "de grad scăzut" (LSIL, low squamous intraepithelial lesion), respectiv "de grad înalt" (HSIL, high grade squamous intraepithelial lesion) sau negative, în condițiile absenței leziunilor displazice. De asemenea, pentru piesele rezultate din electroconizație am analizat prezența artefactelor electrice, iar pentru cele rezultate din conizație chirurgicală am utilizat ca parametri dimensiunile conului excizat și prezența afectării glandelor endocervicale.

Examinarea colposcopică s-a efectuat la toate pacientele înaintea practicării intervenției chirurgicale, iar aspectul colposcopic al leziunilor a fost obiectivat prin intermediul Indicelui Colposcopic Reid (ICR).

Atât pentru participarea la studiu, cât și pentru examinarea colposcopică, intervenția/ intervențiile chirurgicale, anestezie, comunicarea datelor medicale, păstrarea și utilizarea pieselor anatomo-patologice prelevate și analize în clinica noastră toate pacientele au semnat fișe de consimțământ informat.

Analiza statistică a inclus evaluarea relevanței asocierii dintre factorii descriși anterior și rata de persistență/ recurență lezională înregistrată pentru lotul de studiu utilizând regresia logică univariată și multivariată. Pentru a estima prognosticul pe termen lung pentru recurență lezională în funcție de factorii anatomo-patologici și rezultatul ICR am descris curbe de supraviețuire Kaplan-Meier. Nivelul de semnificație statistică a fost stabilit pentru toate datele analizate la o valoare $p < 0.05$.

Rezultate

În urma examinării anatomo-patologice a pieselor obținute după conizație am analizat o serie de **parametrii histologici**. Astfel, 26.2% din cazuri (76/290) au prezentat **marginii de rezeecție pozitive**; dintre acestea peste jumătate (50/76, 65.8%) au fost încadrate ca margini HSIL), restul fiind leziuni de grad scăzut (marginii LSIL). În ceea ce privește localizarea displaziei la nivelul marginilor pozitive, în cea mai mare proporție s-a înregistrat afectarea marginilor exocervicale (50/76 din cazuri, 65.8%), cele endocervicale fiind implicate în 10.5 % din cazuri (8/76), iar ambele tipuri de margini în 23.7% din cazuri (18/76). Am analizat posibilele corelații dintre factorii demografici care caracterizează lotul de studiu și pozitivitatea marginilor de rezeecție după prima conizație. Astfel, am obținut asociere statistică pentru vârstă (51.26 ± 11.53 ani vs. 41.57 ± 9.08 ani, $p < 0.01$), indicele de masă corporală (28.8 ± 3.59 kg/m² vs. 26.14 ± 3.53 kg/m², $p < 0.01$), statusul de fumătoare (61.8% vs. 32.8%, $p < 0.01$) ca și cantitatea de tutun consumată (13.15 ± 4.02 pachete/an vs. 9.9 ± 4.4 pachete/an, $p < 0.01$).

Din cele 9 paciente diagnosticate cu sindroame de imunosupresie 3 paciente au prezentat margini de rezeecție pozitive după prima conizație (3.9% din sub-lotul cu margini pozitive) și 6 paciente (2.8% din sub-lotul cu margini negative) au prezentat margini de rezeecție negative, diferență nesemnificativă statistic ($p=0.7$). Analizând mai departe pentru pacientele cu serologie HIV pozitivă am observat că toate pacientele din lot au prezentat margini pozitive, ceea ce susține rolul infecției HIV ca factor de risc pentru persistența leziunilor displazice cervicale în marginile piesei de rezeecție ($p < 0.01$).

Căutând să identificăm dacă între infecție cervicală cu HPV și prezența marginilor pozitive de rezeecție există o conexiune, am observat că 80.3% din pacientele aflate în sub-lotul cu margini pozitive, respectiv 47.88% din sub-lotul cu margini negative au prezentat testul HPV pozitiv la momentul intrării în studiu ($p < 0.01$). În detaliu, această corelație este valabilă pentru genotipul HPV 16 (51.3% vs. 12.2%, $p < 0.01$), HPV 18 (22.4% vs. 3.8%, $p < 0.01$) și infecțion mixtă HPV 16/18 (11.8% vs. 2.3%, $p = 0.001$), dar nu și pentru HPV 53 (7.9% vs. 9.9%, $p = 0.81$). La momentul primului control rezultatele sunt asemănătoare cu cele menționate anterior, astfel că persistența infecției cervicale cu HPV a fost mai ridicată în rândul pacientelor care au prezentat margini pozitive la prima conizație (60.6% din pacientele sub-lotului cu margini pozitive comparativ cu 19.7% din pacientele sub-lotului cu margini negative, $p < 0.01$). O distribuție similară am obținut și pentru genotipurile HPV: asocierea a fost semnificativă pentru tipurile HPV 16 (42.4% vs. 7.4%, $p < 0.01$), HPV 18 (12.1% vs. 2%, $p < 0.01$) și fără semnificație statistică pentru HPV 53 (1.5% vs. 2%, $p = 1$) și respectiv infecțion mixtă HPV 16/18 (6.1% vs. 0.5%, $p = 0.01$). În plus, inclusiv pentru cel de-al doilea control efectuat la 24 de luni postoperator rezultatele au fost similare: pozitivitatea infecției HPV se corelează cu pozitivitatea marginilor de rezeecție (36.5% vs. 11.7%, $p < 0.01$) și mai

ales pentru genotipurile HPV 16 (30.2% vs. 3.6%, $p < 0.01$), HPV 18 (7.9% vs. 1%, $p < 0.01$) și, de această dată și pentru infecționare mixtă HPV 16/18 (4.8% vs. 0%, $p < 0.01$). Din nou, pentru tulpina HPV 53 nu s-a identificat nici o asocieră statistic relevantă (0% vs. 1.5%, $p=1$).

De asemenea, am observat că leziunile de grad intermediar (3-5 puncte) sunt predictive pentru margini de rezecție negative; echivalent, leziunile de grad colposcopic ridicat (6-8 puncte) asociază un risc semnificativ mai ridicat pentru ca marginile chirurgicale ale piesei de conizație să conțină leziuni displazice ($p < 0.01$).

Din sub-lotul pacientelor cu margini negative un procent semnificativ mai ridicat a prezentat citologie normală atât la primul, cât și la al doilea control comparativ cu pacientele din sub-lotul cu margini pozitive.

Mergând mai departe, am investigat persistența asocierii dintre marginile de rezecție pozitive și diferenții parametrii ai lotului de studiu în funcție de tipul acestora dintâi: LSIL sau HSIL. Rezultatele obținute ne-au relevat că în ceea ce privește factorii demografici ai lotului asocieră a rămas semnificativ statistică pentru vârsta medie, IMC, statusul de climax, vârsta la momentul primei sarcini și neutilizarea prezervativului. Totodată, mediul de rezidență, prezența studiilor superioare, statusul de fumătoare, istoricul obstetrical (nuliparitatea sau paritatea mai mare decât 4, nașterea pe cale vaginală, numărul de avorturi, debutul precoce al vieții sexuale, prezența a mulți parteneri sexuali, contracepția hormonală) sau prezența sindroamelor de imunopresie nu au prezentat asocieră statistică cu severitatea afectării displazice a marginilor de rezecție.

În ceea ce privește statusul infecției cervicale cu HPV este interesant de observat faptul că deși pozitivitatea marginilor de rezecție a fost semnificativ statistic asociată cu prezența infecției HPV, acest parametru nu influențează tipul histologic de afectare a marginilor. Astfel, nu am observat o diferență semnificativă statistic între sub-lotul cu margini HSIL și cel cu margini LSIL raportat la infecția HPV la momentul intrării în studiu (84% vs. 73.1%, $p=0.36$), aspect ce s-a regăsit și în analiza detaliată în funcție de tipul tulpinilor virale: pentru HPV 16 (58% vs. 38.5%, $p=0.14$), HPV 18 (28% vs. 11.5%, $p=0.14$), HPV 53 (12% vs 0%, $p=0.08$) și infecția mixtă HPV 16/18 (16% vs. 3.8%, $p=0.15$). Rezultate similare am obținut și pentru momentul primului și celui de-al doilea control postoperator.

Doar pentru valoarea ICR de 4 puncte am observat o corelație statistică cu afectarea HSIL a marginilor piesei de conizație (6% vs. 30.8%, $p < 0.01$); pentru toate celelalte valori, această corelație nu a putut fi susținută de analiza statistică.

Tipul histologic de afectare a marginilor pozitive obținute în urma terapiei excizionale cervicale este totodată și factor predictiv pentru riscul de a prezenta o leziune cervicală displazică persistentă/ recurentă în cadrul urmăririi post-terapie; cu cât afectarea este mai importantă cu atât riscul este mai ridicat.

În cazurile care au beneficiat de conizație chirurgicală am calculat **volumul conului** obținut în urma rezecției după formula matematică $Volum = \pi \times R^2 \times h/3$, unde R = raza, h = înălțimea; în cazul electroconizației acest parametru nu a putut fi utilizat întrucât au existat cazuri în care piesa anatomo-patologică a fost excizată în mai mulți pași, obținându-se mai multe fragmente separate. Volumul mediu pentru lot al pieselor de conizație chirurgicală a fost $3 \pm 1.8 \text{ cm}^3$, cu o valoare mediană de 2.46 cm^3 , interval de cuartile [1.63, 4.10]; valorile raportate separat pentru sub-lotul cu/ fără persistență/ recurență lezională au fost de $2.34 \pm 1.39 \text{ cm}^3$ (valoare mediană 1.93 cm^3) și respectiv $4.48 \pm 1.7 \text{ cm}^3$ (valoare mediană 4.1 cm^3)

au fost semnificativ statistic diferite ($p < 0.01$). În consecință, putem afirma că o valoare mai redusă a volumului piesei de rezecție se corelează cu un risc mai ridicat de a prezenta o leziune displazică reziduală/ recurentă.

Identificarea **afectării** displazice de la nivelul **glandelor endocervicale** a fost semnificativ statistic asociată cu riscul de persistență/ recurență lezională ($p < 0.01$).

Statistic nu putem afirma că prezența artefactelor electrice pentru lotul pacienților cu electroconizație joacă rol predictiv pentru riscul de leziuni persistente/ recurente ($p = 1.00$).

În ceea ce privește indicațiile chirurgicale nu am obținut diferențe semnificative statistic pentru nici un tip de indicație între cele două sub-loturi (cu/ fără persistență/ recurență) ($p = 0.44$). De asemenea, nu am obținut o diferență semnificativă statistic între cele două tehnici chirurgicale pentru cazurile care au prezentat persistență/ recurență lezională pe parcursul urmăririi ($p > 0.01$).

Pentru mai mult decât jumătate dintre pacientele din sub-lotul cu persistență/ recurență displazică la care s-a practicat **curetaj endocervical (CEC)** acesta a fost pozitiv (34/58 de paciente, 58.6%) și nici o pacientă fără leziuni persistente/ recurente nu a prezentat rezultat pozitiv al CEC efectuat la control. Această diferență procentuală prezintă de asemenea relevanță statistică ($p < 0.01$), subliniind rolul CEC și în cadrul programului de monitorizare a riscului patologie displazică reziduală/ recurentă.

Am analizat statistic corelația dintre **valoarea ICR** la momentul inițial și persistența/ recurența lezională depistate pe parcursul desfășurării studiului. Urmărind distribuția valorilor ICR la momentul inițial între cele două sub-loturi am obținut diferențe semnificativ statistice pentru toate valorile ICR cu excepția $ICR = 5$.

Pentru pacientele din lot pe parcursul programului de urmărire post-terapie primară s-au practicat **reintervenții chirurgicale** în 78 de cazuri (26.89% din total); 74 dintre acestea s-au efectuat la pacientele din sub-lotul cu persistență/ recurență lezională displazică (74/89 de paciente, 83.1%) și respectiv patru reintervenții în sub-lotul fără persistență/ recurență (4/201 cazuri, 1.99%), diferență semnificativ statistică ($p < 0.01$). Analizând statistic cu ajutorul curbelor de supraviețuire Kaplan- Meier am observat că prognosticul pe termen lung este mai nefavorabil pentru pacientele care au beneficiat de o procedură chirurgicală de reintervenție, iar timpul mediu estimat fără diagnosticarea bolii displazice reziduale/ recurente este semnificativ statistic mai scăzut în rândul acestei categorii de paciente (25.72 luni comparativ cu 27.27 luni, $p < 0.01$).

Pentru a evalua relevanța statistică a asocierii dintre factorii prezentați anterior și riscul de leziuni cervicale persistente/ recurente am utilizat analiza de regresie logistică univariată. Am obținut relevanță statistică pentru: severitatea leziunii cervicale la momentul examinării inițiale obiectivată cu ajutorul ICR ($OR = 16.38$, $p < 0.01$), pozitivitatea curetajului endocervical ($OR = 16.83$, $p < 0.01$), volumul conului pentru conizația chirurgicală ($OR = 1$, $p < 0.01$), afectarea endocervicală și severitatea diagnosticului histologic în piesa de conizație primară ($OR = 4.13$, $p < 0.01$, respectiv $OR = 4.4$, $p < 0.01$), statusul marginilor de rezecție pozitive ($OR = 13.86$, $p < 0.01$). La introducerea acestor variabile în modelul de analiză de regresie multivariată logistică am obținut că singurul parametru anatomo- patologic care reprezintă un factor independent de risc pentru boala displazică cervicală reziduală/ recurentă este pozitivitatea curetajului endocervical efectuat la momentul inițial ($OR = 3.66$, $p < 0.01$).

Discuții

În literatura de specialitate statusul marginilor de rezecție reprezintă un factor histologic intens dezbătut în ceea ce privește potențialul predictiv asupra riscului de leziuni reziduale sau recurente. Gestionarea cazurilor care prezintă margini pozitive este dificilă întrucât riscul de recurență nu poate fi neglijat, dar nici cel asupra obținerii sau menținerii unei sarcini în cazul practicării re-exciziei.¹⁰ Rata de afectare a marginilor de rezecție în studiul nostru a fost de 26.2%, valoare apropiată de cea raportată de alte studii,^{31,34} distribuția localizării displaziei la nivelul marginilor este însă ușor diferită față de studiul lui Nogara,⁶² în lucrarea de față cel mai frecvent fiind afectate marginile exocervicale (65.8% din cazuri).

Statistic, am observat că prezența marginilor pozitive post-conizație reprezintă un factor predictiv pentru persistența/ recurența lezională având în vedere că rata de leziuni persistente/ recurente la pacientele cu margini pozitive a fost de 72.36% comparativ cu 15.88% la pacientele cu margini negative; totodată riscul este semnificativ mai mare cu severitatea de afectare a marginilor pozitive. Totuși, această asociere nu s-a menținut la analiza multivariată, astfel încât statusul marginilor nu reprezintă un factor de risc independent pentru riscul de boală reziduală/ recurentă. Această observație este susținută și de studiul lui Lubrano³⁴ care afirmă că 75.2% din cazurile cu margini pozitive au prezentat evoluție ulterioară normală, fără recurență, în vreme ce 11% din cazurile cu margini negative au dezvoltat leziuni reziduale/ recurente. În cazurile din urmă, afectarea glandulară endocervicală, leziunile multifocale, infecția persistentă cu HPV pot explica recurența.⁷⁰ De aceea, datele obținute de noi referitor la potențialul predictiv al marginilor de rezecție asupra riscului de leziuni persistente subliniază că toate pacientele la care se efectuează conizație pentru neoplazie cervicală intraepitelială de grad înalt trebuie să beneficieze de un program atent de monitorizare post-terapie, indiferent de statusul marginilor de rezecție.

Positivitatea curetajului endocervical la momentul intrării în studiu a fost evidențiată în studiul nostru ca factor predictiv independent pentru riscul de persistență/ recurență, întrucât la 67.41% dintre pacientele la care au fost identificate leziuni displazice în piesele provenind din canalul endocervical s-a depistat ulterior persistența/ recurența bolii. Utilizarea selectivă a curetajului endocervical în programul de monitorizare ne-a demonstrat asocierea acestuia cu riscul de persistență/ recurență lezională doar în analiza logistică univariată, similar datelor înregistrate de Lubrano și colaboratorii.³⁴ O analiză efectuată de Pretorius pe 18.537 de cazuri la care s-a efectuat colposcopie a concluzionat că utilizând curetajul endocervical la toate pacientele cu vârste de peste 25 de ani cu rezultate citologice anormale și/ sau testare HPV pozitivă ar fi echivalentul practicării acestuia la 70.7% din numărul de colposcopii, dar cu avantajul detecției a 96% din leziunile CIN3+ care ar fi fost diagnosticate doar prin curetaj endocervical CIN2+.⁶⁹

De asemenea, am observat că în sub-lotul pacientelor cu persistență/ recurență lezională valorile inițiale ale ICR au fost semnificativ statistic mai ridicate decât în cazul pacientelor la care acest tip de leziuni nu a fost depistat. Acest rezultat este explicat prin faptul că leziunile cu potențial de excizie incompletă sau recurență ulterioară sunt mai mari și se asociază cu infecții multiple cu tulpini oncogenice HPV (și cel mai frecvent cu HPV 16, după cum am prezentat în studiul anterior), astfel încât identificarea acestora presupune încadrarea acestor paciente în grupe de risc crescut.

Concluzii

În acest studiu am observat că cel mai important factor anatomo- patologic (în analiza de regresie multivariată) care este predictiv independent pentru boala reziduală/ recurentă cervicală după conizație este pozitivitatea curetajului endocervical inițial. De asemenea, indicația chirurgicală sau tipul de conizație efectuat nu influențează depistarea leziunilor persistente/ recurente cervicale; rezultate similare am obținut pentru afectarea glandelor endocervicale, volumul piesei de rezecție (pentru conizația chirurgicală).

Totodată, subliniem faptul că statusul negativ al marginilor de rezecție nu conferă siguranță în ceea ce privește riscul leziunilor reziduale/ recurente, de aceea monitorizarea acestei categorii de paciente trebuie efectuată cu prudență.

Pe de altă parte, factorii demografici (vârsta, fumatul, statusul de menopauză, multiparitatea, neutilizarea contracepției de barieră, infecția cu HIV), dar și valoarea ridicată a ICR trebuie luați în calcul la momentul practicării conizației ca factori predictivi pentru riscul de margini pozitive.

Examinarea colposcopică rămâne o verigă utilă în predicția diagnosticului histologic de severitate al piesei de conizație primară și prezintă asociere statistică cu riscul de recurență lezională. În plus, suntem de opinie că parametrii conizației (dimensiunile și volumul conului) ar fi optimizați dacă aceasta s-ar efectua sub control direct vizual colposcopic.

Analizând potențialul predictiv al examinării citologice cervicale (coroborat cu cel pentru tipajul HPV, descris în studiul anterior) suntem partizanii co- testării ca modalitate optimă de monitorizare a pacientelor care au beneficiat de conizație pentru leziuni CIN de grad înalt.

Importanța practică a tezei de doctorat

Considerăm că studiul de față prezintă o serie de **puncte tari**: trasează o imagine completă a factorilor predictivi pentru persistența/ recurența bolii displazice cervicale după tratamentul excizional conservator permițând includerea pacientelor în grupe de risc și stabilirea necesității monitorizării individualizate și re- intervenției precoce și prompte, evaluează acești factori de risc utilizând regresia hazardului proporțional (modelul lui Cox) frecvent utilizat pentru analizele de supraviețuire, descrie dinamica infecției cervicale cu HPV utilizând genotiparea calitativă și identificând astfel modelul de distribuție a tipurilor virale în populația analizată și comportamentul acestora, analizează corelația dintre examinarea colposcopică (prin intermediul Indicelui Colposcopic Reid pentru a reduce gradul de subiectivism în interpretarea aspectului lezional) și diagnosticul histologic de severitate al piesei de conizație primară; de asemenea, tratează, sub aspect prospectiv, un subiect de actualitate și actuală controversă în literatura de specialitate și permite, la final, conturarea unui set de recomandări cu aplicare clinică.

Pe de altă parte, menționăm și **limitările** lucrării: lotul de studiu prezintă un număr redus de cazuri (întrucât selecția s-a efectuat dintre pacientele care s-au prezentat într-un spital din capitală), perioada de monitorizare post- terapie este redusă (considerăm utilă continuarea analizei la 5 ani de la intervenția primară), testarea infecției HPV a fost de tip calitativ (nu permite evaluarea dinamicii viremiei), nu am utilizat ca parametru statusul infecțiilor genitale cu transmitere sexuală (ca potențiali co- factori pentru infecția cu HPV).

Astfel, în urma rezultatelor expuse anterior, considerăm că descrierea unui model predictiv bazat pe factorii de analiză ai lotului este utilă în optimizarea abordării pe termen lung a pacientelor aflate la risc de a dezvolta leziuni displazice recurente. Într-un climat mondial în care preocuparea majoră o reprezintă (în țările dezvoltate în care au fost implementate și funcționează eficient programele de vaccinare anti- HPV în rândul populației eligibile) rafinarea metodelor de screening pentru cancerul de col uterin, studiul prezent subliniază necesitatea acută a ajustării și redefinirii politicilor de sănătate naționale privind prevenția și tratamentul leziunilor cervicale neoplazice intraepiteliale de grad înalt în scopul reducerii ratelor de incidență a unei patologii eminamente prevenibilă.

Bibliografie

1. Bosch FX. The path to eliminate cervical cancer in the world and the challenges of professional education. *Vaccine* 2013;31 Suppl 7.
2. Kitchener HC, Castle PE, Cox JT. Chapter 7: Achievements and limitations of cervical cytology screening. *Vaccine* 2006;24 (suppl 3): S63-70.
3. WHO/ICO Information Centre on HPV and Cervical Cancer (HPV Information Centre). Romania- Human Papillomavirus and Related Cancer, Fact Sheet 2014. Available at: http://www.hpvcentre.net/statistics/reports/ROU_FS.pdf. Accesat 16 Noiembrie, 2015.
4. McCredie MRE, Sharples K, Paul C, Baranyai J, Medley G, Jones RW, et al. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. *Lancet Oncol* 2008;9:425-34.
5. Ostör AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol* 1993;12:186-92.
6. Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet* 2007;370:890-7.
7. Kocken M, Helmerhorst TJ, Berkhof J, Louwers JA, Nobbenhuis MA, Bais AG, et al. Risk of recurrent high-grade cervical intraepithelial neoplasia after successful treatment: a long-term multi-cohort study. *Lancet Oncol* 2011;12:441-50.
8. Schiffman M, Wentzensen N. From human papillomavirus to cervical cancer. *Obstet Gynecol* 2010;116(1):177-85.
9. <http://www.hpvcentre.net/statistics/reports/ROU.pdf>. Accesat pe 24 ianuarie 2016.
10. Maier C, Maier T, Neagu CE, Vladareanu R. Romanian adolescents' knowledge and attitudes towards human papillomavirus infection and prophylactic vaccination. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2015;195:77-82.
11. Paraskevaidis E, Koliopoulos G, Malamou-Mitsi V, et al. Large loop excision of the transformation zone for treating cervical intraepithelial neoplasia: a 12-year experience. *Anticancer Res* 2001;21:3097-9.
12. Massad LS, Einstein MH, Huh WK, et al. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. *J Low Genit Tract Dis* 2013;17(5):S1-S27.
13. Soutter WP, Sasieni P, Panoskaltis T. Long-term risk of invasive cervical cancer after treatment of squamous cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer* 2006;118:2048-55.
14. Melnikow J, McGahan C, Sawaya GF, Ehlen T, Coldman A. Cervical intraepithelial neoplasia outcomes after treatment: long-term follow-up from the British Columbia Cohort Study. *J Natl Cancer Inst* 2009;101(10):721-8.
15. Solomon D, Davey D, Kurman R, et al. The Bethesda System 2001: terminology for reporting the results of cervical cytology. *JAMA* 2002;287:2114-9.
16. Wells M. Epithelial Tumors. In: Tavassoli FA, Devilee P, eds. World Health Organization classification of tumors: pathology and genetics of tumors of the breast and female genital organs. Lyons, France: IARC Press; 2003: 269-70.
17. Reid R, Scalzi P. Genital warts and cervical cancer. An improved colposcopic index for differentiating benign papillomaviral infections from high grade cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Obstet Gynecol* 1985;153:611-8.
18. <https://www.bd.com/tripath/physicians/surepath.asp>. Accesat pe 31 ianuarie, 2016.
19. Ryu A, Nam K, Chung S, et al. Absence of dysplasia in the excised cervix by a loop electrosurgical excision procedure in the treatment of cervical intraepithelial neoplasia. *J Gynecol Oncol* 2010;21:87-92.
20. Alonso I, Torné A, Puig-Tintoré LM, et al. High-risk cervical epithelial neoplasia grade I treated by loop electrosurgical excision: follow-up and value of HPV testing. *Am J Obstet Gynecol* 2007;197:359.e1-6.
21. <http://www.cancer.gov/types/cervical/hp/cervical-treatment-pdq#section/11>. Accesat pe 7 februarie, 2016.
22. de Mello Silva MV, Coutinho IC, de Andrade Heráclio S, Fittipaldi HM Jr, Katz L. Factors associated with the persistence/ recurrence of CIN2/3 in women submitted to loop electrosurgical excision procedure in a teaching hospital in northeastern Brazil: a case- control study. *J Low Genit Tract Dis* 2014;18(4):286-90.
23. Baser E, Ozgu E, Erkilinc S, Togrul C, Caglar M, Gungor T. Risk factors for human papillomavirus persistence among women undergoing cold-knife conization for treatment of high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Gynaecol Obstet* 2014;125(3):275-8.
24. Vintermyr O.K., Iversen O, Thoresen S, et al. Recurrent high - grade cervical lesion after primary conization is associated with persistent human papillomavirus infection in Norway. *Gynecol Oncol* 2014;133:159-66.
25. Verguts J, Bronselaer B, Donders G, et al. High - risk HPV presence in cervical specimens after a large loop excision of the cervical transformation zone: significance of newly detected hr - HPV genotypes. *J Med Virol* 2007;79:314-9.

26. Wright TC, Cox TJ. Chapter 4: Cervical Cancer: Epidemiology and Etiology. In: Mayeaux EJ Jr, Cox TJ, ed. *Modern Colposcopy: Textbook&Atlas*. Lippincott Williams&Wilkins, 2012, p. 65-71.
27. Smith JS, Green J, Berrington de Gonzalez, et al. Cervical cancer and use of hormonal contraceptives: a systematic review. *Lancet* 2003;361:1159-67.
28. Babkina N, Heller DS, Goldsmith LT, Houck KL. Cervical conization for cervical intraepithelial neoplasia (CIN) 2 and 3 in HIV- positive women: a case-control study. *J Low Genit Tract Dis* 2015;19(2):110-4.
29. Reimers LL, Sotardi S, Daniel D, et al. Outcomes after an excisional procedure for cervical intraepithelial neoplasia in HIV- infected women. *Gynecol Oncol* 2010;119:92.-7.
30. Maier C, Puia S, Moisa M, Mitran M, Potecă A, Comănescu M, Neagu C, Vlădăreanu C. Rapidly progressive high-grade cervical intraepithelial neoplasia in a Hodgkin lymphoma patient. A case report. *Gineco.eu* 2015;11:111-3.
31. Quint W, Jenkins D, Molijn A, et al. One virus, one lesion-individual components of CIN lesions contain a specific HPV type. *J Pathol* 2012;227:62-71.
32. Nam K, Chung S, Kim J, Jeon S, Bae D. Factors associated with HPV persistence after conization in patients with negative margins. *J Gynecol Oncol* 2009;20(2):91-5.
33. Gosvig CF, Huusom LD, Andersen KK, et al. Persistence and reappearance of high-risk human papillomavirus after conization. *Gynecol Oncol* 2013;131(3):661-6.
34. Lubrano A, Medina N, Benito V, et al. Follow-up after LLETZ: a study of 682 cases of CIN2- CIN3 in a single institution. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012;161(1):71-4.
35. Spinillo A, Gardella B, Iacobone AD, Cesari S, Alberizzi P, Silini EM. Multiple papillomavirus infection and size of colposcopic lesions among women with cervical intraepithelial neoplasia. *J Low Genit Tract Dis* 2016;20:22-5.
36. Park JL, Lee KH, Dong SM, Kang S, Park SY, Seo S. The association of pre-conization high-risk HPV load and the persistence of HPV infection and persistence/recurrence of cervical intraepithelial neoplasia after conization. *Gynecol Oncol* 2008;108:549-54.
37. Nielsen A, Kjaer SK, Munk C, Osler M, Iftner T. Persistence of high-risk human papillomavirus infection in a population-based cohort of Danish women. *J Med Virol* 2010;82(4):616-23.
38. Katki HA, Schiffman M, Castle PE, et al. Five-year risk of recurrence following treatment of CIN 2, CIN 3, or AIS: performance of HPV and Pap cotesting in post-treatment management. *J Low Genit Tract Dis* 2013;17:78-84.
39. Tasci T, Turan T, Ureyen I, et al. Is there any predictor for residual disease after cervical conization with surgical margins for HSIL or microinvasive cervical cancer? *J Low Genit Tract Dis* 2015;19:115-8.
40. Serati M, Siesto G, Carollo S, Formenti G, Riva C, Cromi A, Ghezzi F. Risk factors for cervical intraepithelial neoplasia recurrence after conization: a 10-year study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012;165(1):86-90.
41. Nogara P, Manfroni L, da Silva M, Consolaro M. The "see and treat" strategy for identifying cytologic high-grade precancerous cervical lesions among low-income Brazilian women. *Int J Gynecol Obstet* 2012;118:103-6.
42. Fuste P, Bellosillo B, Santamaria X, et al. HPV determination in the control after LEEP due to CIN II-III: prospective study and predictive model. *Int J Gynecol Pathol* 2009;28:120-6.
43. Pretorius R, Belinson J, Peterson P, Burchette R. Which colposcopies should include endocervical curettage? *J Low Genit Tract Dis* 2015;19:278-81.