



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.



**Universitat Autònoma
de Barcelona**

TESIS DOCTORAL

**UTILIDAD DIAGNÓSTICA DEL TEST
INTRAOPERATORIO DEL VIRUS DEL PAPILOMA
HUMANO COMO MARCADOR PRECOZ DE CURACIÓN
O RECIDIVA EN MUJERES CON NEOPLASIA
INTRAEPITELIAL CERVICAL DE ALTO GRADO
(HSIL/CIN2-3)**

Jordi Rabasa Antonijuan

**DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA, OBSTETRICIA, GINECOLOGÍA Y
MEDICINA PREVENTIVA**

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

Barcelona, 2019

Memoria para aspirar al Grado de Doctor

Bajo la dirección de:

Prof. Dr. Antonio Gil-Moreno

Director de Tesis

Unidad de Oncología Ginecológica
Departamento de Obstetricia y Ginecología
Hospital Universitari Vall d'Hebron
Universitat Autònoma de Barcelona
Barcelona

Dr. José Luis Sánchez-Iglesias

Director de Tesis

Unidad de Oncología Ginecológica
Departamento de Obstetricia y Ginecología
Hospital Universitari Vall d'Hebron
Universitat Autònoma de Barcelona
Barcelona

Dra. Cristina Centeno Mediavilla

Directora de Tesis

Unidad de Oncología Ginecológica
Departamento de Obstetricia y Ginecología
Hospital Universitari Vall d'Hebron
Universitat Autònoma de Barcelona
Barcelona

Autorización de los Directores de Tesis

Prof. Dr. Antonio Gil-Moreno

Dr. José Luis Sánchez-Iglesias

Dra. Cristina Centeno Mediavilla

Certifican

Que la memoria titulada “UTILIDAD DIAGNÓSTICA DEL TEST INTRAOPERATORIO DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO COMO MARCADOR PRECOZ DE CURACIÓN O RECIDIVA EN MUJERES CON NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL DE ALTO GRADO (HSIL/CIN2-3)”, presentada por el doctorando Jordi Rabasa Antonijuan para optar al grado de Doctor en Medicina, ha sido realizada bajo mi dirección (Prof. Dr. Antonio Gil-Moreno, Dr. José Luis Sánchez Iglesias y Dra. Cristina Centeno Mediavilla). Una vez finalizada, los Directores autorizan su presentación para ser juzgada por el tribunal correspondiente.

Y para que quede constancia a los efectos oportunos, firmo la presente en Barcelona, 2019.

Prof. Dr. Antonio Gil-Moreno

Dr. José Luis Sánchez Iglesias

Dra. Cristina Centeno Mediavilla

Dedicatoria

a Ana, Emma y Julia

Agradecimientos

A mis padres, personas trabajadoras, buenas y humildes, cualidades que cada vez admiro más, por su amor, su sacrificio y por enseñarme con su ejemplo el valor del trabajo y de la honradez. Hago extensivo mi más emotivo agradecimiento a mis suegros Nicolás y Ana María, por su amor, cariño, ejemplo de vida y apoyo incondicional.

Al Prof. Dr. Antonio Gil-Moreno, Jefe del Servicio de Ginecología del Hospital Universitari Vall d'Hebron de Barcelona, donde se inició mi formación como médico y ginecólogo, y a quien siempre he procesado una profunda admiración, por haber aceptado la dirección de este proyecto y por su inestimable ayuda a lo largo de las diferentes etapas. Sus conocimientos, su inteligencia, su buen hacer y su proximidad han sido las claves para que este trabajo se haya podido hacer realidad.

Asimismo, tampoco hubiera sido posible llegar a obtener el grado de Doctor sin la valiosa supervisión del estudio de los otros dos Directores de Tesis, el Dr. José Luis Sánchez Iglesias y la Dra. Cristina Centeno Mediavilla, por su apoyo, ayuda y orientación en todas las fases de este proyecto. Ambos son eminentes científicos y reconocidos expertos en el campo de la Ginecología Oncológica, mi agradecimiento por su ejemplo de trabajo y búsqueda de la excelencia, por su motivación y por la enorme generosidad. El haberme distinguido, además, con su amistad, nunca lo olvidaré.

A Melissa Bradbury, Cristina Forcada, Diana Guerrero y Maite Murcia por su inestimable colaboración en la recogida de datos, análisis de los datos y la elaboración del artículo publicado. A la Dra. Marta Pulido, editora médica, por su buen hacer en la edición y corrección del presente documento.

A mi abuelo, a mi padre y a mi tío que desde mi niñez me enseñaron a vivir con pasión y asombro la Medicina.

Resultaría interminable la lista de personas a las que debo un enorme agradecimiento, mi hermana, amigos, profesores, y compañeros de trabajo, entre tantos muchos. Por tanta ayuda brindada en tantas ocasiones, y por supuesto a mis pacientes, la razón última de ser de nuestra profesión y actividad.

Especialmente a Ana, mi mujer, y a mis hijas, Emma y Julia, a quienes dedico este trabajo de Tesis, y realmente toda mi vida. Dios no podía haberme hecho un regalo más maravilloso. Gracias, sobre todo a Ana, por tanto amor y comprensión, por su sacrificio, por tanta ayuda, por tanta dedicación y ese trabajo silencioso... sin los que mis pequeños logros nunca hubieran sido posibles. Gracias a las tres, que cada día hacéis que aunque amanezca nublado, sea en realidad una jornada radiante y esplendorosa.

Abreviaturas

- ADN: ácido desoxirribonucleico.
- AEPCC: Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia.
- AIS: adenocarcinoma endocervical in situ.
- AGC: células glandulares atípicas (*atypical glandular cells*).
- AGUS: células atípicas glandulares de significado incierto (*glandular cells of uncertain significance*).
- AIN: neoplasia intraepitelial anal (*anal intraepithelial neoplasia*).
- ARN: ácido ribonucleico.
- ARNm: ácido ribonucleico mensajero.
- ASSIR: Servicios de Atención a la Salud Sexual y Reproductiva.
- ASC: células escamosas atípicas (*atypical squamous cells, ASC*).
- ASCCP: Sociedad Americana de Colposcopia y Patología Cervical (*American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, ASCCP*).
- ASCUS: células atípicas escamosas de significado incierto (*atypical squamous cells of uncertain significance*).
- CAP: Colegio Americano de Patólogos (*American College of Pathologists, ACP*).
- CCU: cáncer del cuello uterino.
- CIN: neoplasia intraepitelial cervical (*cervical intraepithelial neoplasia*).
- DE: desviación estándar.
- FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (*Food and Drug Administration*).
- HC: captura de híbridos (*hybrid capture*).
- HR: cociente de riesgos instantáneos (*hazard ratio*).
- HSIL: SIL de alto grado (*high-grade SIL*).
- IC: intervalo de confianza.
- IFCCP: Federación Internacional de Patología Cervical y Colposcopia (*International Federation for Cervical Pathology*).
- IN: neoplasia intraepitelial (*intraepithelial neoplasia*).
- LAST: terminología de las lesiones escamosas del tracto anogenital inferior (*lower anogenital squamous terminology*).
- LCR: región larga de control de la transcripción (*long control region*).
- LEC: legrado endocervical.
- LEEP: *loop electro-excision procedure*.
- LLETZ: *large loop excision of transformation zone*.

- LSIL: SIL de bajo grado (*low-grade* SIL).
- MCM2: proteína 2 del mantenimiento de los microsomas.
- MCM5: proteína 5 del mantenimiento de los microsomas.
- OMS: Organización Mundial de la Salud.
- OR: razón de oportunidades (*odds ratio*).
- PaIN: neoplasia intraepitelial perianal (*perianal intraepithelial neoplasia*).
- PCR: reacción en cadena de la polimerasa (*polymerase chain reaction*).
- PeIN: neoplasia intraepitelial del pene (*penile intraepithelial neoplasia*).
- pRb: proteína del retinoblastoma.
- REDECAN: Red Española de Registros de Cáncer.
- RR: riesgo relativo.
- SIL: lesión escamosa intraepitelial (*squamous intraepithelial lesion*).
- TOP2A: topoisomerasa 2 alfa.
- UEC: unión escamocolumnar.
- VaIN: neoplasia intraepitelial vaginal (*vaginal intraepithelial neoplasia*).
- VIH: virus de la inmunodeficiencia humana.
- VIN: neoplasia intraepitelial vulvar (*vulvar intraepithelial neoplasia*).
- VPH: virus del papiloma humano.
- VPH-IOP: test del virus del papiloma humano intraoperatorio.
- VPN: valor predictivo negativo.
- VPP: valor predictivo positivo.
- ZT: zona de transformación.

Índice	Páginas
Capítulo 1. Introducción y generalidades	
1.1 Epidemiología del cáncer de cuello uterino y lesiones precursoras	17
1.2. Infección por el virus del papiloma humano (VPH)	21
1.2.1. Genoma viral y mecanismos de carcinogénesis	22
1.2.2. Clasificación de los tipos de VPH	24
1.2.3. Marcadores moleculares de infección por VPH	26
1.2.3.1. Genotipado VPH 16/18	26
1.2.3.2. Sobreexpresión de ARNm de E6/E7	27
1.2.3.3. Expresión de la proteína p16 y Ki67	27
1.2.3.4. Proteínas codificadas por genes	29
1.2.3.5. Hipermetilación de promotores genómicos	30
1.3. Cribado del cáncer de cuello uterino y lesiones precursoras	30
1.3.1 Diagnóstico molecular de infección por VPH	32
1.3.1.1. Captación de híbridos	33
1.3.1.2. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	34
1.3.1.3. Detección de ARN vírico	34
1.3.2. Citología cervical	35
1.3.3. Colposcopia	36
1.3.4. Estudio histológico	37
1.4. Seguimiento y factores de riesgo de recidiva	38
1.4.1. Recomendaciones actuales	40
Capítulo 2. Justificación de la tesis	42
Capítulo 3. Hipótesis y objetivos	44
3.1. Hipótesis	45
3.2. Objetivos	45
3.2.1. Objetivo principal	45
3.2.2. Objetivos secundarios	45
Capítulo 4. Pacientes y métodos	47
4.1. Diseño	48
4.2. Participantes	48
4.3. Procedimientos del estudio	49
4.3.1. Visita basal	49

Índice	Páginas
4.3.2. Conización cervical	50
4.3.3. Seguimiento tras la conización	50
4.4. Técnicas diagnósticas	52
4.4.1. Citología y test del VPH	52
4.4.2. Estudio histológico	53
4.5. Diagnóstico de recidiva	53
4.6. Segunda conización	54
4.7. Variables del estudio	54
4.8. Análisis estadístico	55
Capítulo 5. Resultados	57
5.1. Características de la población de estudio	58
5.2. Características de las lesiones en el momento del diagnóstico	59
5.3. Características anatomopatológicas del espécimen quirúrgico	61
5.4. Resultados del objetivo principal: precisión diagnóstica del test del PVH-IOP y del test del PVH a los 6 meses para el diagnóstico de recidiva de enfermedad de alto grado a los 24 meses	63
5.5. Resultados de los objetivos secundarios	64
5.5.1. Tasa de recidiva de lesiones de alto grado y bajo grado a los 24 meses	64
5.5.2. Asociación entre la recidiva de lesiones de alto grado y bajo grado y el resultado del test del VPH-IOP y del test del VPH a los 6 meses para cualquier genotipo de alto riesgo oncogénico	66
5.5.3. Asociación entre la recidiva de lesiones de alto riesgo y algún genotipo específico de alto riesgo detectado tanto en el test del VPH-IOP como en el test del VPH a los 6 meses	70
5.5.4. Asociación entre la recidiva de lesiones de alto riesgo y la coincidencia de los genotipos del VPH preoperatorios y postoperatorios	73
5.5.5. Asociación entre la recidiva de lesiones de alto grado y los factores histopatológicos	74
5.2.5.1. Márgenes quirúrgicos y legrado endocervical post-conización	74
5.5.6. Asociación entre la recidiva de lesiones de alto grado y bajo grado y la edad	77
5.5.7. Asociación entre la recidiva de lesiones de alto grado y bajo grado y el hábito tabáquico	78
5.5.8. Asociación entre la recidiva de lesiones de alto y	79

Índice	Páginas
bajo grado y cambios colposcópicos mayores	
5.5.9. Impacto económico del test del VPH-IOP	79
Capítulo 6. Discusión	82
6.1. Generalidades del estudio	83
6.2. Rendimiento diagnóstico y pronóstico del test del VPH-IOP y del test de VPH a los 6 meses	86
6.3. Valor pronóstico del genotipado del VPH	89
6.4. Valor pronóstico de los márgenes quirúrgicos y legrado endocervical post-conización	92
6.5. Recidiva de bajo grado	95
6.6. Costes directos y uso del test del VPH-IOP	96
6.7. Limitaciones del estudio	97
Capítulo 7. Líneas futuras de investigación basadas en este proyecto	99
Capítulo 8. Conclusiones	102
Capítulo 9. Bibliografía	105
Anexos	122

Resumen

Se presenta un estudio de cohortes prospectivo unicéntrico en 304 pacientes con diagnóstico de HSIL/CIN2-3 tratadas mediante conización cervical, en las que se realiza un test del VPH intraoperatoriamente (VPH-IOP) y durante el seguimiento, a los 6, 12 y 24 meses del tratamiento. La precisión diagnóstica del VPH-IOP para la detección de recurrencia de enfermedad de alto grado a los 24 meses es similar que la del test del VPH a los 6 meses. Existe una fuerte asociación entre la positividad del test del VPH-IOP y a los 6 meses y la recurrencia de alto grado. Únicamente la positividad para el genotipo 16, tanto en el estudio intraoperatorio como a los 6 meses tras la conización, se asocia a recurrencia de alto grado. La presencia de márgenes quirúrgicos afectados, especialmente el margen endocervical, y la positividad en la muestra endocervical se asocian a recurrencia de alto grado. La implementación de una estrategia de realización del test VPH-IOP supondría una reducción sustancial de los costes directos por cuanto la visita de seguimiento de los 6 meses podría omitirse. Asimismo, la selección precoz de aquellas pacientes con riesgo bajo de recidiva respecto las de alto riesgo, permitiría una reducción en el número de visitas y pruebas en el grupo de bajo riesgo.

Abstract

A single-center prospective cohort study is presented in 304 patients diagnosed with HSIL/CIN2-3 treated by cervical conization, in which an HPV test is performed intraoperatively (HPV-IOP) and during follow-up, at 6, 12 and 24 months after treatment. The diagnostic accuracy of HPV-IOP for the detection of recurrence of high-grade disease at 24 months is similar to that of the HPV test performed at 6 months. There is a strong association between the positivity of the HPV-IOP test and at 6 months and recurrence of high-grade lesions. Only positivity for genotype 16, both in the intraoperative study and at 6 months after conization, is associated with high-grade recurrence. The presence of positive surgical margins, especially the endocervical margin, and the positivity in the endocervical sample are associated with high-grade recurrence. The implementation of a strategy to carry out the HPV-IOP test would result in a substantial reduction in direct costs because the 6-month follow-up visit could be omitted. Likewise, the early selection of those patients with low risk of recurrence as compared to high-risk patients would allow a reduction in the number of visits and tests in the low-risk group.

Presentación

El documento de esta Tesis Doctoral está estructurado siguiendo las directrices de la normativa de las Consideraciones para la elaboración de la tesis doctoral aprobadas el 28 de septiembre de 2017 por la Comissió Acadèmica de Medicina y modificadas en 31 de enero de 2019, en lo que respecta a los criterios formales y criterios de contenido especificados, y recogidos en tanto en el Artículo 358 de la normativa del RD99/2011, como las aprobadas por la Comisión Acadèmica del programa de doctorado de la Universitat Autònoma de Barcelona.

Asimismo, algunos resultados preliminares y parciales de este trabajo han sido objeto de presentación en forma póster en el XXX Congreso de la Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia, celebrado en Girona, 15-17 de noviembre de 2018 (anexo) y de publicación en la revista *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 2019. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.15932> (anexo).

Financiación

El estudio efectuado y presentado en esta Tesis Doctoral no ha recibido ninguna ayuda económica por parte de agencias del sector público, sector comercial o entidades sin ánimo de lucro.

Conflicto de interés

Ninguno que declarar.

Capítulo 1. Introducción y generalidades

1.1. Epidemiología del cáncer del cuello uterino y lesiones precursoras

El cáncer del cuello uterino (CCU) o cáncer de cérvix es la cuarta neoplasia más frecuente en la mujer a nivel mundial, precedido por el cáncer de mama, el cáncer colorrectal y el cáncer de pulmón, siendo responsable de alrededor de 311.000 muertes anuales, lo que representa un 7,5% de todas las muertes por cáncer en las mujeres [1]. Un 85% de los casos se detectan en países subdesarrollados, en los que supone el segundo cáncer más frecuente y la segunda causa de muerte por cáncer en la mujer [1]. Estas diferencias entre países se explican básicamente por la implementación a nivel poblacional de programas eficaces de cribado del CCU [2]. En Europa se diagnostican anualmente unos 60.000 nuevos casos de CCU, siendo el cuarto cáncer más frecuente y la séptima causa de muerte por cáncer en la mujer [3]. En España, según los datos de la Red Española de Registros de Cáncer (REDECAN), se diagnostican aproximadamente 2.000 nuevos casos de CCU, con un total de 580 fallecimientos, siendo el decimoctavo tumor más frecuente en la mujer [4].

En la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS), los tipos histológicos de CCU incluyen tumores epiteliales, tumores mesenquimales, tumores mixtos epiteliales-mesenquimales, tumores melanocíticos, tumores de células germinales, tumores linfoides/mieloides y tumores metastásicos (o secundarios). Los tumores epiteliales son los más frecuentes, diferenciándose según la estirpe celular de origen en tumores de las células escamosas (80% de los casos), de células glandulares (15%) y de células neuroendocrinas (5%) [5,6].

Respecto a la definición y clasificación citológica e histológica de las lesiones precursoras de CCU, tras la sustitución del concepto clásico de displasia

por el de neoplasia intraepitelial cervical (*cervical intraepithelial neoplasia*, CIN) [7,8], incluyendo CIN3 (displasia grave carcinoma in situ), CIN2 (displasia moderada) y CIN1 (displasia leve), la propuesta del sistema de clasificación de Bethesda [9], basado en el conocimiento de la historia natural del virus del papiloma humano (VPH), unificaba los conceptos citológicos e histológicos bajo el término de lesión escamosa intraepitelial (*squamous intraepithelial lesion*, SIL) de bajo grado (*low-grade SIL*, LSIL) o CIN1 y de alto grado (*high-grade SIL*, HSIL) o CIN2-3. Asimismo, se proponía el concepto de células atípicas escamosas o glandulares de significado incierto (*atypical squamous or glandular cells of uncertain significance*, ASCUS/AGUS) para las alteraciones citológicas observadas en las células escamosas o glandulares en las que no era posible definir su carácter neoplásico, inflamatorio o reparador.

Posteriormente, el sistema de clasificación de Bethesda se modificó ampliándose la descripción de las características de las alteraciones en las células epiteliales escamosas y glandulares [10]. A pesar de ello, los términos LSIL y HSIL se reservaron para designar alteraciones citológicas, en tanto que la terminología histológica siguió utilizando los términos de CIN1, CIN2 y CIN3. En la tabla 1 se describe la clasificación de sistema de Bethesda.

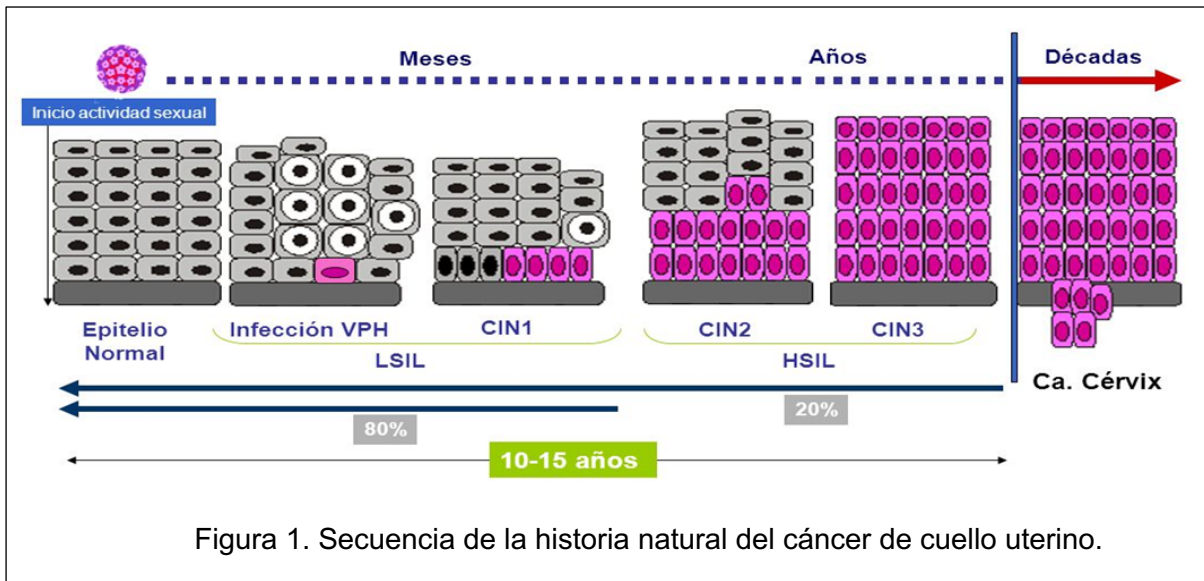
Tabla 1. Sistema de clasificación de Bethesda de las citologías cervicales [10]

<p>1. Negativo para lesión intraepitelial o malignidad</p> <p>No existe evidencia de neoplasia</p>
<p>2. Células epiteliales anormales</p> <p>2.1. Células escamosas</p> <p>2.1.1. Células escamosas atípicas (<i>atypical squamous cells, ASC</i>).</p> <ul style="list-style-type: none"> – De significado indeterminado (<i>atypical squamous cells of uncertain significance, ASCUS</i>). – No se puede excluir lesión escamosa intraepitelial de alto grado. <p>2.1.2. Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (<i>low-grade SIL</i>) (incluye displasia leve/infección, CIN1/VPH).</p> <p>2.1.3. Lesión intraepitelial escamosa de alto grado (<i>high-grade SIL</i>) (incluye displasia moderada-severa CIN2, CIN3 y carcinoma in situ).</p> <p>2.1.4. Con características sospechosa de invasión.</p> <p>2.1.5. Carcinoma escamoso negativo para lesión intraepitelial o malignidad.</p> <p>2.2. Células glandulares</p> <p>2.2.1. Células glandulares atípicas (<i>atypical glandular cells, AGC</i>): endocervicales, endometriales o glandulares sin especificar origen.</p> <p>2.2.2. Células glandulares atípicas posiblemente neoplásicas.</p> <p>2.2.3. Adenocarcinoma endocervical in situ (AIS).</p> <p>2.2.4. Adenocarcinoma endocervical, endometrial, extrauterino o sin especificar.</p>

En el año 2012, el Colegio Americano de Patólogos (*College of American Pathologists, CAP*) y la Sociedad Americana de Colposcopia y Patología Cervical (*American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, ASCCP*) establecieron un consenso para reflejar los conocimientos actuales de la biología de estas lesiones, facilitar la comunicación entre profesionales y fomentar el uso óptimo de los biomarcadores moleculares, proponiendo la terminología de las lesiones escamosas del tracto anogenital inferior LAST (*lower anogenital*

squamous terminology,) [11]. Utiliza la misma terminología (LSIL y HSIL) para todas las lesiones escamosas intraepiteliales asociadas al VPH, independientemente de su identificación en muestras citológicas o histológicas y su localización en cuello de útero, vulva, vagina, ano, región perianal o pene. La información se puede complementar con la terminología clásica “neoplasia intraepitelial” (*intraepithelial neoplasia*, IN) y la sigla correspondiente a su localización (cuello de útero CIN, vagina VaIN, vulva VIN, ano AIN, área perianal PaIN y pene PeIN), acompañada del indicador de la gradación (-IN1, 2 o 3) entre paréntesis en el caso de que sea un diagnóstico histológico. Esta nueva clasificación ha sido aceptada por la Organización Mundial de la Salud como terminología oficial en el año 2014. Por tanto, actualmente las lesiones CIN1 se clasifican como LSIL y las lesiones CIN2 y CIN3 como HSIL [11].

En cuanto a la evolución, el 80% de las lesiones LSIL/CIN1 regresan de forma espontánea durante los 12 primeros meses y solamente un 4-10% progresan a HSIL/CIN2-3 en el transcurso de 10-15 años [12,13]. La capacidad de regresión está asociada a la edad, siendo aproximadamente del 90% en adolescentes y mujeres jóvenes [14], con una disminución progresiva a medida que la mujer se va haciendo mayor [15]. El riesgo de transformación a carcinoma invasor de las HSIL/CIN2-3 es elevado (alrededor del 30% - 50% a largo plazo) [15,16]. En la figura 1 se muestra la historia natural del cáncer de cérvix. Los análisis virológicos sugieren que el aclaramiento de la infección por VPH precede a la regresión de los cambios citológicos [17].



1.2. Infección por el virus del papiloma humano (VPH)

La infección por el VPH es la infección de transmisión sexual más frecuente y el principal factor etiológico del CCU y de otras neoplasias del tracto anogenital femenino y masculino [18,19]. La infección se transmite principalmente a través de las relaciones sexuales debido al contacto de piel con piel o mucosa con mucosa. Se estima que el 70-80% de la población presentará una infección por VPH a lo largo de la vida. La infección del VPH es más frecuente durante los primeros años tras el inicio de la vida sexual (pico de incidencia entre los 16 y los 20 años de edad), con un riesgo acumulado de infección a los 24 meses del primer coito del 38,9%, similar a mujeres con experiencia sexual previa y que tienen un nuevo compañero sexual [20]. En España, en el año 2012, la prevalencia de infección por el VPH fue del 28,8% en la segunda década de la vida, disminuyendo hasta el 13% a los 35 años [21], similar a la de otros países desarrollados. No obstante, en mujeres de más de 30 años, aunque el riesgo de infección es menor, la duración de la infección y el riesgo de progresión a HSIL/CIN2-3 es mayor.

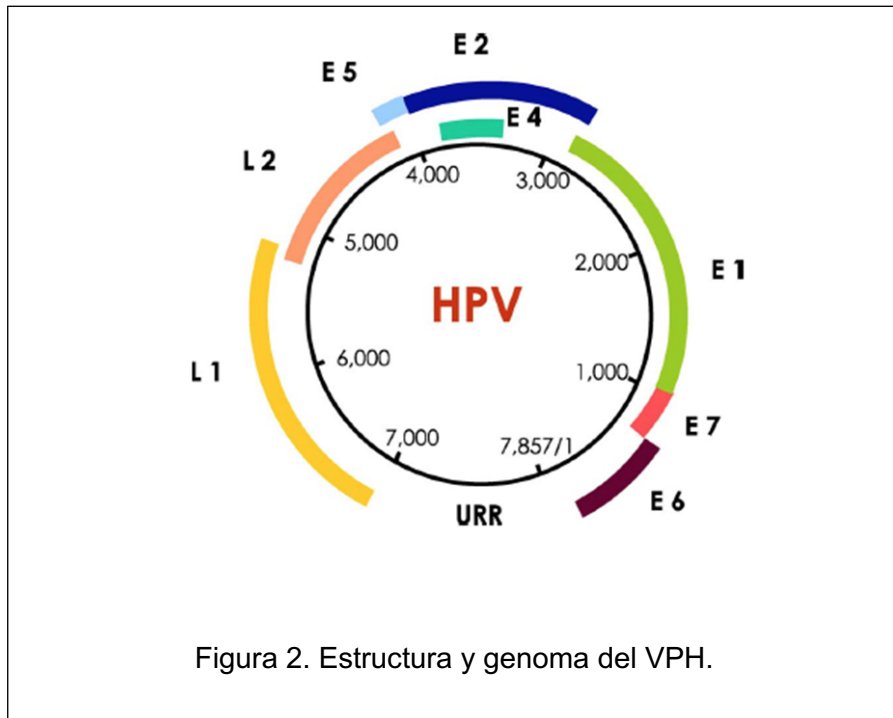
La mayoría de las infecciones por el VPH regresan espontáneamente. Por el contrario, la infección persistente y la presencia de factores de riesgo concomitantes son las causas del desarrollo de un CCU. Los factores de riesgo han sido ampliamente estudiados e incluyen la paridad, el hábito tabáquico, el uso de anticonceptivos orales y la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). La paridad es un factor de riesgo para la progresión del CCU, pero no para la adquisición de una nueva infección por VPH [22]. Para el hábito tabáquico y el uso de anticonceptivos orales se han descrito aumentos del riesgo relativo (RR) de CCU de 1,66 y 1,90, respectivamente [23,24].

La presencia del VIH se asocia a una mayor incidencia y persistencia de infección por VPH, de lesiones precursoras y de CCU [25,26].

1.2.1. Genoma viral y mecanismos de carcinogénesis

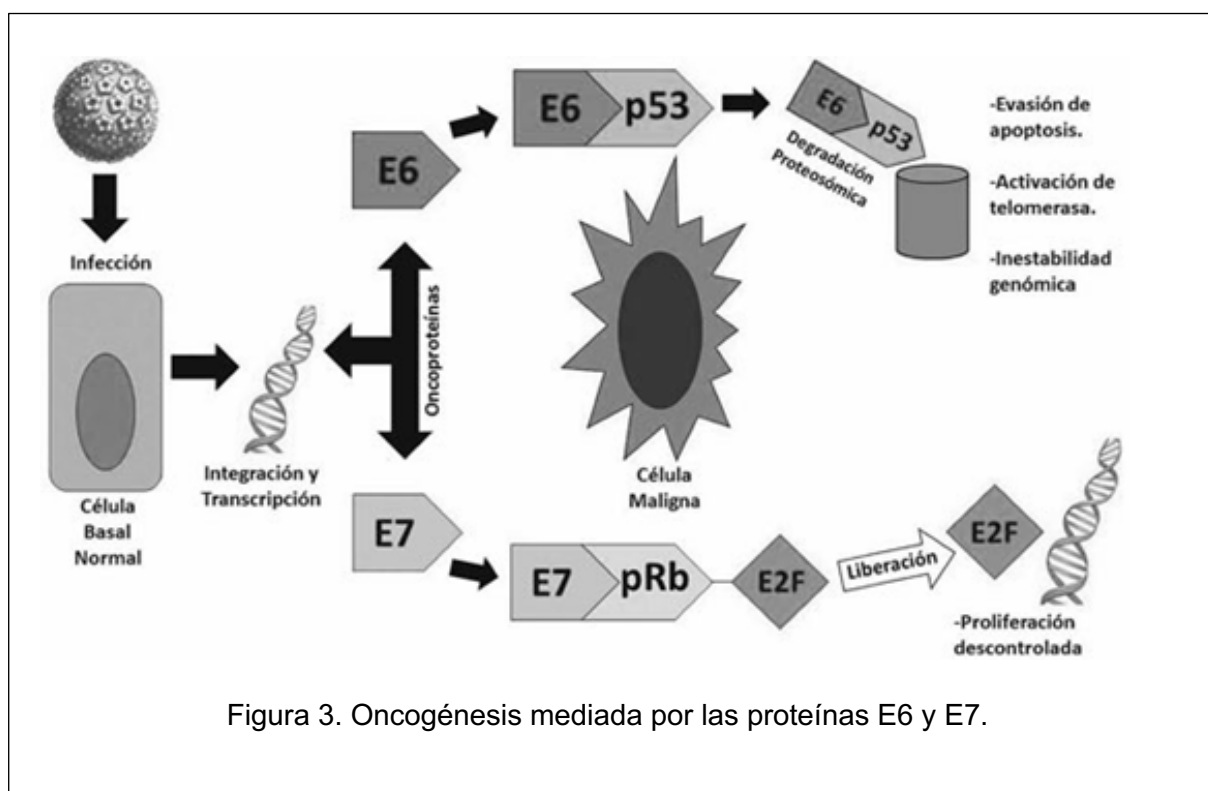
Los papilomavirus humanos pertenecen a la familia *Papovaviridae*. Son virus de ADN circular, pequeños de 55 nm de diámetro, con una cápside viral icosaédrica compuesta por 72 capsómeros en torno a una doble cadena de ADN de unos 8.000 pares de bases. Su genoma consta de 8 genes de expresión temprana o E (*early*) (E1,E2,E3,E4,E5,E6,E7,E8), cuya expresión se traduce en proteínas implicadas en la transcripción y replicación viral, 2 genes de expresión tardía o L (*late*) (L1,L2) cuya expresión genera las proteínas para el ensamblaje de la cubierta viral, la cápside y una región de control, denominada región larga de control de la transcripción (*long control region*, LCR) donde se localizan los promotores que inician la transcripción (figura 2).

Los genes de expresión tardía presentan similitudes entre ellos mientras que los genes de expresión temprana (como E6 y E7) tienen mayor variabilidad en función del tipo viral [27].



Respecto al mecanismo de carcinogénesis, el virus se establece en las células basales en forma de episomas (ADN no integrado), con algunas decenas de copias de genoma por célula que se replican coordinadamente, y durante períodos variables de tiempo mantiene este bajo número de copias en estas células que están infectadas, pero que todavía son competentes y pueden replicarse. Posteriormente, la célula basal comienza a diferenciarse y es impulsada hacia estratos superiores de la epidermis/mucosa. En el compartimento suprabasal, esta célula pierde la capacidad de dividirse y en este estrato el VPH comienza a replicarse amplificando el genoma viral y produciendo también las proteínas de la cápside con la consecuente aparición de viriones

[28]. Por otra parte, el genoma viral es capaz de integrarse en el ADN de la célula huésped, y junto con la consiguiente sobreexpresión de E6 y E7 constituye el elemento esencial del proceso oncogénico. La acción conjunta de E7 (inhibiendo pRb) y E6 (degradando p53) produce un efecto sinérgico en la activación del ciclo celular, dando como resultado la proliferación descontrolada de las células infectadas por el virus, que junto al efecto antiapoptótico por la inactivación de p53, constituye una potente combinación oncogénica (figura 3).



1.2.2. Clasificación de los tipos de VPH

Existen distintos tipos de VPH en función de la secuencia de bases de la región viral L1. Concretamente, se define un nuevo genotipo cuando la diferencia en el genoma con los demás tipos es superior al 10% y se cataloga como subtipo cuando esta diferencia es del 2-10%. Se conocen más de 100 tipos y se caracterizan por ser muy específicos de especie, de tejido diana y localización. Los VPH que infectan a los humanos, se dividen en cutáneos y mucosales. Los

mucosales infectan la mucosa genital. Se han aislado de la mucosa del tracto genital inferior unos 40 tipos y entre ellos 15 en carcinomas. Los VPH se clasifican según su potencial oncogénico en VPH de bajo riesgo y VPH de alto riesgo oncogénico. Existe un tercer grupo de tipos con probable potencial oncogénico [29] (figura 4). Los VPH de bajo riesgo se asocian a condilomas y LSIL, mientras que los de alto riesgo se asocian a LSIL y HSIL, así como carcinomas y adenocarcinomas del tracto anogenital (cérvix, vagina, vulva, pene, escroto y ano).

Clasificación VPH	Tipos VPH
Bajo riesgo oncogénico	6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 y CP6108
Probable riesgo oncogénico	26, 53 y 66
Alto riesgo oncogénico	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, y 82

Figura 4. Clasificación de los tipos de VPH en función del riesgo oncogénico.

De todos los genotipos que afectan al epitelio cervical, el tipo 16 es el causante del 50-60% de todos los casos CCU, el tipo 18 del 10-20%, el tipo 45 del 4-8% y el tipo 31 del 1-3%. El genotipo viral es el cofactor más importante del proceso de la carcinogénesis, siendo el tipo 16 el más significativo [30]. En un estudio de 20.810 mujeres incluidas en un estudio de cohortes de VPH y CCU, las tasas de incidencia acumulada a los 10 años de CIN3 fueron del 17,2% en las infectadas por el tipo 16, del 13,6% en las infectadas por el tipo 18, pero

solamente del 3% en las mujeres con positividad para infección del VPH, pero negatividad a los tipos 16 o 18 [30]. La figura 5 resume el mecanismo fisiopatológico de oncogénesis en la infección por el VPH.

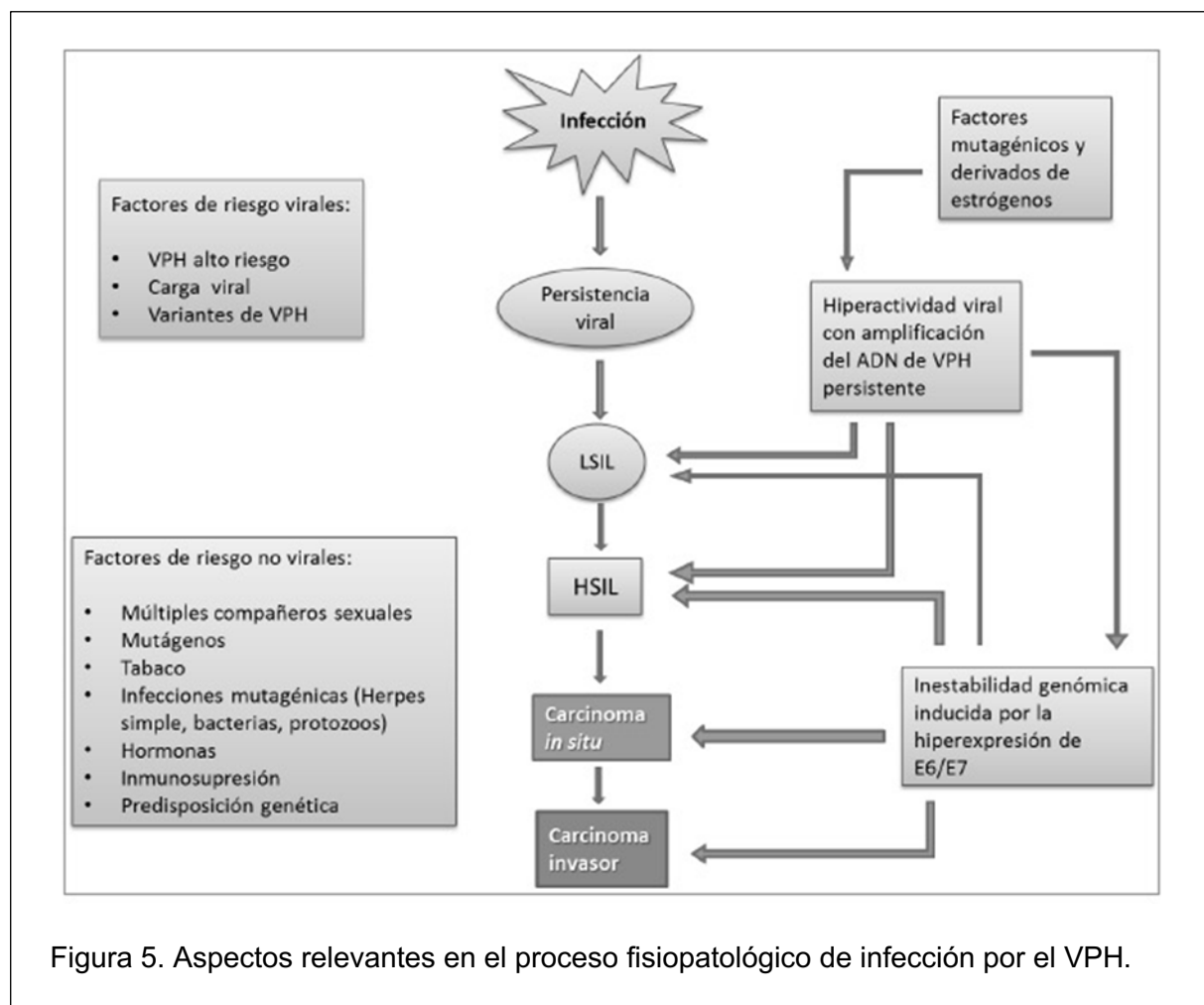


Figura 5. Aspectos relevantes en el proceso fisiopatológico de infección por el VPH.

1.2.3. Marcadores moleculares de infección por el VPH

1.2.3.1. Genotipado VPH 16/18

Numerosos estudios han proporcionado evidencia sólida y robusta avalando la capacidad oncogénica del genotipo 16, en primer lugar, y del genotipo 18, en segundo lugar como los de mayor capacidad oncogénica [29-34]. Por ello, la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos

(EE.UU.) (*Food and Drug Administration*, FDA) aprobó la utilización del genotipado del VPH 16/18, para el cribado en mujeres con infección por VPH de alto riesgo y citología normal.

En EEUU las guías de práctica clínica introducen el genotipado VPH 16/18 para seleccionar pacientes infectadas por VPH con mayor riesgo de lesión neoplásica cervical [35-37].

1.2.3.2. Sobreexpresión de ARNm de E6/E7

La sobreexpresión del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) de oncogenes virales E6 y E7 se ha propuesto como cribado del CCU en pacientes positivas a VPH y citología negativa, a fin de identificar aquellas pacientes infectadas con mayor riesgo de progresión y de presentación de lesiones subyacentes. El test de ARNm de E6 y E7 presentan una relación sensibilidad /especificidad para la detección de HSIL/CIN2-3 óptima por lo que sería útil en el cribado de CCU [38].

1.2.3.3. Expresión de la proteína p16 y Ki67

La proteína p16, producto del gen CDKN2A localizado en el cromosoma 9q21, es un inhibidor de quinasas dependientes de ciclina (CDK-4 y 6) que a su vez son las proteínas encargadas de fosforilar a la proteína del retinoblastoma (pRb). En condiciones normales, p16 provoca una hipofosforilación de la pRb y como consecuencia una disminución de la proliferación celular. Cuando un VPH de alto riesgo oncogénico se integra en el genoma de la célula, la proteína E2 provoca un aumento en la síntesis de E6 y E7, determinando un aumento de p53. E7 bloquea pRb lo que provoca que E2F quede libre y active la proliferación

celular, así como la síntesis de p16. Este aumento de la síntesis de p16 se puede detectar por técnicas de inmunohistoquímica (figura 6).

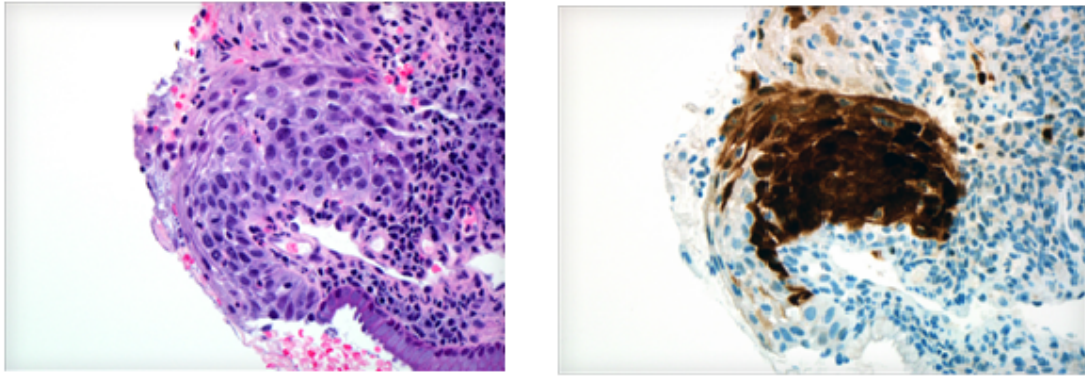


Figura 6. Tinción de la proteína p16^{INK4a} con CINTec® Histology Kit (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) cuya positividad aparece como una coloración del núcleo y del citoplasma de color marrónáceo en las células del epitelio cervical.

La proteína Ki67 es una molécula localizada en el núcleo celular de las células que se encuentran en fase activa de división celular (fase G1, S, G2 y mitosis). Se han desarrollado antígenos frente a esta proteína que permiten su cuantificación a través de un índice de proliferación, en función del grado y el porcentaje de reactividad para el antígeno nuclear. El antígeno más utilizado es el MIB-1.

Dado que los dos marcadores p16 y Ki67 se relacionan con la progresión de las lesiones y han sido aprobados para el cribado del CCU, la combinación de ambos puede mejorar la especificidad diagnóstica en las lesiones de bajo grado y en infecciones por VPH de alto riesgo. El kit CINTec® (Roche Diagnostics) combina la tinción de p16 y Ki67, por lo que se denomina tinción

dual, se puede utilizar tanto para citología como para estudio histológico cervical. Un estudio ha demostrado que la tinción dual mejora la especificidad y el valor predictivo positivo en comparación con la citología convencional en pacientes positivas para VPH de alto riesgo, sin alterar la sensibilidad para detectar lesiones CIN2 [39]. Asimismo, la tinción dual mejora la sensibilidad (por encima del 90%) y especificidad (hasta un 95%) respecto la citología clásica y al test del VPH como método de cribado primario en mujeres de más de 30 años de edad [40].

1.2.3.4. Proteínas codificadas por genes

La topoisomerasa 2 alfa (TOP 2A) es una proteína codificada por el gen TOP2A, cuya función consiste en la condensación de los cromosomas, separación de cromátidas y liberación de tensión de la torsión durante la transcripción y replicación del ADN. Se ha observado su sobreexpresión en diversas neoplasias como el CCU, pulmón, colon, área orofaríngea y esófago. Su uso de forma combinada con la proteína 2 del mantenimiento de los microsomos (MCM2) ha mostrado una especificidad muy alta, con buenos valores predictivos positivo y negativo para la diferenciación de lesiones del alto grado y metaplasia escamosa, y una buena reproducibilidad, sugiriendo un posible uso diagnóstico en la selección de pacientes con alteraciones citológicas de ASCUS y LSIL [41].

La survivina es una proteína codificada por el gen BIRC5, miembro de la familia de proteínas inhibidoras de la apoptosis, cuya expresión es inversamente proporcional a la diferenciación celular. En el CCU y lesiones precursoras está sobreexpresada [42], observándose una relación lineal con la gravedad de la

lesión. La survivina además es un factor predictor independiente de infección por VPH [43].

La proteína 5 del mantenimiento de los microsomas (MCM5) está codificada por el gen MCM5 que participa en la replicación del ADN. En el cuello de útero, se expresan con normalidad en células basales del epitelio escamoso, y sólo en condiciones de displasia se expresan en la mayoría de células de la superficie epitelial [44]. Se considera un biomarcador implicado en la carcinogénesis, independiente de la actividad viral.

La metilación de promotores genómicos es un mecanismo epigenético, no mutagénico y reversible, fundamental en el control de la expresión de genes implicados en el crecimiento, la diferenciación y muerte celular. La ausencia de metilación del ADN en un promotor genómico permite la plena expresión del gen, mientras que su metilación se correlaciona con su inactivación.

Entre todos los genes estudiados, CADM1 y MAL ha mostrado los resultados más interesantes, puesto que sus promotores parecen estar metilados en las mujeres VPH positivas con lesiones de alto grado.

La proporción de casos con metilación de CADM1 y MAL en la CIN aumenta de forma proporcional al grado de la lesión, sugiriendo que su determinación podría tener valor como marcador de riesgo de progresión [45,46].

1.3. Cribado del cáncer de cuello uterino y diagnóstico de las lesiones precursoras

El objetivo de un método de cribado es la detección del máximo número de pacientes que puedan sufrir una enfermedad, ante el mínimo de signos o aun estando asintomáticos. Para determinar si una enfermedad es tributaria de

estrategias de cribado, es importante conocer su historia natural, así como el hecho de que la detección precoz de la lesión pueda ser tratada. La finalidad del cribado de CCU, es detectar el máximo número de pacientes con lesiones cervicales premalignas e infecciones por VPH para reducir la incidencia y mortalidad del CCU.

Los programas de cribado poblacional para CCU varían de un país e incluso de una región a otra, pero tienen unos fundamentos biológicos comunes y vienen avalados por las diferentes guías locales y/o regionales de práctica clínica. Se recomienda que el cribado se realice únicamente con citología entre los 25 y 30 años de edad, mientras que entre los 30 y 65 años debe realizarse como opción preferente un test del VPH clínicamente validada cada 5 años. En este último grupo de pacientes también sería aceptable realizar el cribado con citología cada 3 años o bien cribado conjunto con citología y prueba de VPH cada 5 años (co-test). El momento de finalización o abandono del programa, se determinará por el hecho de haber sufrido o no un episodio de lesión intraepitelial y/o presentar un cribado inadecuado de más de 5 años. Solo se podrá finalizar una vez alcanzada la edad final de cribado con tres citologías consecutivas normales.

En Catalunya existe un cribado oportunista, con una población diana de los 25 años hasta los 65 años. Se recomienda iniciar el cribado a partir de los 25 años, y cuando se disponen de dos citologías con resultado negativo se puede continuar con intervalos de 3 años. En mujeres mayores de 40 años y con un cribado inadecuado (última citología de hace más de 5 años) se recomienda la realización simultánea de citología y detección del VPH.

Existen recomendaciones especiales para determinados grupos de pacientes. En las pacientes con antecedente de patología cervical de alto grado se recomienda un cribado prolongado de entre 10-20 años después de la resolución de la patología. En pacientes inmunodeprimidas, como las pacientes infectadas por el VIH, se aconseja realizar cribado a partir de los 21 años y citología y test del VPH a partir de los 30 años. Las recomendaciones en estas pacientes tienen en cuenta tanto la carga viral, así como la realización o no de tratamiento retroviral. De esta forma, en aquellas pacientes con unos linfocitos CD4 >200 o con tratamiento retroviral, se podrá hacer cribado cada 3 años; en el caso de CD4 <200 o sin tratamiento será necesario realizar un cribado normal.

1.3.1. Diagnóstico molecular de infección por VPH

Diversos estudios han analizado la capacidad de la determinación de secuencias genómicas de VPH de alto riesgo oncogénico para detectar lesiones premalignas o malignas *versus* la citología convencional. Dichos estudios concluyen que la detección del VPH es más sensible que la citología, aumentando la tasa de detección de HSIL/CIN2-3 o CCU, contribuyendo a una reducción de la incidencia de lesiones malignas [47-49]. La elevada sensibilidad se traduce en un mayor valor predictivo negativo, cercano al 100%, lo que supone que en el caso de un resultado negativo, la probabilidad de padecer una lesión HSIL/CIN2-3 subyacente en los próximos 6 años es muy baja, del 0,27%, inferior al 0,97% estimado para una citología negativa [50]. Ello permite espaciar de forma segura el programa de cribado en mujeres con un test negativo para el VPH de alto riesgo oncogénico. El test del VPH de alto riesgo sin citología complementaria puede ser suficientemente sensible como modalidad de cribado del CCU, ya en

un estudio de la cohorte de 331.818 mujeres mayores de 30 años, la incidencia acumulada de CCU a los 5 años con un test VPH negativo era menor que a los 3 años con citología negativa (3,8 *versus* 7,5 por 100.000 mujeres año) [51]. Sin embargo, este aumento de sensibilidad no se acompaña de una mayor especificidad. De hecho, el test del VPH presenta una especificidad de 4-6% menos que la citología, y una disminución del 10-20% del valor predictivo positivo [52,53], debido a la identificación de un gran número de casos con infección de VPH de alto riesgo que se resolverán sin desarrollar lesiones. Por otra parte, el test del VPH mejora la detección de adenocarcinoma cervical y su lesión precursora en comparación con la citología [2,51,54].

Entre los métodos de detección del ácido desoxirribonucleico (ADN) del VPH, cabe destacar la captación de híbridos, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y el ARN vírico.

1.3.1.1. Captación de híbridos

La captura de híbridos fue el primer test aprobado por la FDA en el año 2003. Se comercializa el kit Hybrid Capture 2® (HC2) y únicamente se aplica en células en suspensión, por lo que no es factible en muestras tisulares. En esta técnica, se efectúa una hibridación del ADN del VPH con sondas de ARN específicas, capturándose en compuesto híbrido con anticuerpos específicos marcados con sustancias luminiscentes produciéndose una señal amplificada [55]. Contiene 13 sondas para VPH de alto riesgo (tipos 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59 y 68) responsables del 90% de los CCU y 5 para VPH de bajo riesgo (tipos 6,11,42,43 y 44). No permite distinguir entre los diferentes genotipos virales, ni detectar la presencia de infecciones múltiples.

Presenta una sensibilidad cercana a la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) por lo que se considera una técnica de cribado muy adecuado [56].

1.3.1.2. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La PCR es una técnica muy sensible capaz de detectar ADN del virus, aunque sólo existan pocas copias, y se puede utilizar en cualquier tipo de muestra (células en suspensión, sobre portaobjetos y muestras histológicas). En la PCR de regiones de consenso, se amplifica una región con gran similitud entre todos los tipos de VPH y posteriormente, por métodos de hibridación específica, enzimáticos o de secuenciación de ADN, se realiza el genotipado específico del virus. La PCR específica está basada en el diseño específico de cebadores o *primers* para regiones diferenciales entre los diferentes VPH, de modo que se pueden amplificar genes específicos de un determinado tipo, subtipo o variante viral, lo que se asocia a una alta sensibilidad. Actualmente hay varios tests comercializados y aprobados por la FDA para el cribado del CCU, siendo el Cobas® 4800 HPV test uno de los más utilizados. Este método informa si la muestra es positiva o negativa para VPH de alto riesgo, y en caso positivo, identifica la presencia de VPH 16, VPH 18 y otros tipos de alto riesgo (31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66 o 68) [57].

1.3.1.3. Detección de ARN vírico

La detección del ARN mensajero (ARNm) de los oncogenes E6 y E7 es más específica que la detección del ADN viral porque refleja la integración genética viral al ADN celular. El test Aptima® HPV (Hologic Gen-Probe, San Diego, CA, USA), aprobado por la FDA, permite la detección de E6/E7 ARNm de

14 tipos de VPH de alto riesgo, y es una técnica validada para cribado primario del CCU [58], siendo útil también como marcador con valor pronóstico [59].

Las guías actuales de práctica clínica recomiendan el test del VPH para la detección de VPH de alto riesgo, a partir de los 30 años de edad, como herramienta de cribado primario, para la selección de mujeres con lesiones cervicales o para el seguimiento de pacientes tratadas. En la tabla 2 se describen las técnicas para la detección del VPH aprobadas por la FDA para el cribado poblacional.

Tabla 2. Pruebas de detección del HPV para el cribado del CCU aprobadas por la FDA

Prueba	Técnica	Genotipos virales
Captura de híbridos (HC2)	Amplificación señal ADN	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68
Cervista™ HPV HR	Amplificación señal ADN	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68
Cervista™ HPV HR 16/18	Amplificación señal ADN	16, 18
Cobas® 4800 HPV	PCR-DNA	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68
Aptima®	PCR-DNA (ARNm)	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68

1.3.2. Citología cervical

La citología cervical se basa en el estudio microscópico de células individuales procedentes del epitelio de revestimiento obtenidas mediante raspado o frotis cervical, valorando las alteraciones morfológicas (tamaño nuclear, cromatina, relación núcleo-citoplasma, desarrollo y maduración celular y atipia colocítica). La sensibilidad de la citología convencional para la detección de una lesión de alto grado (HSIL/CIN2-3) se sitúa alrededor del 50%, no superando el 80% en las mejores condiciones, siendo inferior en un 40% a las técnicas de diagnóstico

molecular [60]. La variabilidad del material obtenido en la toma, la calidad de la extensión citológica, la preservación de la muestra y la interpretación por parte del examinador son factores que explican la baja sensibilidad de la citología convencional. Se estima que un 70% de falsos negativos son debidos a problemas técnicos en la toma de muestras y el 30% restante a una interpretación citológica incorrecta [61]. Sin embargo, la especificidad de la citología convencional es elevada, dado que el diagnóstico citológico es un diagnóstico que viene determinado por las características morfológicas de la lesión, aunque dicha especificidad puede verse afectada en presencia de ASCUS [62].

La citología en medio líquido tiene ventajas respecto la citología convencional: la interpretación de los extendidos requiere menos tiempo, presenta una menor proporción de muestras insatisfactorias y se puede utilizar el material posteriormente para realizar técnicas moleculares o de inmunohistoquímica evitando una nueva toma [63]. El incremento de la sensibilidad respecto a la citología convencional es discreto, y sus principales inconvenientes se relacionan con un mayor tiempo de procesamiento, la necesidad de formación especializada para la interpretación de los estudios y aumento del coste.

1.3.3. Colposcopia

La técnica de la colposcopia, introducida en 1925, es bien conocida y sus características se han descrito ampliamente [64]. La observación directa con aumento del tracto genital inferior permite detectar cambios macroscópicos que pueden reflejar anomalías de la maduración y de la diferenciación celular. No obstante, para un diagnóstico colposcópico preciso de una neoplasia cervical se

requiere un conocimiento exhaustivo de sus características: tonalidad, intensidad, los bordes y el contorno superficial de las zonas acetoblancas, el patrón vascular y la tinción de yodo. Es preciso efectuar una biopsia de las zonas con características de cambios más graves, ya que el resultado histológico determinará la indicación del tratamiento [65]. La colposcopia es una técnica con una elevada sensibilidad (96%), pero con una baja especificidad (48%) [66]. Sin embargo, se ha estimado que la colposcopia podría no detectar lesiones de alto grado hasta en un 55% de los casos [67]. Actualmente se utiliza la clasificación de Río de Janeiro del 2011 de la Federación Internacional de Patología Cervical y Colposcopia (IFCPC) [68] para establecer el grado de los cambios observados en las lesiones.

1.3.4. Estudio histológico

El diagnóstico definitivo se basa en un diagnóstico histopatológico de las lesiones presentes en la biopsia cervical. Las características y los detalles técnicos del procedimiento son suficientemente conocidos, por lo que su descripción no es necesaria. A pesar de la buena correlación entre las lesiones citológicas y las histológicas, se ha observado que hasta un 20% de LSIL en realidad son lesiones de alto grado [69]. La limitación más importante del examen histológico es la moderada variabilidad inter e intraobservador, especialmente entre lesiones CIN1 y alteraciones reactivas, así como entre CIN2 y CIN3 [70].

1.4. Seguimiento y factores de riesgo de recidiva

El tratamiento para las pacientes con lesiones premalignas del cuello uterino persigue erradicar las lesiones y prevenir el desarrollo de un carcinoma invasor pero a la vez minimizar los efectos adversos y evitar el sobretratamiento.

Las distintas opciones terapéuticas incluyen el tratamiento escisional o conización cervical (asa diatérmica, bisturí con láser, bisturí frío) y el tratamiento destructivo (crioterapia, vaporización con láser de CO₂). Actualmente, el asa diatérmica es la técnica más ampliamente utilizada. Se utilizan diferentes acrónimos para designar el procedimiento como *loop electro-excision procedure* (LEEP) o *large loop excision of transformation zone* (LLETZ). Es una técnica sencilla, rápida de realizar y de bajo coste. Se pueden utilizar terminales con asas de diferente forma y tamaño. El asa elegida y el tipo de escisión deben adaptarse a las características de la lesión. Se recomienda realizar escisiones en una sola pieza evitando la fragmentación. En lesiones con afectación profunda del endocervix es preferible realizar una doble exéresis exocervical y endocervical (en sombrero de copa).

Se define enfermedad persistente o recidivante la detección de lesión o citología anómala después del tratamiento de la misma. Distintos estudios muestran como las pacientes tratadas por HSIL/CIN2-3 presentan mayor riesgo de CCU que la población general, y dicho riesgo persiste durante 20 años [71,72]. Un correcto seguimiento tras el tratamiento quirúrgico inicial, permite un diagnóstico precoz de persistencia o recidiva de enfermedad evitando la progresión a cáncer invasor.

Respecto al estado de los márgenes quirúrgicos como factor de riesgo de recidiva, en un metaanálisis de 66 estudios con datos de 35.109 mujeres, el RR

de enfermedad post-tratamiento de cualquier grado era de 5,47 aumentando a 6,09 para HSIL/CIN2-3, en el caso en que la exéresis hubiera sido incompleta comparado con el grupo de referencia de exéresis completa [73].

En otro metaanálisis se demuestra que el riesgo de recidiva es mayor si está comprometido el margen endocervical (RR 16,3) respecto el margen exocervical (RR 7,2%) y aún mayor si ambos márgenes (exocervical y endocervical) están afectados (RR 18,9) [74]. A pesar de la fuerte asociación entre la afectación del margen endocervical y recidiva, dado el pobre valor predictivo del mismo (cerca al 25%), la presencia de un margen endocervical positivo no es un criterio absoluto para indicar de una segunda conización [75]. Asimismo, el valor pronóstico de los márgenes quirúrgicos positivos es inferior al test del VPH durante el control postoperatorio [76].

El valor pronóstico del legrado endocervical (LEC), tras una conización cervical inicial es escaso [77]. Sin embargo, en pacientes que tras la conización se les ha realizado un LEC con resultado positivo o con un margen quirúrgico afectado por la lesión (sobre todo en referencia al margen endocervical), el seguimiento debe ser más exhaustivo [35,78] tal como preconizan las recomendaciones de la Española de Patología Cervical y Colposcopia (AEPCC) [79].

En una proporción de pacientes tratadas por HSIL/CIN2-3 permanece la infección por VPH de alto riesgo [80,81]. Dicha infección no sólo es la causa de persistencia de las lesiones cervicales de alto grado, sino también de la aparición de segundas lesiones tras el tratamiento. La determinación de VPH DNA también es el mejor método pronóstico para predecir la recidiva de CIN en mujeres tratadas por CIN de alto grado [82].

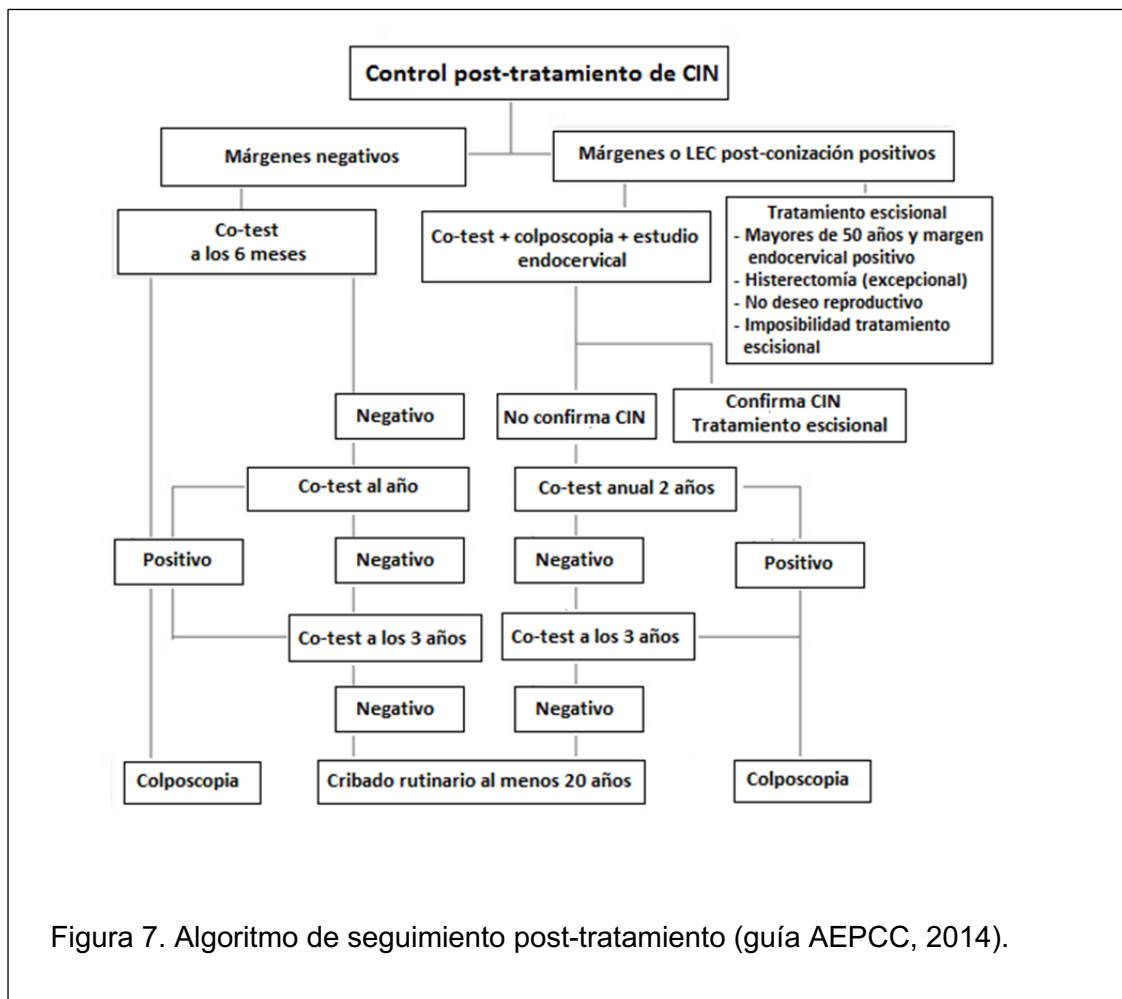
La exéresis total de la lesión consigue la negativización del VPH hasta en un 70% de las pacientes a los 6-12 meses después del tratamiento [83]. La negativización del test del VPH confirma la efectividad de la conización [84-86]. Por otra parte, se ha destacado la importancia del genotipado como marcador de riesgo de recidiva tras una conización [87,88]. También existe evidencia de que tanto el co-test (citología convencional combinada con el test del VPH) como el test del VPH presentan mayor sensibilidad y similar especificidad para detección de enfermedad residual que la citología convencional y que por tanto son más sensibles que la citología sola para el seguimiento de las pacientes [89]. Una prueba VPH negativa supone un riesgo extremadamente bajo de persistencia o recidiva (valor predictivo negativo próximo al 100%) por lo que podría omitirse el control a los 12 meses tras el tratamiento y retrasarse hasta 24 meses, evitando así visitas innecesarias [90]. Por todo ello, el test del VPH se considera la prueba estándar para el seguimiento de las pacientes [35,79].

1.5. Recomendaciones actuales

Las recomendaciones referentes al seguimiento post-tratamiento de la guía de la AEPC [79] se resumen en la figura 7.

En caso de márgenes quirúrgicos negativos, se recomienda un primer co-test a los 6 meses y si éste fuera negativo, un segundo co-test a los 24 meses. Si este volviera a resultar negativo se recomendaría nuevo control con co-test a los 3 años y posterior cribado rutinario durante al menos 20 años, independientemente de la edad. Por el contrario, frente a márgenes quirúrgicos o LEC post-conización positivos, se recomienda adelantar un primer control a los 4 meses con citología, colposcopia y estudio del endocérnix. Si los resultados

fueran negativos, se recomienda repetir el co-test a los 12 y 24 meses y en caso de que fueran ambos negativos, practicar un co-test a los 3 años.



Capítulo 2. Justificación de la tesis

La prevención del CCU se basa en el diagnóstico y tratamiento de las lesiones precancerosas cervicales.

La conización cervical es el tratamiento 'estándar' de las lesiones cervicales premalignas, que permite la curación de la enfermedad en 85% de los casos. Sin embargo, aproximadamente un 15% de las pacientes tratadas presentarán enfermedad residual o recidivante, por lo que se requiere un control estricto tras el tratamiento.

Actualmente, dicho seguimiento se basa en la realización de una citología y test del VPH a los 6 y 24 meses tras la cirugía.

Se sabe que la lesión intraepitelial cervical se localiza en la zona de transformación anormal. Mediante su exéresis, se consigue la curación tanto de la lesión como de la infección por VPH en la mayoría de los casos. Esto sugiere que la infección se localiza también en la zona de transformación [83,84].

Por lo tanto, en mujeres a las que se les realiza una conización cervical con la exéresis completa de la lesión, el test del VPH realizado intraoperatoriamente, inmediatamente después de la cirugía, resultaría negativo y, en caso contrario, positivo si la extirpación hubiera sido incompleta.

Por consiguiente, poder determinar en el mismo acto operatorio si la exéresis de la lesión ha sido completa o incompleta sería una cuestión clínicamente muy relevante, por las implicaciones pronósticas de este diagnóstico. Una detección precoz de enfermedad persistente o recidivante nos permitiría no retrasar segundos tratamientos y en pacientes de bajo riesgo de recidiva se evitarían visitas innecesarias así como una disminución del stress emocional.

Capítulo 3. Hipótesis y objetivos

3.1 Hipótesis

La hipótesis de trabajo establecida fue la siguiente: el resultado del test del VPH realizado intraoperatoriamente durante el procedimiento de conización cervical tiene la misma utilidad desde el punto de vista diagnóstico y pronóstico que el test del VPH realizado a los 6 meses después de dicha intervención en pacientes con diagnóstico de lesiones cervicales de alto grado (HSIL/CIN2-3).

Por consiguiente, la hipótesis nula refutaría que el test del VPH intraoperatorio tuviera la misma utilidad diagnóstica y pronóstica que el mismo test efectuado después de 6 meses de la conización.

3.2 Objetivos

3.1. Objetivo principal

El objetivo principal fue comparar la precisión diagnóstica (sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo) del test del VPH intraoperatorio (VPH-IOP) efectuado inmediatamente tras la conización cervical y del test del VPH efectuado a los 6 meses, en pacientes sometidas a conización por lesiones de alto grado (HSIL/CIN2-3), para el diagnóstico de recidiva de enfermedad de alto grado a los 24 meses de seguimiento.

3.2. Objetivos secundarios

- Determinar la tasa de recidiva de lesiones de alto grado y bajo grado a los 24 meses de la intervención.
- Determinar si existe una asociación entre la recidiva de lesiones de alto grado y bajo grado y el resultado del test VPH-IOP y del test del VPH a los 6 meses para cualquier genotipo de VPH de alto riesgo oncogénico.

- Determinar si existe una asociación entre la recidiva de lesiones de alto grado y algún genotipo específico de alto riesgo oncológico detectado tanto en el test del VPH-IOP como en test del VPH a los 6 meses.
- Determinar si existe una asociación entre la recidiva de lesiones de alto grado y la coincidencia de los genotipos del VPH preoperatorio y postoperatorio.
- Determinar si existe una asociación entre la recidiva de lesiones de alto grado y bajo grado y los factores histopatológicos, incluyendo los márgenes quirúrgicos y el resultado del LEC post-conización.
- Determinar si existe una asociación entre la recidiva de lesiones de alto grado y bajo grado y la edad de la paciente.
- Determinar si existe una asociación entre la recidiva de lesiones de alto grado y bajo grado y el hábito tabáquico.
- Determinar si existe una asociación entre la recidiva de lesiones de alto grado y bajo grado y la presencia de cambios colposcópicos mayores.
- Evaluar el impacto económico, cuantificado en términos de costes directos que supondría el uso del test VPH-IOP respecto al manejo estándar actual.

Capítulo 4. Pacientes y métodos

4.1. Diseño

Desde junio de 2015 a junio de 2019 se llevó a cabo un estudio de cohortes prospectivo unicéntrico en pacientes con diagnóstico de HSIL/CIN2-3 candidatas a tratamiento mediante conización cervical en la Unidad de Patología Cervical y Tracto Genital Inferior del Departamento de Obstetricia y Ginecología del Hospital Universitari Vall d'Hebron de Barcelona. Las pacientes incluidas en esta cohorte habían sido remitidas consecutivamente para tratamiento al Hospital Universitari Vall d'Hebron desde los Servicios de Atención a la Salud Sexual y Reproductiva (ASSIR) correspondientes al Área de Barcelona Nord (Muntanya). El Hospital Universitari Vall d'Hebron es un centro de referencia en el tratamiento de lesiones preinvasivas e invasivas de cáncer genital del área de Barcelona Nord para una población de 400.000 habitantes.

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación con Medicamentos y Comisión de Proyectos de Investigación del Hospital Universitari Vall d'Hebron (proyecto de investigación PR(AMI)29/2015, el 17 de junio de 2015) (anexo). Todas las participantes fueron informadas con detalle de las características del estudio y dieron su consentimiento por escrito para participar en el mismo.

4.2 Participantes

Los criterios de inclusión eran los siguientes: 1) pacientes de 25 o más años de edad diagnosticadas de HSIL/CIN2-3 en la biopsia guiada por colposcopia y/o de HSIL en el LEC durante los 3 meses previos a la visita de reclutamiento, candidatas a tratamiento mediante conización cervical y/o confirmación histológica de HSIL/CIN2-3 en el estudio histológico de la pieza quirúrgica y 2)

firma del consentimiento informado. Se excluyeron las pacientes con antecedentes de HSIL/CIN2-3 tratado en los últimos 5 años, mujeres gestantes, pacientes con carcinoma invasivo confirmado en el estudio histopatológico de la pieza quirúrgica y pacientes con inmunodeficiencia adquirida o congénita.

4.3. Procedimientos del estudio

4.3.1. Visita basal

En la visita basal tras la firma del consentimiento informado y recogida de los datos de la historia clínica, se procedía a tomar una muestra cervical para test del VPH (preoperatorio) si no se había realizado en el ASSIR, previamente. En la misma visita se practicaba una colposcopia según la técnica habitual en la práctica clínica (colposcopio Olympus OCS 500), utilizándose la clasificación de Río de Janeiro del 2011 de la IFCPC [68] para establecer el grado de las lesiones (tabla 3).

Tabla 3. Clasificación de Río de Janeiro de 2011 de la IFCPC [68]

Diagnóstico	Características	
Grado I	Epitelio acetoblanco fino, de aparición lenta y bordes geográficos, irregulares	Punteado fino Mosaico fino
Grado II	Epitelio acetoblanco grueso, de aparición rápida. Criptas glandulares, irregulares e invaginadas	Punteado grueso Mosaico grueso Bordes definidos Signo Borde Interno (blanco sobre blanco) Signo de la cresta (imágenes acetoblanco sobre elevadas)
Inespecíficos	Leucoplasia (hiperqueratosis). Erosión. Test de Schiller (Iugol): yodo negatividad o positividad	
Sospecha de invasión	Vasos atípicos. Signos adicionales: vasos frágiles, superficie irregular, ulceración, necrosis, tumor exofítico.	

Principios generales: localización de la lesión dentro o fuera de la ZT y tamaño de lesión valorando Número de cuadrantes afectados y porcentaje de cérvix afectado

En la visita basal se programaba la conización cervical para llevarse a cabo en las 6 semanas siguientes.

4.3.2. Conización cervical

La conización cervical se efectuaba de forma ambulatoria según técnica convencional. Se delimita el área anormal mediante ácido acético y solución de lugol. Posteriormente, se aplican 2 mL de mepivacaína al 2% en cada uno de los cuadrantes del cérvix. En algunos casos seleccionados (pacientes con ansiedad, cérvix hipertrófico, pacientes con alguna comorbilidad o pacientes con prolapso de las paredes laterales vaginales que dificultan técnicamente la cirugía), se realiza bajo anestesia general. El tamaño del asa se selecciona en función del tamaño del cérvix y de la zona de transformación. Se extirpa toda la zona de transformación anormal, seguido de coagulación del lecho quirúrgico mediante bola de coagulación diatérmica. Inmediatamente después, se tomaba una muestra cervical para la determinación del VPH-IOP. La cirugía concluye con la toma de una muestra endocervical con una legra de Novak. La pieza obtenida se secciona para exponer el canal cervical y es fijada en un medio de formol al 10%. Es procesada de forma estandarizada: Tinción con tinta china de la superficie de la pieza, con inclusión en parafina, con la obtención de un bloque del que se examinan un mínimo de 12 secciones de los 4 cuadrantes. Se considera un margen afecto cuando la lesión alcanza el margen y/o si se encuentra a menos de 1 mm del mismo.

4.3.3 Seguimiento tras la conización

El seguimiento tras la conización se realizaba según el estado de los márgenes

quirúrgicos. Si estos eran negativos, se programaban las visitas de seguimiento a los 6, 12 y 24 meses. En las visitas a los 6, 12 y 24 meses se realizaba citología cervical, test del VPH colposcopia. Si los márgenes quirúrgicos eran positivos, se incluía una visita adicional a los 4 meses de la intervención, en la que realizaba una citología. Durante el seguimiento, en caso de citología anormal y/o colposcopia anormal se procede la realización de una biopsia dirigida y/o LEC. El protocolo de seguimiento se detalla en la figura 8.

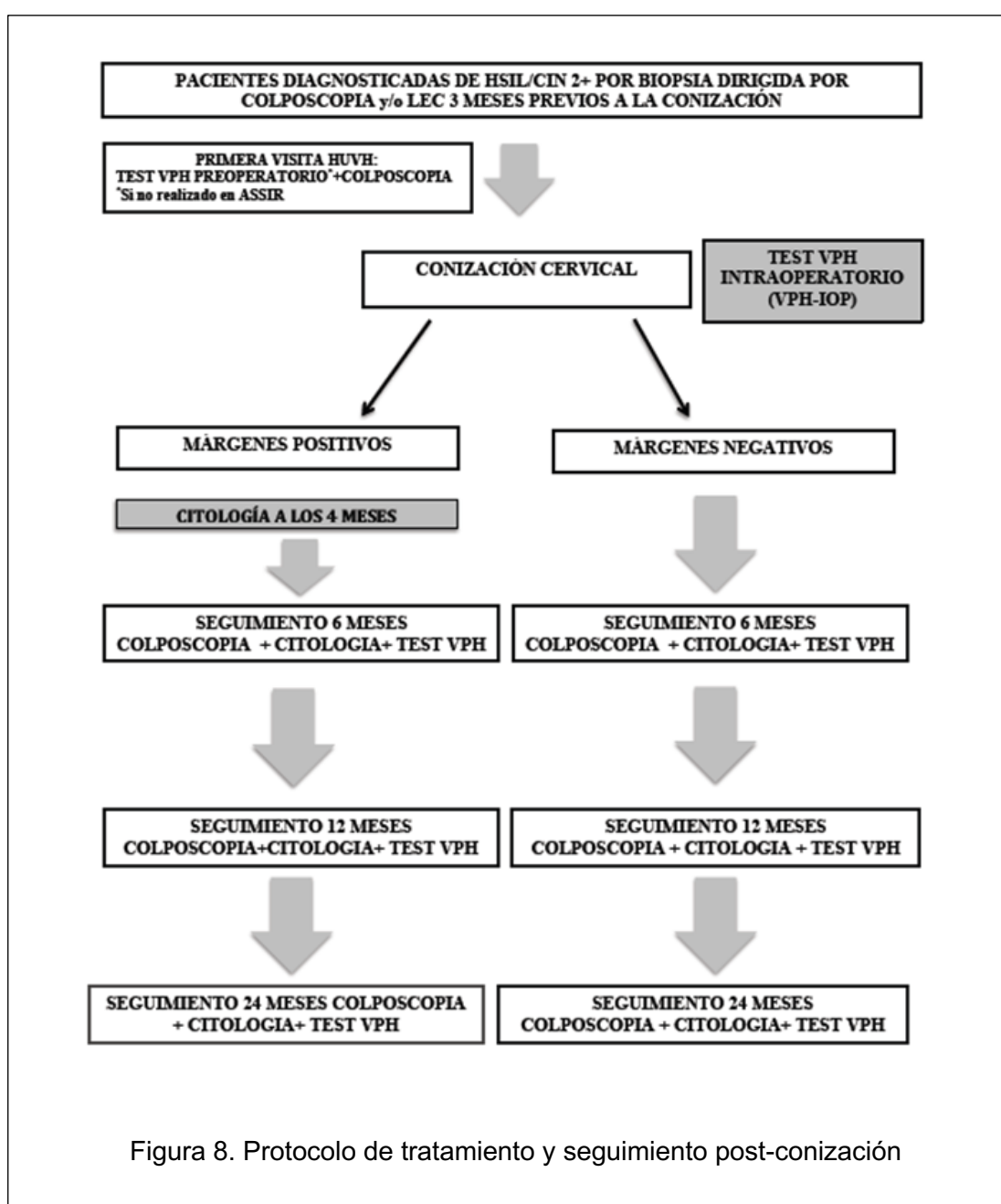


Figura 8. Protocolo de tratamiento y seguimiento post-conización

El estudio finalizaba en las siguientes circunstancias: tras 2 años de seguimiento, cuando se diagnosticaba un carcinoma cervical invasor, ya fuere en el tratamiento inicial (carcinoma oculto) o durante el seguimiento, y tras una segunda conización. Al término del estudio, las pacientes que tras de 2 años de seguimiento habían tenido todos los controles normales eran dadas de alta de la Unidad de Patología del Tracto Genital Inferior y derivadas al centro de Atención Primaria correspondiente. Las pacientes restantes, es decir, aquellas diagnosticadas de carcinoma invasor, que han requerido una segunda conización o que presentan alguna alteración citológica o test del VPH positivo continúan el seguimiento en nuestra unidad.

4.4. Técnicas diagnósticas

4.4.1. Citología y test del VPH

El diagnóstico se efectuaba a partir de dos muestras cervicales, una muestra para extensión en un portaobjetos para el estudio citológico y otra muestra para el test del VPH. Los análisis se efectuaron en el Servicio de Anatomía Patológica y Microbiología del Hospital Universitari Vall d'Hebron, siguiendo el sistema de clasificación de Bethesda de las citologías cervicales [10].

Para el test del VPH se utilizó una doble técnica. En primer lugar la técnica de captación de híbridos (HC2) Hybrid Capture 2® (Digene, Gaithersburg, MD, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se trata de una técnica basada en un proceso de hibridación molecular mediante una sonda de ARN cuya reacción se detecta por quimioluminiscencia. Si se obtenía un resultado positivo, se proseguía con el genotipado mediante la técnica CLART® HPV2 (Genomica, USA) que utiliza la PCR multiplex y posterior visualización con arrays de baja

densidad mediante la tecnología CLART® [91], Este procedimiento detecta 35 genotipos del VPH, incluyendo los de bajo riesgo (6, 11, 26, 40,42, 43, 44, 53, 54, 61, 62, 66, 70, 71, 72, 81, 83, 84, 85, 89) y de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82).

4.4.2. Estudio histológico

Si durante la colposcopia se observaban zonas anormales o sospechosas se procedía a efectuar una o varias biopsias dirigidas, en particular de las zona(s) en la(s) que los cambios colposcópicos eran de mayor gravedad y próximos a UEC, con la profundidad necesaria para obtener estroma. La muestra se depositaba en un frasco y se conservaba en formol al 10%. Para la clasificación histológica de las lesiones se utilizó la clasificación LAST [7], agrupándose en lesiones LSIL/CIN1 y lesiones HSIL/CIN2-3.

4.5. Diagnóstico de recidiva

Se estableció un diagnóstico de recidiva de una lesión de alto grado cuando existía confirmación histológica de HSIL/CIN2-3 en la biopsia guiada por colposcopia durante el seguimiento y/o el diagnóstico de HSIL en el LEC durante el seguimiento y/o confirmación histológica en el estudio histológico de la pieza quirúrgica de una segunda conización en aquellas pacientes con citología HSIL sin diagnóstico histológico de HSIL/CIN2-3 por biopsia durante el seguimiento. La recidiva de una lesión de bajo grado se diagnosticaba en las pacientes que presentaban una citología ASCUS con test VPH de alto riesgo oncogénico positivo o LSIL y/o una biopsia LSIL/CIN1 durante el seguimiento.

4.6. Segunda conización

El criterio para la realización de una segunda conización era una biopsia guiada por colposcopia compatible con HSIL/CIN2-3 y/o un LEC positivo para HSIL. La recidiva de bajo grado no era un criterio para una segunda conización.

4.7. Variables del estudio

Las variables del estudio correspondientes a los datos clínicos, resultados de la conización y procedimientos efectuados en la visita basal y durante el seguimiento se detallan en la tabla 4.

Tabla 4. Descripción de las variables del estudio

Datos demográficos y clínicos	<ul style="list-style-type: none"> - <u>Edad</u>: como variable continua y < 40 años y ≥ 40 años. - <u>Tabaquismo</u>: sí/no. - <u>Historia de vacunación del VPH</u>: no vacunada o vacunación incompleta, vacuna bivalente, tetravalente, nonavalente.
Resultados de la cirugía	<ul style="list-style-type: none"> - <u>Estado de los márgenes</u>: no valorable/no consta, ambos márgenes libres de lesión, margen exocervical positivo, margen endocervical positivo, ambos márgenes positivos. - <u>Diagnóstico histológico</u>: no valorable, negativo, LSIL/CIN1, HSIL/CIN2-3, adenocarcinoma in situ, carcinoma microinvasor o adenocarcinoma microinvasor. - <u>Legrado endocervical</u>: no valorable, negativo, LSIL, HSIL.
Resultados de otras técnicas	<ul style="list-style-type: none"> - <u>Citología</u>: no valorable, negativa o inflamatoria, LSIL o ASCUS. HSIL o AGUS o ASC-H o carcinoma in situ. - <u>Colposcopia</u>: adecuada/no adecuada, ZT tipo 1, tipo 2, tipo 3, resultado normal, cambios menores, cambios mayores. - <u>Test del VPH</u>: positivo o negativo (HC2 y CLART®) - <u>Biopsia</u>: no valorable/no realizada, negativa, LSIL/CIN1, HSIL/CIN2-3, adenocarcinoma in situ, carcinoma microinvasor o adenocarcinoma microinvasor. - <u>Segunda conización</u>: practicada o no practicada.

4.8. Análisis estadístico

En base a una tasa de recidiva de HSIL/CIN2-3 a los 24 meses del 15% tomando el valor intermedio de acuerdo con datos publicados en la literatura que sitúan el rango de recidiva entre un 5% y un 25% [80,86,87,90], se hizo el cálculo del tamaño muestral aceptando un error alfa de 0,05 y un error beta de 0,20, dando como resultado un total de 265 pacientes.

Se ha realizado un análisis descriptivo de las características clínicas, de los resultados de las diferentes exploraciones (colposcopia, citología, biopsia) y diagnósticos histopatológicos definitivos. Las variables categóricas se expresan como números absolutos y porcentajes, y las variables cuantitativas como medias y desviaciones estándar (DE). La asociación entre los factores histológicos (márgenes de la conización) o los resultados del test del VPH y la enfermedad residual o recidivante se ha analizado mediante las pruebas de Chi Cuadrado, el test exacto de Fisher, la prueba U de Mann-Whitney, una ANOVA o un test de Kruskal-Wallis en función de las variable y número de categorías analizadas. El riesgo de recidiva de lesiones de alto grado y bajo grado en función del resultado del test del VPH-IOP y del test del VPH a los 6 meses se estimó mediante una regresión de Cox univariante, calculándose los cocientes de riesgos instantáneos (*hazard ratio*, HR) y los intervalos de confianza (IC) del 95%. Se utilizó el método de Kaplan-Meier para la estimación de la supervivencia libre de recidiva de alto y bajo grado durante el seguimiento. La precisión diagnóstica de estas pruebas del VPH-IOP y VPH a los 6 meses se ha evaluado mediante el cálculo de la sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos (VPP y VPN). Para la estimación de los costes directos de una paciente sometida a conización cervical y seguimiento de acuerdo con el

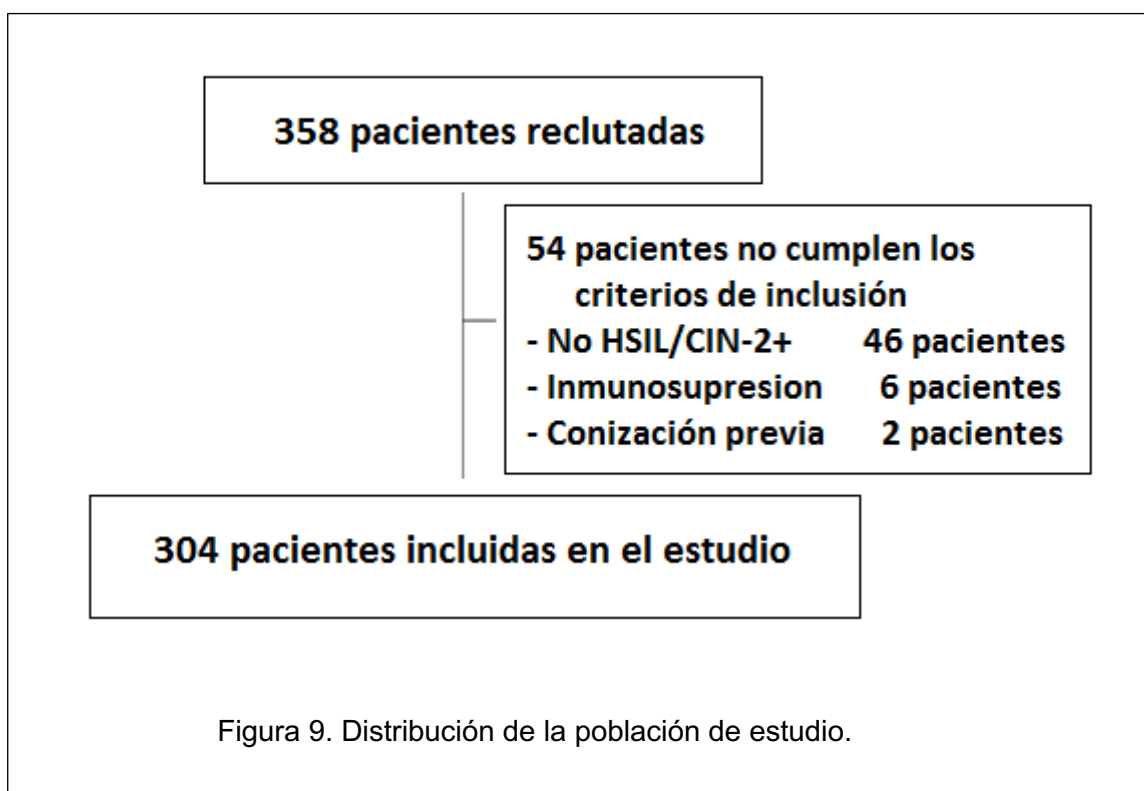
protocolo estándar (visita y control a los 6 meses) o con la estrategia de incorporar la determinación del VPH-IOP, se tomaron como referencia el coste por unidades del Institut Català de la Salut (ICS) correspondientes al año 2019 y que se aplican en la red centros de la sanidad pública de Catalunya.

Se ha aceptado un valor de la $P < 0,05$ como estadísticamente significativo y se ha utilizado el programa estadístico "R" (R versión 3.6.1) (R Foundation for Statistical Computing) para el análisis estadístico de los datos.

Capítulo 5. Resultados

5.1. Características de la población de estudio

Un total de 358 pacientes con diagnóstico citológico de HSIL y/o HSIL/CIN2-3 por biopsia fueron remitidas a Unidad de Patología Cervical y Tracto Genital Inferior del Departamento de Obstetricia y Ginecología del Hospital Universitari Vall d'Hebron durante el periodo de reclutamiento (junio de 2015 a junio de 2018). Se excluyeron 54 (15,1%) pacientes por no cumplir los criterios de inclusión, de modo que la población de estudio estaba formada por 304 pacientes (figura 9).



La media (DE) de edad de las pacientes incluidas en el estudio era de 39 (9,3) años. El 33,6% eran fumadoras en el momento del diagnóstico y el 41% estaban vacunadas frente al VPH (vacuna bivalente 4,6%, tetravalente y/o

nonavalente (36,4%). El momento de la vacunación incluía tanto a pacientes vacunadas previamente al tratamiento como durante el seguimiento.

5.2. Características de las lesiones al diagnóstico

Respecto a los hallazgos colposcópicos en el momento del diagnóstico, en un 4,3% (n = 13) la exploración no fue adecuada. En un 43,4% (n = 132) la ZT era de tipo 1, en un 32,6 % (n = 99) de tipo 2 y en el 24% (n = 73) restante de tipo 3. Se observaron cambios mayores en un 47,7% (n = 145) de las pacientes.

En los datos de la citología, las lesiones HSIL/CIN2-3 de las pacientes incluidas en el estudio provenían de una citología HSIL en un 82,5% (n = 251) de los casos, aunque en un 17,4% (n = 53) la citología previa correspondía a LSIL, ASCUS o se había informado como normal.

De las 304 incluidas en el estudio, únicamente en 284 pacientes (93,4%) se había realizado biopsia previa a la conización mientras que en las 20 pacientes restantes la confirmación histológica se llevó a cabo por el examen de la pieza quirúrgica. De las pacientes en las que se había efectuado una biopsia previa, el 95,1% (n = 270) de las lesiones eran HSIL/CIN2-3, el 4,9% (n = 14) eran LSIL/CIN1.

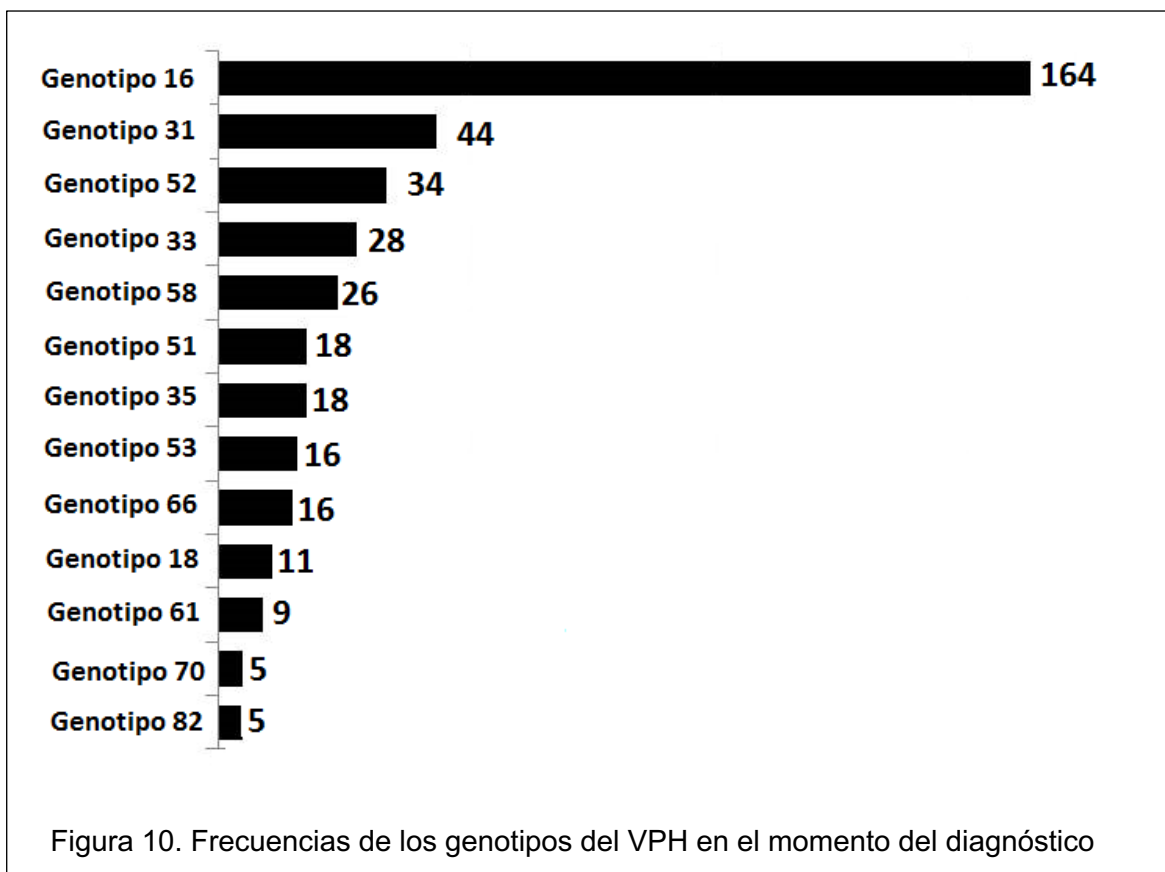
En 164 pacientes (53,9%) se practicó un LEC previo a la conización, siendo el resultado normal en 57,3% (n = 94). En un 5,5% (n = 9) y en un 37,2% (n = 61), el resultado era compatible con LSIL y HSIL, respectivamente.

En la tabla 5 se resumen las características de las lesiones en el momento del diagnóstico.

El 98% (n = 294) de las pacientes eran positivas para el VPH, con un 59,9% (n = 164) con genotipo 16 positivo (figura 10).

Tabla 5. Resultados de la colposcopia, citología, test del HPV, biopsia cervical y legrado endocervical previos a la conización.

Hallazgos	Número (%)	Intervalo de confianza del 95%
Colposcopia		
Adecuada	291 (95,7)	92,8 a 97,7
Inadecuada	13 (4,5)	2,3 a 7,2
Diagnóstico		
Normal	44 (14,5)	10,7 a 18,9
Cambios menores	115 (37,8)	32,4 a 43,5
Cambios mayores	145 (47,7)	42 a 53,5
Zona de transformación (ZT)		
Tipo 1	132 (43,4)	37,8 a 49,2
Tipo 2	99 (32,6)	27,3 a 38,1
Tipo 3	73 (24)	19,3 a 29,2
Citología		
Normal	5 (1,6)	0,5 a 3,8
ASCUS/LSIL	48 (15,8)	11,9 a 20,4
HSIL	251 (82,5)	77,1 a 86,1
Test del HPV		
Positivo	294 (96,7)	95,7 a 99,3
Negativo	6 (2,0)	0,7 a 4,3
Biopsia cervical		
Normal	5 (1,7)	0,6 a 4,1
CIN1	9 (3,2)	1,5 a 4,9
CIN2	191 (67,3)	61,5 a 72,7
CIN3	79 (27,8)	22,4 a 33
Legrado endocervical		
Normal	94 (57,3)	49,4 a 65
LSIL	9 (5,5)	2,5 a 10,2
HSIL	61 (37,2)	29,8 a 45,1



5.3. Características anatomopatológicas del espécimen quirúrgico

De la población total de 304 pacientes, en 203 pacientes (66,8%) el estudio histopatológico del espécimen obtenido por conización confirmó el diagnóstico histológico de HSIL/CIN2-3. En 39 pacientes (12,8%) el diagnóstico era compatible con un LSIL/CIN1 y finalmente en 44 (14,5%) no se observó ninguna lesión histológica en la pieza de la conización.

En relación a los márgenes quirúrgicos, se documentaron márgenes positivos en 66 pacientes (21,7%), siendo únicamente exocervical en 7 (2,3%), endocervical en 49 (16,1%) y ambos (endocervical y exocervical) en 10 (3,3%). De las 66 pacientes con compromiso de los márgenes quirúrgicos, en 2

pacientes (3%) el resultado histológico era LSIL/CIN1 y en 64 (97%) fue HSIL/CIN2-3.

En 301 pacientes (99,01%) se realizó un LEC post-conización, con resultados no valorables en 54 (17,94%), normales en 235 (78,1%), compatible con LSIL en 1 (0,3%) y compatible con HSIL en 11 (3,7%).

Los resultados obtenidos en el examen de la pieza quirúrgica se resumen en la tabla 6.

Tabla 6. Resultados de estudio histopatológico de la pieza quirúrgica post-conización

Hallazgos	Número (%)	Intervalo de confianza del 95%
Estudio histopatológico		
Normal	14 (14,5)	10,7 a 18,9
CIN1	39 (12,8)	9,3 a 17,1
CIN2	146 (48)	42,3 a 53,8
CIN3	75 (24,7)	19,9 a 29,9
Márgenes quirúrgicos		
No afectos	238 (78,3)	73 a 82,8
Afectación exocervical	7 (2,3)	0,9 a 4,7
Afectación endocervical	49 (16,1)	12,2 a 20,7
Afectación exocervical + endocervical	10 (3,3)	1,6 a 6
Márgenes quirúrgicos afectos		
CIN1	2 (3)	0,4 a 10,5
CIN2	30 (45,5)	33,1 a 58,2
CIN3	34 (51,5)	38,9 a 64
LEC post-conización		
No valorable	54 (17,9%)	13,8 a 22,8
Normal	235 (78,1)	73 a 82,6
LSIL	1 (0,3)	0 a 1,8
HSIL	11 (3,7)	1,8 a 6,4
Test VPH IOP		
Positivo	70 (23,2)	18,5 a 28,4
Negativo	232 (76,8)	71,6 a 81,5

5.4. Resultados del objetivo principal: precisión diagnóstica del test del VPH-IOP y del test del VPH a los 6 meses para el diagnóstico de recidiva de enfermedad de alto grado a los 24 meses

Todas las pacientes que presentaron una recidiva de alto grado (n = 19) durante el seguimiento, tenían un test del VPH-IOP positivo, mientras que 2 pacientes con diagnóstico de recidiva de alto grado tenían un test del VPH negativo a los 6 meses de la conización. En la tabla 7 se presentan los datos de sensibilidad, especificidad y valores predictivos para ambos tests, que presentan un buen rendimiento diagnóstico. Además, el solapamiento de los IC de ambas pruebas sugiere que su precisión diagnóstica es similar y que las diferencias halladas en la sensibilidad, especificidad, VPP y VPN han podido ser debidas al azar.

Tabla 7. Precisión diagnóstica del test del VPH-IOP y del test del VPH a los 6 meses de la conización para el diagnóstico de recidiva de alto grado a los 24 meses del seguimiento

Test del VPH	Sensibilidad, % (IC del 95%)	Especificidad, % (IC del 95%)	Valor predictivo positivo, % (IC del 95%)	Valor predictivo negativo, % (IC del 95%)
IOP tras la conización	100 (82,35-100)	81,95 (77,86-86,28)	27 (17,2-39,1)	100 (98,42-100)
A los 6 meses	86,67 (59,54-98,34)	77,9 (72,44-82,73)	18,06 (9,98-28,89)	99,05 (96,61-99,88)

5.5. Resultados de los objetivos secundarios

5.5.1. Tasa de recidiva de lesiones de alto y bajo grado a los 24 meses

De las 304 pacientes incluidas en el estudio, en 265 (87%) se pudo realizar un seguimiento completo a los 6,12 y 24 meses tras la intervención. Un total de 39 pacientes (13%) no acudieron a alguna de las visitas del seguimiento. La duración media (DE) del seguimiento fue de 1,7 (0,7 años) (IC del 95% 1,6-1,7). Durante este periodo se detectaron 19 casos (6,2%) de recidiva de lesión de alto grado y 45 (14,8%) de bajo grado, lo que corresponde a una tasa de recidiva de alto grado de 41,84 por 1.000 mujeres-año (IC del 95% 25,19-65,34) y de recidiva de bajo grado de 99,10 por 1.000 mujeres-año (IC del 95% 72,28-13,26). El tiempo de supervivencia libre de enfermedad desde la intervención según el método de Kaplan-Meier se muestra en las figuras 11 y 12.

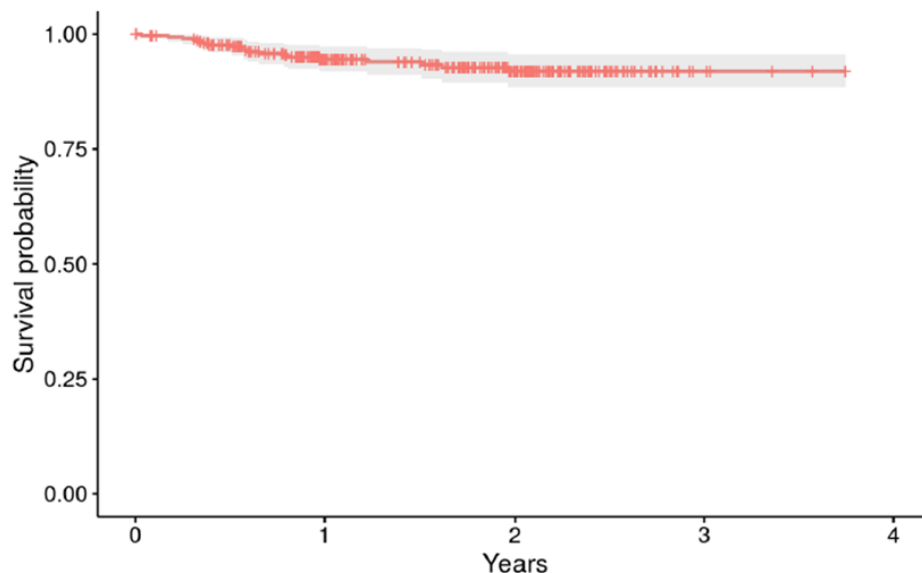
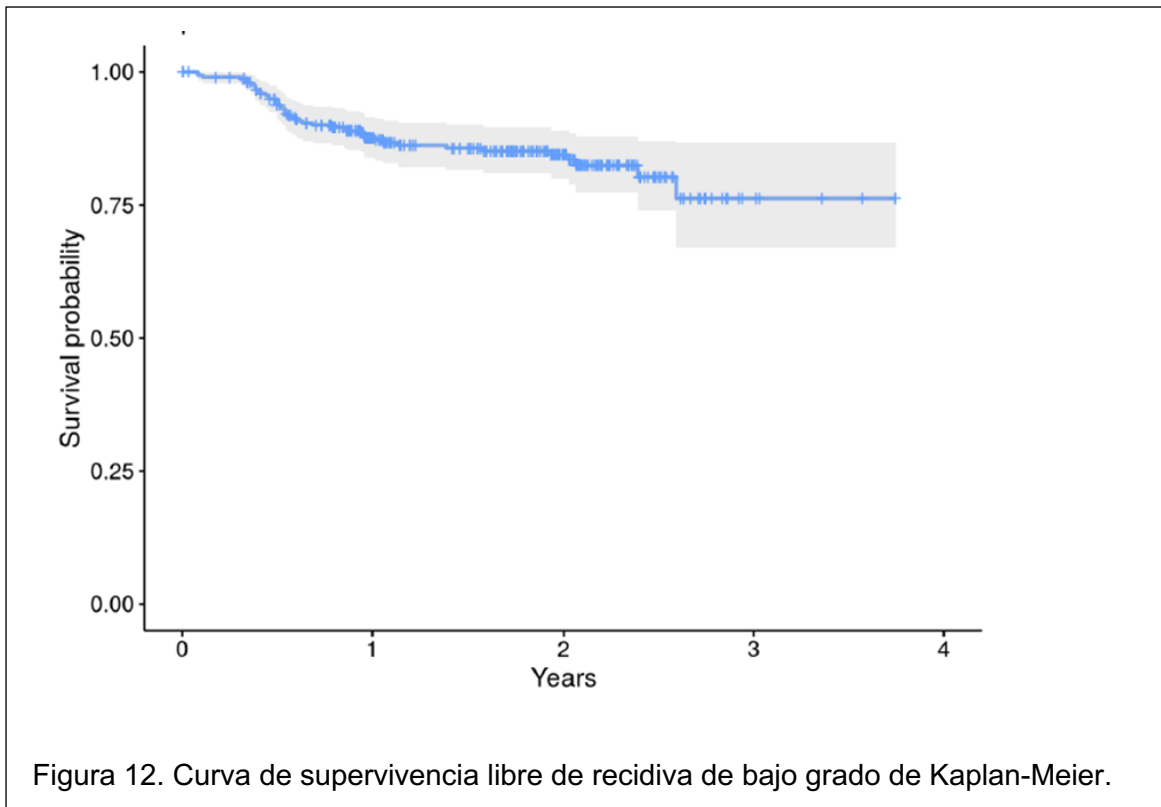


Figura 11. Curva de supervivencia libre de recidiva de alto grado de Kaplan-Meier. El eje x corresponde al tiempo en años desde la fecha de la cirugía.



En el análisis de las recidivas en función de la fecha de su detección, se observaba que en la visita de seguimiento de los 6 meses, se habían diagnosticado 15 casos de recidiva de lesiones de alto grado (HSIL/CIN2-3) y 31 casos de bajo grado (LSIL/CIN1). Posteriormente, se documentaron 3 nuevos casos de lesiones de alto grado a los 12 meses y ningún caso a los 24 meses. Los casos de recidiva de bajo grado a los 12 y 24 meses fueron de 1 y 5 casos, respectivamente. Por lo tanto, la mayoría de recidivas de alto grado (95%) y bajo grado (88,9%) se diagnosticaron durante los primeros 12 meses tras la cirugía.

La presencia de recidiva de alto grado fue confirmada histológicamente en todos los casos, ya fuere por biopsia dirigida durante la colposcopia o en la pieza quirúrgica correspondiente a la segunda conización. Todas las pacientes con recidiva de alto grado fueron sometidas a tratamiento de las lesiones, a excepción de una paciente con diagnóstico de HSIL/CIN2-3 en el control de los 6 meses en la que se decidió no tratar porque el test del VPH y la citología eran

negativos, confirmándose la regresión de la lesión en los controles a los 12 y 24 meses.

Del grupo de 45 pacientes con recidiva de lesión de bajo grado, 43 presentaban alteraciones citológicas (ASCUS o LSIL), mientras que el diagnóstico fue histológico en 2 casos. En 33 de las 45 pacientes (73,3%) con recidiva de bajo grado, las lesiones regresaron espontáneamente a los 6 o 12 meses, siendo la citología y el test del VPH normales en el control a los 24 meses. De las 12 pacientes restantes con alteraciones citológicas a los 24 meses, en 8 casos (66,6%) fueron nuevas infecciones y en 4 casos (33,3%) persistía la infección inicial.

De las pacientes diagnosticadas de recidiva de bajo grado, en 3 se realizó una segunda conización. En el primer caso se trataba de una paciente con resultado citológico de ASCUS, cambios menores en la colposcopia, test del VPH positivo para el genotipo 16 y resultado histológico de LSIL/CIN1 en el examen de la pieza quirúrgica. El segundo y tercer caso correspondían a 2 pacientes con citología de HSIL en el control de los 4 meses y en las que no hubo confirmación de HSIL/CIN2-3 por biopsia, diagnosticándose LSIL/CIN1 en el estudio histológico de la pieza quirúrgica.

5.5.2. Asociación entre la recidiva de lesión de alto grado y bajo grado y el con el test VPH-IOP y el test del VPH a los 6 meses para cualquier genotipo de VPH de alto riesgo oncogénico

La relación entre la positividad del test del VPH-IOP y del test del VPH a los 6 meses y la recidiva de lesiones de alto y bajo grado se muestra en la tabla 8. En 2 pacientes no se pudo disponer del resultado del VPH tras la conización, o bien

porque no se pudo realizar el test del VPH-IOP o porque la muestra era insatisfactoria; sin embargo, no presentaron recidiva. En 18 pacientes no se pudo disponer del resultado del test del VPH a los 6 meses, ya fuere porque la prueba no se realizó o porque la muestra era insatisfactoria. En 4 de estas 18 pacientes se detectó recidiva de la enfermedad durante el seguimiento.

Tabla 8. Resultados del test del VPH-IOP y del test del VPH a los 6 meses en pacientes con recidiva de bajo y alto grado durante el seguimiento

Resultados	LSIL/CIN1 número (%)	Valor de p	HSIL/CIN2-3 número (%)	Valor de p
Total pacientes	45		19	
Test del VPH-IOP				
Positivo	12 (26,7)	> 0,05	19 (100)	< 0,001
Negativo	33 (73,3)		0	
Test del VPH a los 6 meses	41		15	
Positivo	22 (53,7)	< 0,001	13 (86,7)	< 0,001
Negativo	19 (46,3)		2 (13,3)	

Se observó una asociación estadísticamente significativa ($P < 0,001$) entre la positividad del test del VPH-IOP y la recidiva de alto grado, así como entre la positividad del test del VPH a los 6 meses y la recidiva de lesiones de bajo grado y de alto grado. Todas las pacientes (19/19, 100%) que presentaron recidiva de alto grado (HSIL/CIN2-3) durante el seguimiento tenían un test del VPH IOP positivo, mientras que sólo 13 pacientes presentan el test del VPH a los 6 meses positivo (13/15, 86,7%). Por el contrario, únicamente en 12 de las 45 pacientes (26,7%) con recidiva de bajo grado (LSIL/CIN1) presentaron un test del VPH-IOP positivo, en tanto que el test del VPH a los 6 meses fue positivo en 22 (22/41, 53,7%). La tabla 9 muestra el HR y el IC del 95% para el riesgo de recidiva de

lesión de alto grado asociado al resultado del test del VPH a los 6 meses. El riesgo para el resultado del test del VPH-IOP no se pudo cuantificar, dado que no hubo ninguna recidiva de alto grado con test del VPH-IOP negativo (valor de HR infinito).

Tabla 9. Regresión logística univariante de Cox: resultado positivo del test del VPH-IOP y del test de VPH a los 6 meses como factor de riesgo de recidiva de alto grado

Variable	Hazard ratio (intervalo de confianza del 95%)	Valor de P
Test del VPH-IOP	3,17e+9 (0 a infinito)	0,997
Test del VPH a los 6 meses	24,92 (5,62 a 110,6)	< 0,01

Respecto al riesgo de recidiva de lesión de bajo grado asociado al test del VPH, no hubo asociación con el resultado del test del VPH-IOP. No obstante, el resultado del test del VPH a los 6 meses era un factor de riesgo para la recidiva de bajo grado durante el seguimiento (HR 4,24; IC del 95% 2,29-7,86; $P < 0,05$).

Las curvas de supervivencia de las figuras 13 y 14 reflejan el valor de la positividad del test del VPH, tanto intraoperatorio (VPH-IOP) como a los 6 meses de la intervención como factor de riesgo de recidiva de una lesión de alto grado durante el seguimiento.

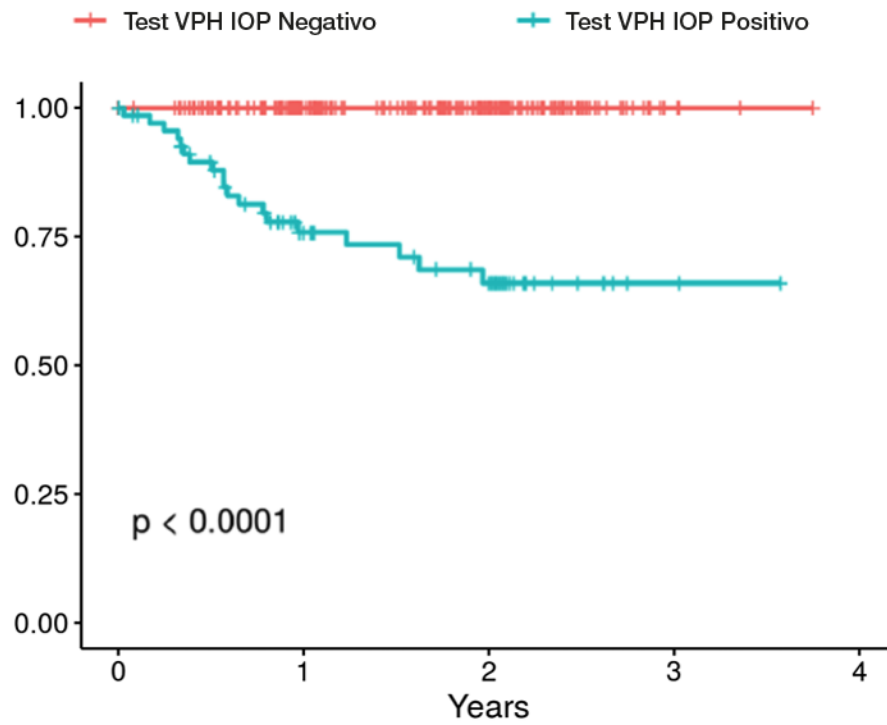


Figura 13. Curva de supervivencia libre de recidiva de alto grado de Kaplan-Meier en función del resultado positivo o negativo del test del VPH-IOP.

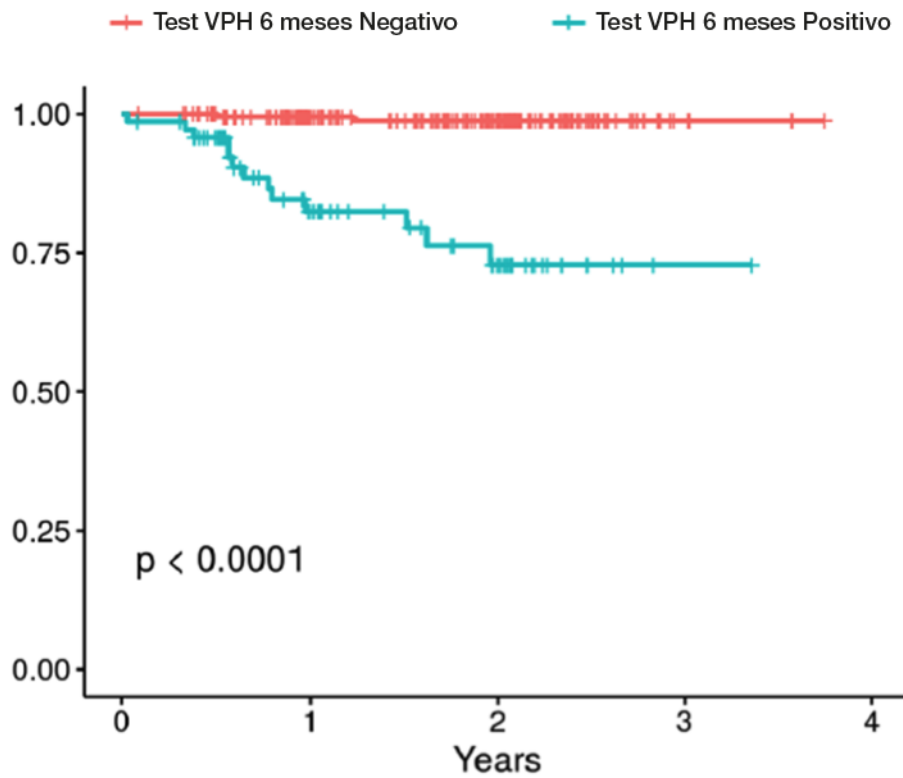
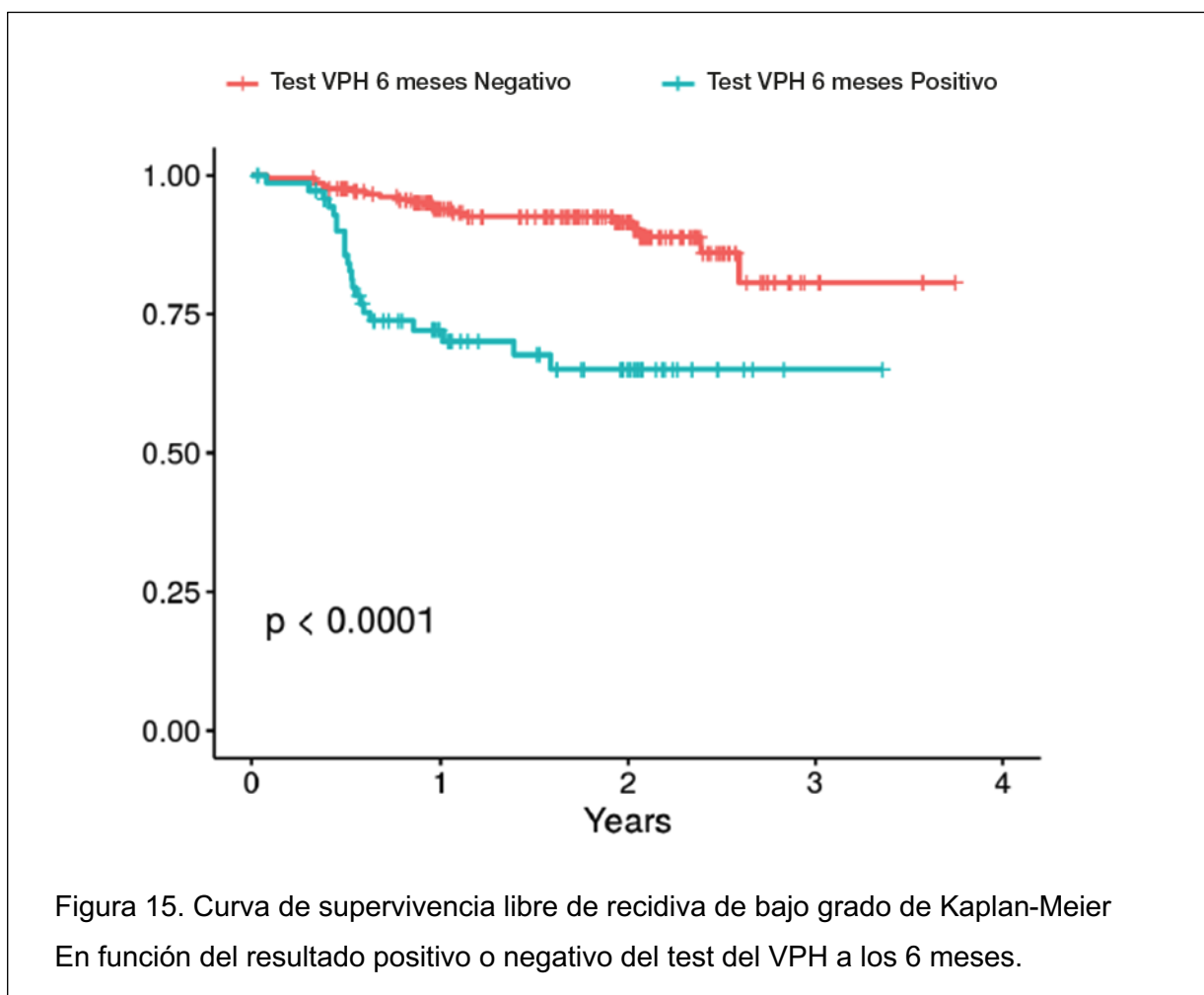


Figura 14. Curva de supervivencia libre de recidiva de alto grado de Kaplan-Meier en función del resultado positivo o negativo del test del VPH a los 6 meses.

Asimismo, un resultado positivo del test del VPH a los 6 meses era un factor de riesgo de recidiva de una lesión de bajo grado durante el seguimiento (figura 15).



5.5.3. Asociación entre la recidiva de alto grado y algún genotipo específico de alto riesgo detectado tanto en el test del VPH-IOP como en el test VPH a los 6 meses

De las pacientes que presentaron recidiva de alto grado durante el seguimiento, el test del VPH-IOP diagnosticó una infección por el genotipo 16 en 15 pacientes

(15/18, 83,3%) y por otros genotipos en 3 pacientes (3/18, 16,7%). En 1 paciente no fue posible analizar el genotipo viral.

En el control a los 6 meses, en 11 de 12 pacientes (91.7%) se identificó una infección por el genotipo 16, y en 1 paciente la infección estaba causada por otro genotipo. En 4 casos no se realizó el test del VPH a los 6 meses, en 2 casos resultó negativo y en 1 paciente no fue genotipable.

La detección del genotipo 16 tanto en el análisis del VPH-IOP como a los 6 meses era un factor de riesgo significativo para la presencia de recidiva de lesión de alto grado en el seguimiento, especialmente la identificación del genotipo 16 en el análisis del VPH a los 6 meses (tabla 10).

Tabla 10. Regresión logística univariante de Cox: resultado de la identificación del genotipo 16 en el test del VPH-IOP y del test de VPH a los 6 meses como factor de riesgo de recidiva de alto grado

Variable	Hazard ratio (intervalo de confianza del 95%)	Valor de P
Test del VPH-IOP		
Genotipo 16	3,35 (0,97 a 11,60)	< 0,05
Test del VPH a los 6 meses		
Genotipo 16	27,87 (3,59 a 216,0)	< 0,05

La representación de las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier demuestran la importancia de la detección del genotipo 16 tanto en el test del VPH-IOP (figura 16) como en el test del VPH a los 6 meses (figura 17) como factor de riesgo de recidiva de alto grado en el seguimiento.

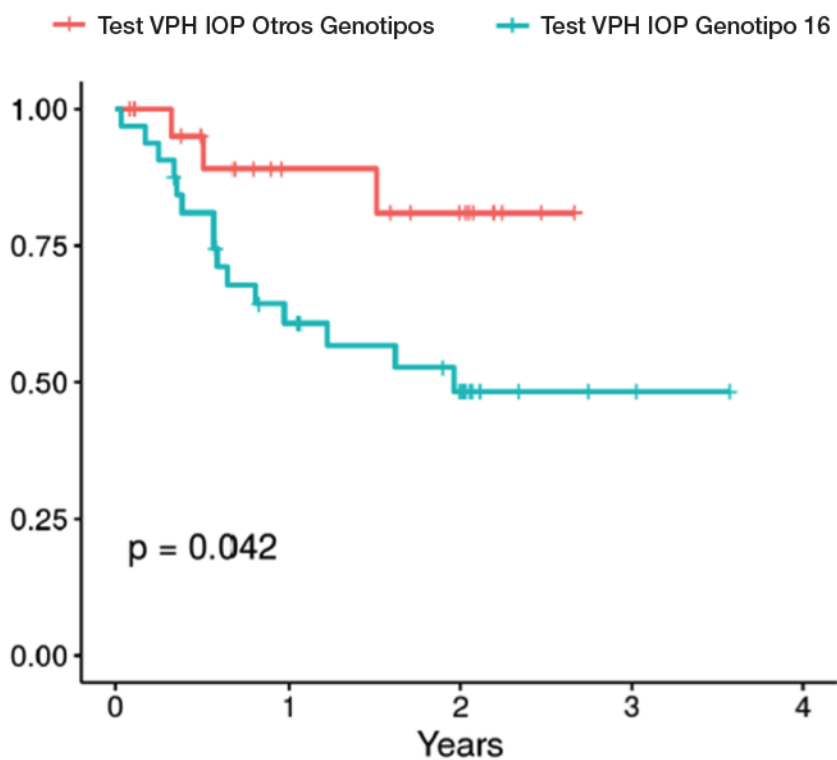


Figura 16. Curva de supervivencia libre de recidiva de alto grado de Kaplan-Meier en función de la detección del genotipo 16 en el test del VPH-IOP.

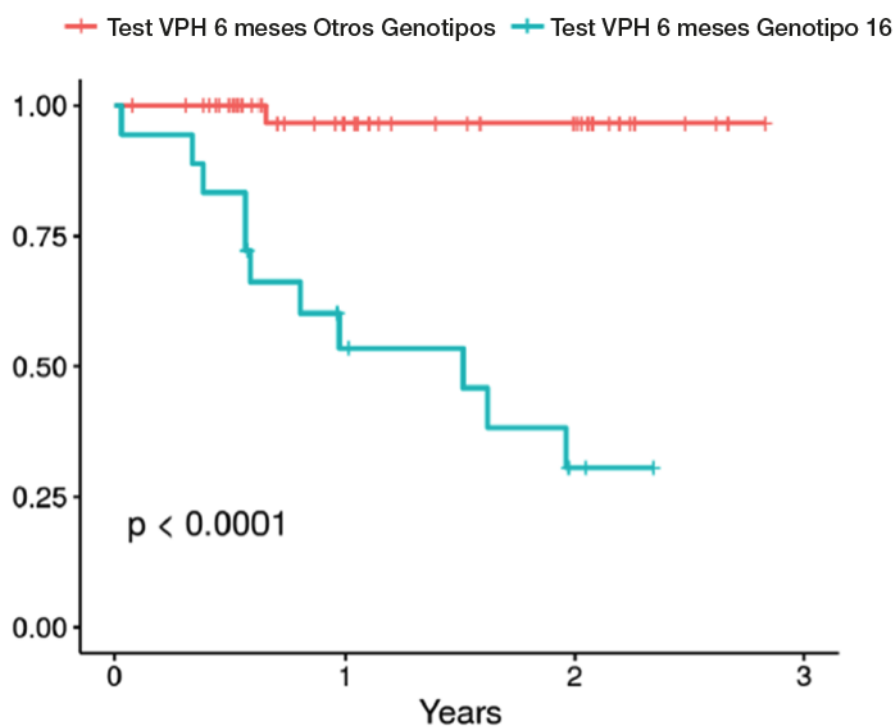


Figura 17. Curva de supervivencia libre de recidiva de alto grado de Kaplan-Meier en función de la detección del genotipo 16 en el test del VPH a los 6 meses.

5.5.4. Asociación entre la recidiva de alto grado y la coincidencia de los genotipos del VPH preoperatorios y postoperatorios

En este objetivo secundario también se demostró una asociación estadísticamente significativa entre la coincidencia de los genotipos del VPH preoperatorios y postoperatorios y la recidiva de alto grado. De las pacientes con recidiva de alto grado, el porcentaje de pacientes ($n = 13$) con coincidencia de los genotipos era significativamente superior que el porcentaje sin coincidencia ($n = 1$) (92,3% frente a 7,1%, $P < 0,001$). En el análisis univariante, la coincidencia de genotipos era un factor de riesgo significativo para la presencia de recidiva de alto riesgo (HR 28,30, IC del 95% 3,68 a 217,4; $P < 0,01$). El impacto de dicha coincidencia en la recidiva de alto grado se muestra en la (figura 18).

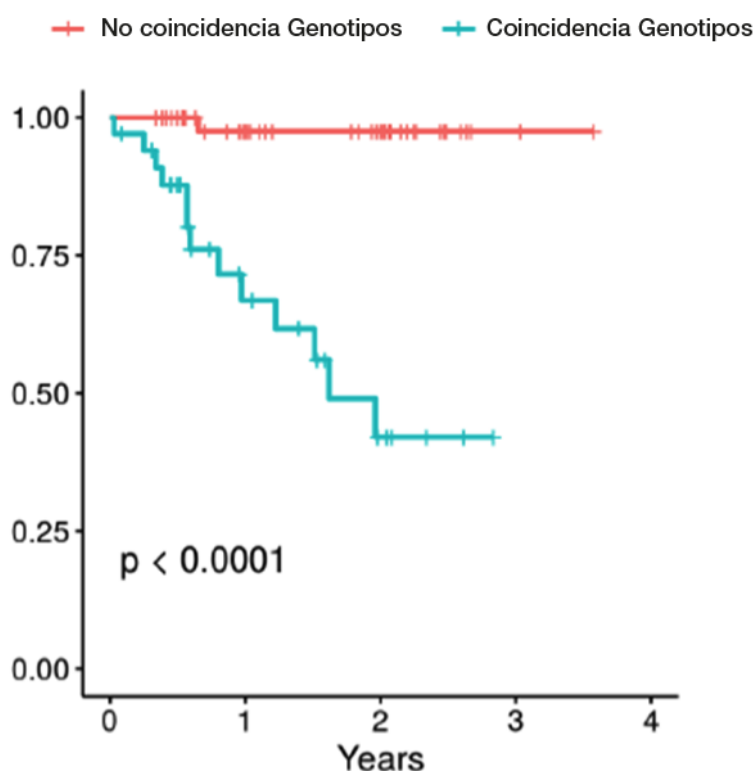


Figura 18. Curva de supervivencia libre de recidiva de alto grado de Kaplan-Meier en función de la coincidencia de los genotipos del VPH en los análisis preoperatorio y postoperatorio.

5.5.5. Asociación entre la recidiva de alto grado y los factores histopatológicos

5.2.5.1. Márgenes quirúrgicos y LEC post-conización

De las 19 pacientes con recidiva de alto grado durante el seguimiento, 13 (68,5%) presentan márgenes quirúrgicos afectados. De las pacientes con márgenes afectados, 11 pacientes (57,9%) presentaban el margen endocervical positivo y 2 pacientes (10,5%) afectación mixta (margen endocervical y exocervical). Contrariamente, sólo 13 de las 45 pacientes con recidiva de bajo grado tenían márgenes quirúrgicos afectados (tabla 11).

Respecto al impacto del resultado del LEC post-conización, el 53,8% (n = 7) de las pacientes con recidiva de alto grado presentaban un LEC post-conización afecto por HSIL, mientras que el 94% (n = 31 de las pacientes con recidiva de bajo grado tenían un LEC post-conización normal (tabla 11).

Tabla 11. Relación entre la afectación de los márgenes quirúrgicos y el resultado del LEC post-conización con la recidiva de bajo y alto grado durante el seguimiento

Resultados	LSIL/CIN1 número (%)	Valor de <i>P</i>	HSIL/CIN2-3 número (%)	Valor de <i>P</i>
Márgenes quirúrgicos	45		19	
No afecto	32 (71,1)	> 0,05	6 (31,6)	< 0,001
Exocervical afecto	2 (4,4)		0	
Endocervical afecto	10 (22,2)		11 (57,9)	
Ambos márgenes afectados	1 (2,2)		2 (10,5)	
LEC post-conización	33		13	
Normal	31 (93,9)	> 0,05	6 (46,2)	< 0,001
LSIL	1 (3,0)		0	
HSIL	1 (3,0)		7 (53,8)	

La tabla 12 muestra el resultado del análisis univariado de Cox en el que la afectación de los márgenes quirúrgicos y la detección de HSIL en LEC post-conización son factores independientes de riesgo de recidiva de alto grado durante el seguimiento.

Tabla 12. Regresión logística univariante de Cox: impacto de la afectación de los márgenes quirúrgicos y del resultado del LEC post-conización en el riesgo de recidiva de alto grado

Variable	Hazard ratio (intervalo de confianza del 95%)	Valor de <i>P</i>
Márgenes quirúrgicos		
Endocervical	10,93 (4,04 a 29,58)	< 0,001
Ambos márgenes afectados	7,79 (1,52 a 38,65)	< 0,001
LEC post-conización		
HSIL	40,40 (13,44 a 121,4)	< 0,001

La representación de las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier demuestran la importancia de la afectación del margen quirúrgico endocervical frente a márgenes libres de enfermedad (figura 19) y de la detección de HSIL en LEC post-conización frente a ausencia de patología o LSIL (figura 20) como factores de riesgo de recidiva de lesión de alto grado durante el seguimiento.

No se ha detectado ninguna asociación estadísticamente significativa entre el estado de los márgenes quirúrgicos y el resultado del LEC post-conización en la detección de lesiones de bajo grado durante el seguimiento.

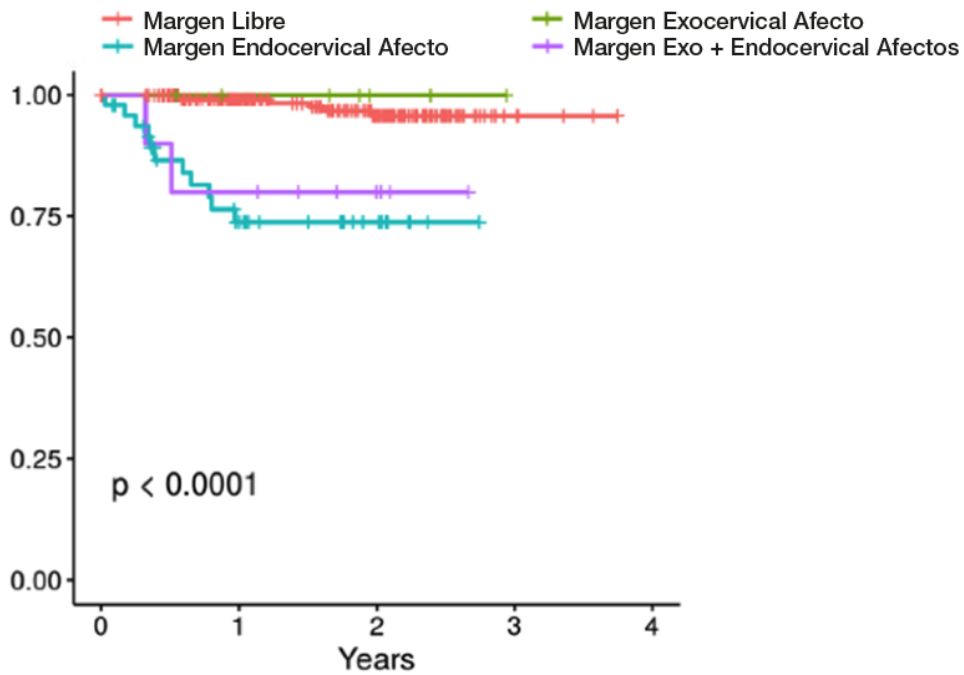


Figura 19. Curva de supervivencia libre de recidiva de alto grado de Kaplan-Meier en función de la afectación de los márgenes quirúrgicos.

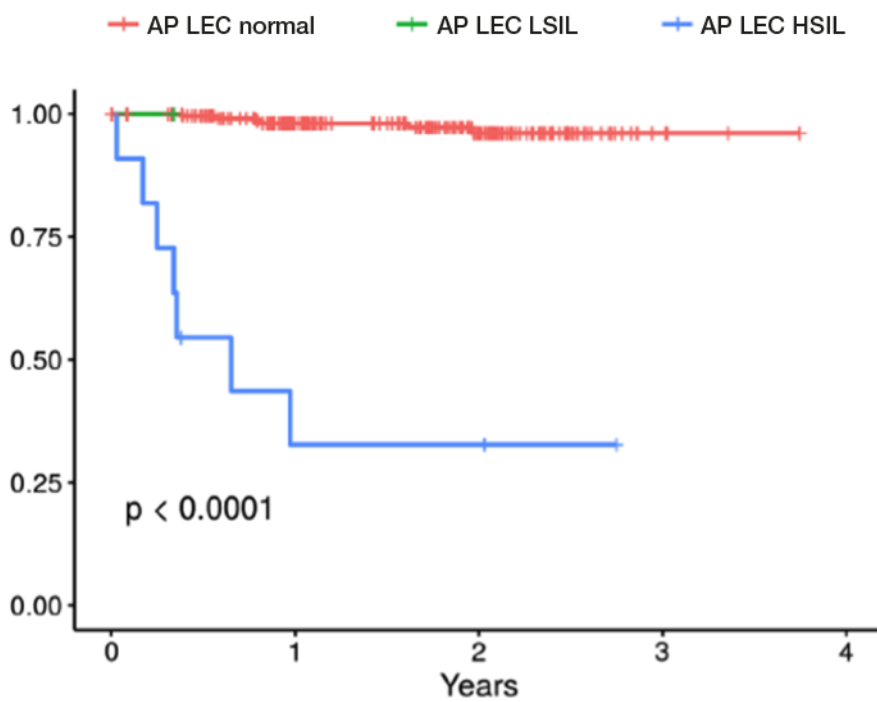


Figura 20. Curva de supervivencia libre de recidiva de alto grado de Kaplan-Meier en función del resultado del LEC post-conización.

La precisión diagnóstica del estado de los márgenes quirúrgicos y del resultado del LEC post-conización para el diagnóstico de recidiva de alto grado se muestra en la tabla 13. La sensibilidad, especificidad, VPP y VPN de los márgenes quirúrgicos y del LEC fue del 68,42%, 83,86%, 22,03% y 97,55%, y del 53,85%, 98,29%, 63,64% y 97,46%, respectivamente.

Tabla 13. Precisión diagnóstica del estado de los márgenes quirúrgicos y del resultado del LEC post-conización en la detección de recidiva de alto grado a los 24 meses del seguimiento

Variable	Sensibilidad, % (IC del 95%)	Especificidad, % (IC del 95%)	Valor predictivo positivo, % (IC del 95%)	Valor predictivo negativo, % (IC del 95%)
Márgenes quirúrgicos	68,42 (43,45-87,42)	83,86 (79,06-87,93)	22,03 (12,29-34,73)	97,55 (94,75-99,1)
LEC post-conización	53,85 (25,13-80,78)	98,29 (95,68- 99,53)	63,64 (30,7-89,07)	97,46 (94,55-99,06)

El estado de los márgenes quirúrgicos y el resultado del LEC post-conización tenían una sensibilidad inferior al del test del VPH-IOP (100%) y del test del VPH a los 6 meses (86,67%) (tabla 10), el LEC post-conización era la variable con la mayor especificidad (98,29%).

5.5.6. Asociación entre recidiva de alto grado y bajo grado y la edad

La media (DE) de edad de las pacientes que no presentaron recidiva de lesiones de alto grado era de 39,1 (9,3 años) en comparación con 37,8 (9,4) años de las pacientes con recidiva de lesiones HSIL/CIN2-3 ($P > 0,05$). Asimismo, tampoco hubo diferencia en la edad media de las pacientes con y sin recidiva de lesiones de bajo grado (tabla 14).

Tabla 14. Relación entre recidiva de lesiones de alto y bajo grado y la edad

	Total pacientes	Edad, años media (DE)	Intervalo de confianza del 95%	Valor de <i>P</i>
Recidiva HSIL/CIN2-3				
Presente	19	37,8 (9,4)	33,3 a 42,3	> 0,05
Ausente	285	39,1 (9,3)	38 a 40,1	
Recidiva HSIL/CIN1				
Presente	45	39,5 (7,7)	37,2 a 41,9	> 0,05
Ausente	259	38,9 (9,6)	37,7 a 40	

5.5.7. Asociación entre recidiva de lesiones de alto grado y bajo grado y hábito tabáquico

El 31,6% y el 24,4% de fumadoras frente al 68,4% y al 75,6% de no fumadoras presentaron recidivas de alto grado y bajo grado, respectivamente. No hubo diferencia en cuando a la frecuencia de detección de dichas lesiones y el hábito tabáquico (tabla 15).

Tabla 15. Relación entre recidiva de lesiones de alto y bajo grado y el hábito tabáquico

Grado de la lesión	Recidiva durante el seguimiento		Valor de <i>P</i>
	Presente n (%)	Ausente n (%)	
Recidiva HSIL/CIN2-3			
Fumadoras	6 (31,6)	96 (33,7)	> 0,05
No fumadoras	13 (68,4)	189 (66,3)	
Recidiva HSIL/CIN1			
Fumadoras	11 (24,4)	91 (35,1)	> 0,05
No fumadoras	34 (75,6)	168 (64,9)	

5.5.8. Asociación entre recidiva de alto grado y bajo grado y cambios colposcópicos mayores

Se detectaron cambios colposcópicos mayores en el 68,4% de las pacientes con recidiva de alto grado y en el 46,3% de las pacientes sin recidiva. Por otra parte, un 40% y un 49 % de pacientes con recidiva y sin recidiva de bajo grado respectivamente, presentaron cambios mayores colposcópicos. La asociación entre cambios mayores colposcópicos y recidiva de lesiones de alto y bajo grado durante el seguimiento no fue estadísticamente significativa (tabla 16).

Tabla 16. Relación entre recidiva de lesiones de alto y bajo grado y la presencia de cambios colposcópicos mayores

Grado de la lesión	Recidiva durante el seguimiento		Valor de <i>P</i>
	Presente n (%)	Ausente n (%)	
Recidiva HSIL/CIN2-3			
Cambios colposcópicos			> 0,05
Normal	0	44 (15,4)	
Menores	6 (31,6)	109 (58,2)	
Mayores	13 (68,4)	132 (46,3)	
Recidiva HSIL/CIN1			
Cambios colposcópicos			> 0,05
Normal	1 (15,6)	37 (14,3)	
Menores	20 (44,4)	95 (36,7)	
Mayores	18 (40)	127 (49)	

5.5.9. Impacto económico del test del VPH-IOP

Los costes directos de una paciente sometida a conización cervical y seguimiento de acuerdo con el protocolo estándar (vista y control a los 6 meses) y según el protocolo de incorporación del test del VPH-IOP se resumen en las tablas 17 y 18, respectivamente.

Tabla 17. Estimación de los costes directos de una paciente sometida a conización cervical y seguimiento según el protocolo estándar visita y control a los 6 meses)

Concepto	Coste por unidad (€)	Número por paciente	Coste total por paciente (incluyendo el 20% costes estructurales) (€)
Primera visita	148,0	1	177,60
Colposcopia	29,0	1	34,80
Biopsia de complejidad intermedia	44,0	1	52,80
Conización cervical	1.537,98	1	1.845,58
Estudio histológico de la pieza quirúrgica	135	1	162
Visita postoperatoria	69,0	1	82,80
Visitas de seguimiento (6-24 meses)	69,0	2	165,64
Citología (6-24 meses)	6,0	2	14,4
Test del VPH (6-24 meses)	39,85	2	95,64
Visita de resultados (6-24 meses)	69,0	2	165,64
Total			2.796,66

Tabla 18. Estimación de los costes directos de una paciente sometida a conización cervical y seguimiento según el protocolo de incorporación del test del VPH-IOP

Concepto	Coste por unidad (€)	Número por paciente	Coste total por paciente (incluyendo el 20% costes estructurales) (€)
Primera visita	148,0	1	177,60
Colposcopia	29,0	1	34,80
Biopsia de complejidad intermedia	44,0	1	52,80
Conización cervical	1.537,98	1	1.845,58
Test del VPH (VPH-IOP)	39,85	1	47,82
Estudio histológico de la pieza quirúrgica	135	1	162
Visita postoperatoria	69,0	1	82,80
Visitas de seguimiento (24 meses)	69,0	1	82,80
Citología (24 meses)	6,0	1	7,20
Test del VPH (24 meses)	39,85	1	47,82
Visita de resultados (24 meses)	69,0	2	8280
Total			2.671,84

La diferencia bruta entre ambas estrategias se podría estimar en 172,64€ en favor de la incorporación del test del VPH-IOP en la práctica clínica. Sabemos que aproximadamente un 70% de las pacientes negativizarán el virus tras la conización [92]. Utilizando estimaciones de 2018, el número anual de conizaciones realizadas en nuestro hospital fue de 143. Aplicando el porcentaje de pacientes que negativizan la infección por VPH, conllevaría un ahorro directo de 17.281,264€ por año. Al aplicar la diferencia bruta en el consumo de recursos estimado en nuestro estudio al número potencial de casos HSIL/CIN2-3 diagnosticados por año en España (aproximadamente 54.000) [93], el protocolo propuesto con el test del VPH-IOP representaría un ahorro de 6.525.792€ por año a nivel nacional, con resultados clínicos muy similares.

Capítulo 6. Discusión

6.1. Generalidades del estudio

El objetivo principal de este proyecto es evaluar si el test del VPH realizado inmediatamente después de una conización cervical (VPH-IOP) por HSIL/CIN2-3, tiene la misma sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos a los 24 meses, que el test del VPH efectuado a los 6 meses tras la intervención. Secundariamente, hemos analizado la asociación entre la recidiva de lesiones HSIL/CIN2-3 y el resultado del test del VPH-IOP y/o a los 6 meses, los distintos genotipos de VPH y la presencia de márgenes quirúrgicos afectos y/o LEC post conización.

Los resultados obtenidos contribuyen a un mejor conocimiento de la evolución de la enfermedad tras el tratamiento de las lesiones HSIL/CIN2-3. El principal hallazgo del estudio es que el test del VPH-IOP tiene una rentabilidad diagnóstica similar al test del VPH a los 6 meses respecto al pronóstico de la recidiva de lesiones de alto grado, es relevante clínicamente y tiene aplicación directa en la práctica diaria. La reducción de los costes directos gracias a la disminución del número de visitas potencialmente innecesarias, así como del sobre-tratamiento y de los costes indirectos relativos, por ejemplo, a la disminución del estrés psicológico de las pacientes por el menor número de pruebas y visitas durante el seguimiento, permitiría optimizar los recursos económicos disponibles.

A pesar que existe un trabajo que ya ha evaluado el papel del test del VPH realizado inmediatamente tras la cirugía, nuestro trabajo es el primer estudio prospectivo que combina el análisis del test del VPH-IOP, del test del VPH a los 6 meses, del genotipado y de factores histopatológicos (márgenes quirúrgicos y

LEC post-conización), efectuando una valoración más específica del curso evolutivo de las pacientes con diagnóstico de HSIL/CIN2-3.

Los estudios que han evaluado el valor pronóstico y diagnóstico del VPH-IOP en mujeres con HSIL/CIN2-3 son muy escasos. En este trabajo se presenta la serie más numerosa del empleo del test del VPH-IOP marcador pronóstico y diagnóstico comparándolo con el test del VPH realizado a los 6 meses. Hasta la fecha, las series publicadas sobre el VPH-IOP son la de Torné et al. [84] que publicaron un análisis prospectivo de 132 pacientes con un seguimiento de 24 meses sobre la utilidad del test del VPH-IOP, y un estudio de nuestro grupo con el análisis preliminar de este trabajo en el que se estudiaba prospectivamente el rendimiento diagnóstico del VPH-IOP en 216 pacientes con un seguimiento de 12 meses [92]. En el presente estudio, un total de 358 pacientes consecutivas con el diagnóstico de HSIL y/o HSIL/CIN2-3 fueron remitidas a la Unidad de Patología Cervical y Tracto Genital Inferior del Departamento de Obstetricia y Ginecología del Hospital Universitari Vall d'Hebron de Barcelona entre junio de 2015 y junio de 2018.

Todas las pacientes aceptaron formar parte de nuestro estudio, lo que pone de manifiesto la gran aceptación de nuestro protocolo entre las pacientes. Un total de 54 pacientes no cumplieron criterios de inclusión por lo que finalmente se incluyeron 304 pacientes, las cuales fueron el objeto del estudio. De las 54 pacientes, que no cumplieron los criterios de inclusión, 2 pacientes fueron excluidas porque tenían antecedentes de conización previa por lesión cervical de alto grado, 46 pacientes no cumplían el criterio diagnóstico histológico de lesión de alto grado, y 2 pacientes habían sido diagnosticadas de alguna

enfermedad autoinmune o estaban bajo tratamiento inmunosupresor, lo que hubiera podido actuar como factor de confusión y alterar los resultados.

La conización cervical es el tratamiento '*estándar*' de las lesiones HSIL/CIN2-3. Sabemos que entre un 5-25% de las pacientes presentarán recidiva de la lesión durante los 24 meses siguientes tras la cirugía [94]. Por lo tanto, estas pacientes requerirán un seguimiento estricto para identificar aquellas pacientes que requerirán un segundo tratamiento.

El protocolo de seguimiento de nuestro estudio está integrado en la práctica clínica habitual, y se basa en controles a los 6 y 24 meses con citología, test del VPH, colposcopia y biopsia cervical si se detecta alguna anomalía, si bien en el presente estudio se ha añadido la realización de un test del VPH-IOP tras la conización y un control adicional a los 12 meses con citología y test del VPH, que nos ha permitido realizar un primer análisis a los 12 meses. El seguimiento medio (DE) de las pacientes ha sido 1,7 (0,7 años), muy similar al estudio de Torné et al. [84] y superior a nuestro análisis preliminar donde el seguimiento era de 12 meses [92].

Cabe destacar que en 39 pacientes (12,8%) no se ha realizado un seguimiento completo, ya sea porque no se había realizado el test del VPH-IOP (n = 16), el test del VPH a los 6 meses (n = 18) o no se había efectuado ningún control tras la conización (n = 5). Sin embargo, estas pacientes fueron incluidas en el estudio porque además de cumplir los criterios de inclusión, no se había preestablecido el cumplimiento de los 24 meses de seguimiento como criterio de selección.

6.2. Rendimiento diagnóstico y pronóstico del test del VPH-IOP y del test de VPH a los 6 meses

Numerosos estudios han constatado el rendimiento diagnóstico del test del VPH a los 6 meses tras la conización cervical en el seguimiento de pacientes tratadas por HSIL/CIN2-3 [53,82,88,94,95,96]. Tanto la sensibilidad como el valor predictivo negativo del test realizado a los 6 meses están cercanos al 98%, por lo que la recomendación de efectuar esta prueba ha sido incluida en la mayoría de guías de práctica clínica [35,36,79].

En un estudio prospectivo de 205 pacientes tratadas mediante conización cervical por lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado (CIN2, CIN3), la sensibilidad del test del VPH realizado a los 6 meses del tratamiento era del 81%, con un valor predictivo negativo del 96% en la predicción de la recidiva de la enfermedad [97]. De acuerdo con los resultados, los autores del estudio concluyen que en presencia de un test del VPH negativo a los 6 meses, la frecuencia de los controles durante el seguimiento puede reducirse, especialmente si los márgenes quirúrgicos son negativos [97].

Kocken et al, en una revisión sistemática con metaanálisis de estudios publicados entre 2003 y 2011 se comparaban como mínimo dos métodos de seguimiento (citología, test del VPH, co-test) para identificar enfermedad residual o recidiva tras tratamiento de CIN2 o CIN3 [89]. El análisis de 8 publicaciones con un total de 1.513 pacientes demostraba una sensibilidad global del 79% (IC del 95% 72-85) para la citología, del 92% (IC del 95% 87-96) para el tests del VPH y del 95% (IC del 95% 91-98) para el co-test (combinación de citología y test del VPH), de modo que tanto el test del VPH como el co-test se podían

recomendar como métodos más eficaces que la citología en el seguimiento de las pacientes [89].

En un estudio de cohortes de 3.273 mujeres mayores de 25 años, tratadas mediante conización cervical por lesiones CIN2, CIN3 o adenocarcinoma in situ entre 2003 y 2010, y seguidas durante 5 años, se comparaba la capacidad de predicción de recidiva entre la citología, el test del VPH y el co-test [90]. El riesgo de recidiva de lesiones CIN2 a los 5 años era del 2,4% para co-test negativo, del 3,7% para el test del VPH negativo y del 4,2% para la citología negativa. Aunque en ningún escenario el riesgo de recidiva era lo suficientemente bajo como para someterse a cribado a los 5 años, la negatividad de los co-tests proporcionaban mayor seguridad frente a la recidiva de lesiones CIN2 y CIN3 que la citología o el test del VPH solos [90].

Arbyn et al, en un metaanálisis publicado en el 2017 con más de 44.000 pacientes, se concluye que tanto las pacientes con los márgenes afectos, como la positividad para el test del VPH durante el seguimiento, se comportan como potentes factores de riesgo para desarrollar enfermedad residual. Además, se confirma la mayor sensibilidad y precisión diagnóstica del test del VPH que el estado de los márgenes quirúrgicos [74].

En línea con los resultados de estos trabajos [74,89,90,97], en nuestro estudio, el test del VPH a los 6 meses presenta una buena sensibilidad (cercana al 90%) y un buen valor predictivo negativo (99,05%), superior a la precisión diagnóstica de los factores histológicos estudiados, como los márgenes quirúrgicos y el resultado del LEC post-conización. Sin embargo, en el estudio de Torné et al. [84], los autores han sugerido que el test del VPH realizado intraoperatoriamente puede tener capacidad diagnóstica de recidiva HSIL/CIN2-

3 similar al test del VPH realizado a los 6 meses del tratamiento. Estos hallazgos han sido confirmados en un artículo de nuestro grupo con los resultados preliminares de este trabajo y publicado recientemente [92], en el que se sugiere el uso del test del VPH-IOP (sensibilidad 85,7%) como herramienta útil para el diagnóstico precoz de recidiva y estrategia a utilizar en el seguimiento.

Acorde con los estudios anteriores, los presentes resultados muestran cómo el test del VPH-IOP tiene una sensibilidad, especificidad, así como valores predictivos tanto negativo como positivos, similares al test del VPH a los 6 meses. Por lo tanto, en pacientes con resultado negativo podría obviarse el control a los 6 meses tras el tratamiento. Sin embargo, cabe destacar que si bien los resultados obtenidos sobre el rendimiento diagnóstico muestran similitud entre ambos test (VPH-IOP y VPH a los 6 meses), hay que señalar la necesidad de llevar a cabo estudios futuros ampliando el tamaño muestral para confirmar estos resultados con mayor precisión estadística.

Otro aspecto observado en nuestro estudio es que en todas las pacientes con recidiva, el resultado del test VPH-IOP fue positivo mientras que el test del VPH a los 6 meses fue negativo en 2 pacientes. Este hecho reafirma la fuerte asociación que existe entre la persistencia viral tras la intervención y la recidiva de alto grado. Otro hecho a tener en cuenta es que un gran número de pacientes con un test del VPH-IOP positivo no desarrolla recidiva durante el seguimiento. Esto se traduce en una especificidad limitada del test del VPH-IOP, lo que va a condicionar en cierta manera el seguimiento de las pacientes. En la estrategia actual de la práctica clínica, se recomienda el estudio sistemático de todas las mujeres con test del VPH positivo mediante colposcopia y biopsia, lo que supone una carga asistencial y gasto económico notable durante el seguimiento. Aunque

se han propuestos nuevos biomarcadores moleculares (tinción dual citológica p16/Ki-67) como alternativa del test del VPH [98] o en pacientes con tests del VPH positivo para seleccionar la práctica de una colposcopia [99], los resultados por el momento, aunque prometedores, son poco concluyentes.

Por lo tanto, se requieren nuevos estudios que permitan definir un manejo más eficiente de aquellas pacientes con test del VPH-IOP positivo, para poder diferenciar los grupos de mayor y menor riesgo de recidiva de enfermedad de alto grado.

6.3. Valor pronóstico del genotipado del VPH

El valor pronóstico y diagnóstico del genotipado del VPH para la detección de recidiva durante el seguimiento post-conización ha sido evaluado en diferentes publicaciones. En un estudio de 229 mujeres positivas para el VPH tratadas por una lesión CIN3, con una mediana de seguimiento de 20,1 meses (rango 3-85,4 meses), en el grupo de pacientes positivas para el genotipo 16 la tasa de recidiva fue del 19% en comparación con el 8% para el grupo de pacientes con otros genotipos virales. Los autores concluyen que la determinación del genotipo debe ser considerada en la estrategia de monitorización post-tratamiento [87].

En un estudio retrospectivo que incluía un total de 672 sometidas a conización por HSIL/CIN2-3 con un seguimiento de 24 meses mediante citología, captación de híbridos y PCR, 37 pacientes presentaron una recidiva durante el seguimiento, y en todas ellas persistía el mismo genotipo, siendo los genotipos 16 y 18 los más frecuentes [100]. Los autores concluyen que frente a una infección persistente por un VPH de alto riesgo, los genotipos 16 y 18 específicamente tendrían que ser considerados como un factor de riesgo

asociado a recidiva [100]. El mismo grupo de autores también han publicado otro estudio retrospectivo que incluyó 189 pacientes menopáusicas intervenidas por HSIL/CIN2-3 y seguidas durante 24 meses mediante citología y determinación del VPH con captación de híbridos y PCR, confirmándose una mayor tasa de recidiva post-intervención en pacientes infectadas por los genotipos 16 y 18 [101].

En un estudio retrospectivo de 760 mujeres con HSIL/CIN2-3, tratadas mediante escisión con asa diatérmica o conización y seguidas durante una mediana de 6,7 años, el riesgo de enfermedad residual o recidiva era mayor para el genotipo 16 [102]. Otros autores también concluyen que el genotipado del VPH ofrece una mejor especificidad en comparación con el test del VPH y la citología, de modo que aquellas pacientes con una infección por el genotipo 16 antes y después del tratamiento presentan un menor aclaramiento de la infección, y por ello, mayor riesgo de enfermedad residual [103].

El valor pronóstico del genotipado también ha sido evaluado en la exploración intraoperatoria. Nuestra serie reciente, muestra como el genotipo 16 positivo tanto intraoperatoriamente como a los 6 meses es un factor de riesgo para recidiva de alto grado [92]. Los resultados obtenidos en el análisis preliminar de este trabajo, publicado recientemente, coinciden con los hallazgos obtenidos en estudios anteriores, que muestran como el genotipo 16 presenta un mayor riesgo de recidiva de lesiones HSIL/CIN 2-3. Es importante destacar que casi el 80% (15/19) de las pacientes que presentan recidiva de alto grado son positivas para el genotipo 16 en el estudio del VPH-IOP y casi un 60 % (11/19) en el test del VPH a los 6 meses, lo que se traduce en que la positividad para el genotipo 16 se muestra como un factor de riesgo para la recidiva de alto

grado. En cambio, no hemos observado asociación estadísticamente significativamente con ningún otro genotipo de VPH. El mayor potencial oncogénico del genotipo 16 se explica, en parte, por la mayor capacidad de persistencia viral de este genotipo, hecho que compromete su historia natural con una mayor tasa de recidiva [104]. Sin embargo, hay que tener en cuenta que los resultados obtenidos están influidos por la alta prevalencia del genotipo 16, en comparación con otros genotipos de alto riesgo.

Estudios previos muestran como el resultado del test del VPH a los 6 meses es negativo en dos tercios de las pacientes [83]. Esta proporción es similar en las pacientes con test del VPH intraoperatorio [88]. En nuestros análisis hemos observado un porcentaje similar de resultados negativos tanto en el test VPH-IOP como a los 6 meses. Este resultado indica que la eliminación de la infección en el cuello uterino se produce inmediatamente después de la extirpación total de la lesión en un alto porcentaje de pacientes.

Otro objetivo secundario de este proyecto era analizar si la concordancia entre el genotipo viral preoperatorio y el genotipo viral a los 6 meses del tratamiento podía estar asociada a recidiva de alto grado. Hay estudios que han evidenciado la asociación casual entre infección persistente por el mismo tipo de VPH con enfermedad recidivante [30]. En un estudio prospectivo en el que incluían 195 pacientes intervenidas por neoplasia intraepitelial cervical mediante asa diatérmica, se concluye que la persistencia de la infección por el mismo genotipo se asocia a enfermedad residual o recidivante, y que el genotipado puede ayudar a mejorar el seguimiento en estas pacientes [105]. En un estudio de cohortes, con un total de 435 pacientes y seguimiento de 15 años, 76 pacientes presentaron recidiva de la enfermedad tras el tratamiento. Observaron

como un gran porcentaje de estas pacientes tenían el mismo genotipo viral por lo que concluyeron que la coincidencia del mismo tipo viral era un factor de riesgo para presentar enfermedad residual [106].

Los resultados obtenidos en nuestro trabajo coinciden con los hallazgos previamente descritos, dado que aquellas pacientes que presentaron concordancia entre genotipos preoperatorio y postoperatorio, mostraron una tasa de recidiva superior que los casos de discordancia. Esta coincidencia entre genotipos confirma la asociación casual entre la infección persistente y el incremento del riesgo de recidiva.

6.4. Valor pronóstico de los márgenes quirúrgicos y del LEC

Factores histológicos tales como los márgenes quirúrgicos y el resultado del LEC también han sido descritos como factores de riesgo de recidiva de HSIL/CIN2-3 [73,74,107,108]. En la revisión sistemática y metaanálisis de 97 estudios con más de 44.000 pacientes, la tasa de márgenes quirúrgicos positivos fue del 23,1%, porcentaje similar a nuestros resultados [74]. Otro aspecto analizado era la asociación entre márgenes afectos y recidiva, demostrándose que el riesgo de lesión persistente en caso de márgenes positivos era 4 veces superior que en ausencia de afectación [74]. De este modo, la presencia de márgenes quirúrgicos positivos se describe como un factor de riesgo independiente para la persistencia de las lesiones de alto grado. En otro metaanálisis, la escisión incompleta de la lesión intraepitelial suponía un incremento sustancial del riesgo de enfermedad residual, sobre todo si la afectación era a expensas del margen profundo o endocervical, con un RR de 6,09 [73]. En un estudio retrospectivo reciente en el que se incluyeron 3.582 pacientes y se analizaba la localización de la afectación

de los márgenes y el riesgo de recidiva, la positividad de los márgenes endocervicales se asociaba a un mayor riesgo de persistencia lesional en comparación con el margen exocervical, cuya positividad no difería significativamente de la presencia de márgenes negativos [108].

Los resultados obtenidos en nuestro estudio, con un porcentaje de márgenes quirúrgicos positivos del 21% y su efecto como factor de riesgo de recidiva, concuerdan con los datos descritos [73,74,107,108]. La afectación de los márgenes quirúrgicos, en especial el margen endocervical, se presentan como un factor de riesgo relevante. Esto se podría explicar por la mayor facilidad para estudiar el exocervix mediante el colposcopio a diferencia del endocervix que es difícil de visualizar, sobre todo cuando la UEC no es totalmente visible. Por tanto, las pacientes con márgenes afectados, especialmente aquellas con afectación profunda, deberían someterse a un seguimiento más estricto e incluso algunas de ellas requerirán una segunda conización [109].

Otro factor histológico estudiado en este trabajo ha sido el resultado del LEC. Actualmente existe controversia acerca del valor pronóstico del LEC y de su capacidad de predicción de recidiva, con estudios a favor y en contra [75,108,110,111,112].

En un estudio retrospectivo de 250 pacientes en las que se realizó un LEC tras la conización cervical se defiende la importancia de este procedimiento adicional tras la intervención [110]. Los resultados de este estudio muestran que la positividad del LEC para displasia de alto grado tras una conización implica un mayor riesgo de recidiva durante el seguimiento (probabilidad del 48.4%). Dicho riesgo es aún mayor si a un LEC positivo se suma la presencia de márgenes afectados (probabilidad del 58%). Contrariamente, en aquellas pacientes con LEC

negativo la probabilidad de presentar una recidiva es baja (6%), y más aún, cuando LEC y márgenes quirúrgicos son ambos negativos (1%) [110]. Finalmente, se concluye que el LEC es una herramienta muy útil para el seguimiento de las pacientes tras una conización y que tendría que incorporarse en la práctica clínica diaria [110].

En la misma línea, en otro estudio retrospectivo de 187 pacientes en las que se realizó un LEC tras la conización, de las que en un 15% eran positivas para el VIH, sin tener en cuenta el estatus serológico, el resultado del LEC y de los márgenes quirúrgicos fueron factores de riesgo de recidiva [111]. Sin embargo, en el análisis multivariado únicamente la presencia de VIH y el resultado del LEC eran factores independientes de riesgo de recidiva. Los autores de este estudio concluyen que el LEC es un factor predictor de enfermedad residual más importante que el estado de los márgenes quirúrgicos, y destacan la necesidad de considerar el estatus serológico a la hora de decidir la realización de un segundo tratamiento [111].

En un estudio de cohortes retrospectivo de 188 pacientes tratadas con LEC durante la conización, la positividad del LEC fue un predictor mejor de persistencia/recidiva que el estado de los márgenes quirúrgicos, tras ajustar el efecto de otras variables en el modelo de Cox [112].

En un estudio de 606 mujeres sometidas a conización por displasia cervical grave, a 178 (29%) se les realizó un LEC tras la intervención, a 80 (13%) un *top hat* o resección del lecho endocervical y a 99 pacientes ambos procedimientos [75]. El objetivo de este estudio era analizar si alguna de estas técnicas diagnósticas aumentaba la capacidad pronóstica de los márgenes quirúrgicos. Si bien en el análisis univariado el LEC presentaba una mayor

especificidad respecto el resto de técnicas, se concluye que el margen endocervical afecto era el factor pronóstico más importante, dado el bajo valor predictivo positivo del LEC. Por lo tanto, la muestra endocervical mediante LEC aporta poca información pronóstica por lo que se podría evitar [75].

En el presente estudio también se ha evaluado el resultado del LEC como factor de riesgo de recidiva. Al igual que los estudios anteriores, se ha observado una asociación entre un LEC positivo y mayor tasa de recidiva. De todas las pacientes que presentan enfermedad tras la conización, el 54% de ellas (7/13) presentan un LEC positivo. Además, se puede considerar un buen marcador de curación por su excelente especificidad y valor predictivo negativo, ya que cerca de un 98% (229/234) de las pacientes con LEC normal no presentaron recidiva. Sin embargo, la sensibilidad de este factor histológico es baja, con un pobre valor predictivo positivo por lo que no sería un buen marcador de recidiva [108]. Probablemente, el alto número de pacientes con un LEC con resultado no valorable ha contribuido en ello.

6.5. Recidiva de bajo grado

Se han publicado pocos estudios que han analizado las recidivas de bajo grado durante el seguimiento. Rimel et al. [113] describen una tasa de recidiva de bajo grado durante los 2 primeros años tras el tratamiento del 11,4 %, porcentaje muy similar a nuestra serie (14,8%). Asimismo, nuestros resultados muestran como la mayoría de las recidivas de bajo grado independientemente del momento del diagnóstico, son consecuencia de infecciones *de novo*. Tanto aquellas recidivas de bajo grado diagnosticadas a los 6 y 12 meses y que regresan a los 24 meses como las que aparecen al control de los 2 años, son

consecuencia también de nuevas infecciones, lo que concuerda con la historia natural de la enfermedad [12,13].

Por lo tanto, el hecho que la mayoría de recidivas de bajo grado hayan sido producidas por nuevos episodios de infección por VPH, se relaciona con que no hayamos encontrado asociación entre el test del VPH IOP positivo y las recidivas de bajo grado y que dicho test no sea una buena herramienta para el diagnóstico precoz de recurrencia de bajo grado. Contrariamente, el test del VPH a los 6 meses si se ha asociado con las recidivas de bajo grado, lo que reafirma el hecho que esta patología está íntimamente relacionada con nuevas infecciones adquiridas durante el seguimiento postoperatorio.

6.6. Costes directos y uso del test del VPH-IOP

Finalmente, otro objetivo secundario de este trabajo era evaluar el potencial beneficio económico del VPH-IOP en comparación con el test del VPH realizado a los 6 meses. La selección precoz de aquellas pacientes con riesgo bajo de recidiva respecto las de alto riesgo, permite una reducción en el número de visitas y pruebas en el grupo de bajo riesgo, lo que conlleva a una reducción de costes.

La alta prevalencia de lesiones cervicales malignas y premalignas en países desarrollados representa un impacto económico importante para los sistemas nacionales de salud [114]. Nuestro estudio estima el coste de un caso de HSIL/CIN2-3 en 2.796.66€, valor muy superior a otros estudios en Estados Unidos en los que el coste medio por CIN1 es de 1.084\$ (960,32€) y por HSIL/CIN2-3 de 1.634\$ (1.447,56€) [115]. Varios factores pueden contribuir a explicar esta diferencia. El primer factor es la diferencia entre los sistemas de

salud entre los dos países. El segundo punto es que la mayoría de series publicadas sobre los costes del tratamiento de las lesiones premalignas de cérvix, incluyen tanto pacientes sometidas a conización, como pacientes con manejo conservador. Nuestro estudio únicamente ha incluido pacientes en las que se ha efectuado una conización cervical, procedimiento que representa la mayor parte del coste total.

Sin embargo, éste es el primer estudio de costes que analiza, la incorporación del test del VPH-IOP en comparación con el VPH a los 6 meses para el seguimiento de las pacientes intervenidas por HSIL/CIN2-3. Es sabido que cerca del 70% de las pacientes negativizarán el virus a los 6 meses de la intervención, porcentaje similar en el test del VPH-IOP [88]. Gracias a la alta sensibilidad y valor predictivo negativo a 24 meses del VPH-IOP, será en este alto porcentaje de pacientes en el que la visita de seguimiento de los 6 meses podría omitirse, reduciendo los costes directos del procedimiento.

En las estimaciones de este estudio, con las reservas pertinentes, y en base a costes de cada procedimiento del Institut Català de la Salut del 2019, la estrategia de incluir el test del VPH-IOP tras la conización para el tratamiento por HSIL/CIN2-3 podría significar un ahorro de 172,64€ por caso, lo que multiplicado por el número de pacientes de cada hospital, de Catalunya y del estado español, el ahorro sería más que considerable.

6.7. Limitaciones del estudio

Los resultados del presente estudio deben interpretarse teniendo en cuenta sus limitaciones, principalmente el tamaño de la muestra y la duración del seguimiento. Sería deseable que los estudios futuros incluyeran un mayor

número de pacientes (estudios multicéntricos) y ampliaran el periodo de seguimiento. Los exámenes clínicos (colposcopia y biopsia dirigida) no fueron realizados por el mismo especialista (si bien todos estaban acreditados por la AEPCC) lo que podría introducir un sesgo al ser pruebas diagnósticas dependientes del observador.

Otra limitación del estudio se refiere a la técnica utilizada para detectar el VPH. Utilizamos la técnica CLART-HPV2 (Genomica®, Spain) que no está aprobada por la FDA. Sin embargo, en nuestro estudio un 95% de las pacientes que tenían positividad para el test del VPH mediante captación de híbridos (HC2) presentaban igualmente positividad en la técnica del CLART-HPV2 lo que aseguraría la validez interna de los resultados.

Asimismo, para el estudio de los costes directos se han tenido en cuenta los valores de cada prestación proporcionados por el Institut Català de Salut, y dichos valores se han extrapolado a nivel nacional, asumiendo que existe homogeneidad en términos de costes en todas las comunidades autónomas, lo cual puede no ser cierto. Por otra parte, no se han estimado los costes indirectos. La realización de un estudio de coste-beneficio, con la cuantificación del impacto económico que supone el stress psicológico en estas pacientes medido a través de escalas de calidad de vida y/o la pérdida de productividad laboral, permitiría hacer una aproximación a los costes indirectos, que sumados a los costes directos, proporcionarían una visión más precisa del impacto económico real de procedimiento.

**Capítulo 7. Líneas futuras de investigación
basadas en este proyecto**

El tratamiento estándar de las pacientes diagnosticadas de HSIL/CIN2-3 es la conización cervical, que consigue la curación de la enfermedad en un 90% de los casos. Tras el tratamiento, se requiere un seguimiento estricto, que en la actualidad incluye la realización de una citología y test de VPH a los 6 meses tras la cirugía. Como alternativa al manejo actual, a través de nuestro trabajo de la presente tesis doctoral se ha propuesto la realización del test del VPH de forma intraoperatoria (VPH-IOP), que resultaría negativo en caso de extirparse completamente la lesión y positiva en caso de que la escisión fuera incompleta.

Habiéndose demostrado la hipótesis de que en aquellas pacientes tratadas por HSIL/CIN2-3 mediante una conización cervical, el test del VPH-IOP tiene el mismo valor pronóstico y diagnóstico que el test del VPH a los 6 meses tras la conización, sería necesario diseñar estudios futuros para confirmar nuestro resultado en una serie de pacientes más numerosa que las 304 mujeres que conforman el presente trabajo. Para ello sería muy recomendable efectuar un estudio multicéntrico, prospectivo y observacional en una amplia cohorte de pacientes con lesión intraepitelial cervical de alto grado.

Otra línea de investigación sería la realización de una evaluación económica con el objetivo de sostener la incorporación de la realización del test del VPH-IOP ante las autoridades sanitarias u otros responsables de los Servicios de Salud. La evaluación económica en el ámbito de la salud es un término que se reserva a aquellos estudios que evalúan comparativamente dos o más alternativas a través de la medición de los costes y resultados de cada una de ellas. Por tanto, para poder hablar de una verdadera evaluación económica, el estudio en cuestión debe cumplir dos requisitos: 1) analizar tanto los costes, como los resultados o consecuencias del programa, técnica,

tratamiento a examinar; y 2) considerar al menos otra alternativa y efectuar una comparación entre ambas. Existen distintas formas de evaluación económica, según en qué términos se valoren los resultados/beneficios derivados de cada alternativa analizada, incluyendo análisis de coste-beneficio, coste-efectividad y coste-utilidad

En el contexto de este proyecto, la opción más directamente aplicable, como línea futura de investigación, correspondería al planteamiento de un análisis de coste-beneficio, comparando la intervención que se propone con la actuación actualmente aceptada (determinación intraoperatoria del VPH y sustituyendo el control del VPH a los 6 meses). Como estudio adicional, se plantearía el análisis de los costes indirectos (p.ej. repercusiones psicológicas para las pacientes, impacto sobre la actividad laboral). La estimación de los costes directos e indirectos permitiría una aproximación real al coste-beneficio neto de la determinación del VPH-IOP.

Finalmente, otro estudio futuro que podría derivar de esta tesis sería la evaluación de distintos biomarcadores tales como la tinción dual citológica o la hipermetilación, comparándolos con el genotipado en aquellas pacientes con el test del VPH-IOP positivo con el fin de mejorar la especificidad y el valor predictivo positivo de esta prueba y conseguir una optimización en el manejo de las pacientes.

Capítulo 8. Conclusiones

1. El test del VPH-IOP presenta una sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivo y negativo para la recurrencia de alto grado tras una conización cervical similar a los del test del VPH realizado a los 6 meses de la intervención.
2. La tasa de recurrencia de alto grado observada ha sido de 41,84 por 1,000 mujeres año mientras que la de bajo grado, de 99,10 por 1000 mujeres año.
3. Existe una fuerte asociación entre la positividad del test del VPH-IOP y a los 6 meses y la recurrencia de alto grado.
4. En referencia a los tipos de VPH, únicamente la positividad para el genotipo 16, tanto en el estudio intraoperatorio como a los 6 meses tras la conización, se asocia a recurrencia de alto grado.
5. La coincidencia entre el genotipo previo y el posterior a la intervención, es decir la persistencia del mismo genotipo de VPH tras la conización, se asocia a recurrencia de alto grado.
6. La presencia de márgenes quirúrgicos afectados, especialmente el margen endocervical, y la positividad en la muestra endocervical se asocian a recurrencia de alto grado.
7. La sensibilidad, especificidad, VPP y VPN para el diagnóstico de recurrencia de alto grado de los márgenes quirúrgicos y del LEC han sido de 68.42%, 83.86%, 22.03%, 97.55% y 53.85%, 98.29%, 63.64%, 97.46% respectivamente. Si bien su sensibilidad es inferior a la del test del VPH, tanto intraoperatorio como a los 6 meses, el LEC es la técnica que presenta mejor especificidad.

8. No se ha observado asociación entre otros factores como la edad, tabaco o cambios colposcópicos mayores y la recurrencia de alto grado.
9. La aplicación del protocolo de seguimiento mediante el test del VPH-IOP supone una reducción sustancial de los costes directos respecto al seguimiento estándar actual. Se precisan nuevos estudios de coste-beneficio que incluyan los costes directos y también los costes indirectos para conocer el impacto económico total del protocolo propuesto para el sistema nacional de salud.

Capítulo 9. Bibliografía

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018;68:394-424.
2. Bray F, Loos AH, Mc Carron P, Widempass E, Arbyn M, Moller H, et al. Trends in cervical squamous cell carcinoma incidence in 13 European countries: changing risk and the effects of screening. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:677-686.
3. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015;136:E359-86.
4. Red Española de Registro de Cáncer. REDECAN, 2019. Disponible en: <http://redecan.org/es/index.cfm>. Consultado el 12 de julio de 2019.
5. Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RH, eds. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. 4th ed. Lyon: International Agency of Research on Cancer (IARC); 2014. pp. 169-206.
6. Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, Heller DS, Henry MR, Luff RD, et al. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *Arch Pathol Lab Med* 2012;136:1266-1297.
7. Richart RM. Influence of diagnostic and therapeutic procedures on the distribution of cervical intraepithelial neoplasia. *Cancer* 1966;19:1635-1638.
8. Richart RM. A modified terminology for cervical intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol* 1990;7:131-133.

9. The Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses: revised after the second National Cancer Institute Workshop, April 29-30, 1991. *Acta Cytol* 1993;37:115-124.
10. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al. The 2001 Bethesda system: Terminology for reporting results of cervical cytology (review). *JAMA* 2002;287:2114-2119.
11. Rijkaart DC, Berkhof J, van Kemenade FJ, Coupe VM, Hesselink AT, Rozendaal L, et al. Evaluation of 14 triage strategies for HPV DNA-positive women in population-based cervical screening. *Int J Cancer* 2012;130:602-610.
12. Ho G, Einstein M, Romney S, Kadish A, Abadi M, Mikhail M, et al. Risk factors for persistent cervical intraepithelial neoplasia grades 1 and 2 managed by watchful waiting. *Low Genit Tract Dis* 2011;15:268-275.
13. Quint KD, de Koning MN, Quint WG, Pirog EC. Progression of cervical low grade squamous intraepithelial lesions: in search of prognostic biomarkers. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2013;170:501-506.
14. Moscicki AB, Shiboski S, Hills NK, Powell KJ, Jay N, Hanson EN, et al: Regression of low-grade squamous intra-epithelial lesions in young women. *Lancet* 2004;364:1678-1683.
15. Matsumoto K, Oki A, Furuta R, Maeda H, Yasugi T, Takatsuka N, et al. Predicting the progression of cervical precursor lesions by human papillomavirus genotyping: a prospective cohort study. *Int J Cancer* 2011;128:2898-2910.
16. McCredie MR, Sharples KJ, 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;9:425-434.
17. Schiffman M, Wentzensen N, Wacholder S, Kinney W, Gage JC, Castle PE. Human papillomavirus testing in the prevention of cervical cancer. *J Natl Cancer Inst* 2011;103:368-383.
 18. Walboomers JM, Jacobs M, Manos M, Bosch FX, Kummer JA, Shah K, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999;189:12-19.
 19. Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002;55:244-265.
 20. Winer RL, Lee S-K, Hughes JP, Adam DE, Kiviat NB, Koutsky LA. Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. *Am J Epidemiol* 2003;157:218-226.
 21. Castellsagué X, Iftner T, Roura E, Vidart JA, Kjaer SK, Bosch FX, et al. Prevalence and genotype distribution of human papillomavirus infection of the cervix in Spain: the CLEOPATRE study. *J Med Virol* 2012;84:947-956.
 22. International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer. Cervical carcinoma and reproductive factors: collaborative reanalysis of individual data on 16,563 women with cervical carcinoma and 33,542 women without cervical carcinoma from 25 epidemiological studies. *Int J Cancer* 2006;119:1108-1124.
 23. Appleby P, Beral V, Berrington de González A, Colin D, Franceschi S, Goodill A, et al. Carcinoma of the cervix and tobacco smoking: collaborative reanalysis of individual data on 13,541 women with carcinoma of the cervix and 23,017

- women without carcinoma of the cervix from 23 epidemiological studies. *Int J Cancer* 2006;118:1481-1495.
24. Papillomaviruses: Molecular Biology of Human Viruses. In: *Encyclopedia of Virology* (Internet). Elsevier; 2008 (cited 2012 Dec 7). Disponible en: <http://xpv.uab.cat/science/article/pii/DanaiInfo=awxyCwhovloou4sr9Qu76+B9780123744104004581>. Consultado el 10 de julio de 2019.
 25. Chaturvedi AK, Madeleine MM, Biggar RJ, Engels EA. Risk of human papillomavirus-associated cancers among persons with AIDS. *J Natl Cancer Inst* 2009;101:1120-1130.
 26. Strickler HD, Palefsky JM, Shah KV, Anastos K, Klein RS, Minkoff H, et al. Human papillomavirus type 16 and immune status in human immunodeficiency virus-seropositive women. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:1062-1071.
 27. Muñoz N, Castellsagué X, de González AG, Gissmann L. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine* 2006;24 Suppl3:S3/1-10.
 28. Woodman CB, Collins SI, Young LS. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. *Nat Rev Cancer* 2007;7:11-22.
 29. Muñoz N, Bosch F, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah K, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Eng J Med* 2003;348:518-527.
 30. Khan MJ, Castle PE, Lorincz AT, Wacholder S, Sherman M, Scott DR et al. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:1072-1079.

31. Bosch F, Burchell A, Schiffman M, Guiliano A, de Sanjosé R, Bruni L, et al. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and type-specific implications in cervical neoplasia. *Vaccine* 2008;26 Suppl 10:k1-6.
32. Zuna R, Allen R, Moore W, Mattu R, Dunn S. Comparison of human papillomavirus genotypes in high-grade squamous intraepithelial lesions and invasive cervical carcinoma: evidence for differences in biologic potential of precursor lesions. *Mod Pathol* 2004;17:1314-1322.
33. Clifford G, Smith J, Aguado T, Francheschi S. Comparison of HPV type distribution in high-grade cervical lesions and cervical cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2003;89:101-105.
34. Clifford GM, Rana RK, Franceschi S, Smith JS, Gough G, Pimenta JM. Human papillomavirus genotype distribution in low-grade cervical lesions: comparison by geographic region and with cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:1157-1164.
35. Massad LS, Einstein MH, Huh WK, Katki HA, Kinney WK, Schiffman M, et al. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. *Obstet Gynecol* 2013;121:829-846.
36. Torné A; Del Pino M CM, Alameda F, Andia D, Castellsagué X, Cortés J, et al. Guía de cribado del cáncer de cuello de útero en España, 2014. *Prog Obstet Ginecol* 2014;57(Suppl 1):1-53.
37. Jeronimo J, Castle PE, Temin S, Shastri SS. Secondary prevention of cervical cancer: American Society of Clinical Oncology Resource-Stratified Clinical Practice Guideline Summary. *J Oncol Pract* 2017;13:129-133.

38. Sørbye SW, Fismen S, Gutteberg TJ, Mortensen ES, Skjeldestad FE. HPV mRNA is more specific than HPV DNA in triage of women with minor cervical lesions. *PLoS One* 2014;9:e112934. doi: 10.1371/journal.pone.0112934.
39. Wentzensen N, Schwartz L, Zuna RE, Smith K, Mathews C, Gold MA, et al. Performance of p16/Ki-67 immunostaining to detect cervical cancer precursors in a colposcopy referral population. *Clin Cancer Res* 2012;18:4154-4162.
40. Ikenberg H, Bergeron C, Schmidt D, Griesser H, Alameda F, Angeloni C, et al. Screening for cervical cancer precursors with p16/Ki-67 dual-stained cytology: results of the PALMS study. *J Natl Cancer Inst* 2013;105:1550-1557.
41. Sanati S, Huettner P, Ylagan LR. Role of ProExC: a novel immunoperoxidase marker in the evaluation of dysplastic squamous and glandular lesions in cervical specimens. *Int J Gynecol Pathol* 2010;29:79-87.
42. Yoshida H, Sumi T, Hyun Y, Nakagawa E, Hattori K, Yasui T, et al. Expression of survivin and matrix metalloproteinases in adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Oncol Rep* 2003;10:45-49.
43. Branca M, Giorgi C, Santini D, Di Bonito L, Ciotti M, Costa S, et al. Survivin as a marker of cervical intraepithelial neoplasia and high-risk human papillomavirus and a predictor of virus clearance and prognosis in cervical cancer. *Am J Clin Pathol* 2005;124:113-121.
44. Gupta N, Srinivasan R, Rajwanshi A. Functional biomarkers in cervical precancer: an overview. *Diagn Cytopathol* 2010;38:618-623.
45. Hesselink AT, Heideman DA, Steenbergen RD, Coupé VM, Overmeer RM, Rijkaart D, et al. Combined promoter methylation analysis of CADM1 and MAL: an objective triage tool for high-risk human papillomavirus DNA-positive women. *Clin Cancer Res* 2011;17:2459-2465.

46. Overmeer RM, Louwers JA, Meijer CJ, van Kemenade FJ, Hesselink AT, Daalmeijer NF, et al. Combined CADM1 and MAL promoter methylation analysis to detect (pre-)malignant cervical lesions in high-risk HPV-positive women. *Int J Cancer* 2011;129:2218-2225.
47. Iftner T, Villa LL. Chapter 12: Human papillomavirus technologies. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003;(31):80-88.
48. Bulkmands NW, Berkhof J, Rozendaal L, van Kemenade FJ, Boeke AJ, Bulk S, et al. Human papillomavirus DNA testing for the detection of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 and cancer: 5-year follow-up of a randomised controlled implementation trial. *Lancet* 2007;370:1764-1772.
49. Ogilvie GS, van Niekerk D, Kraiden M, Smith LW, Cook D, Gondara L, et al. Effect of screening with primary cervical HPV testing vs cytology testing on high-grade cervical intraepithelial neoplasia at 48 months. *JAMA* 2018;320:43-52.
50. Dillner J, Rebolj M, Birembaut P, Petry KU, Szarewski A, Munk C, et al. Long term predictive values of cytology and human papillomavirus testing in cervical cancer screening: joint European cohort study. *BMJ* 2008;337:a1754. doi: 10.1136/bmj.a1754.
51. Katki HA, Kinney WK, Fetterman B, Lorey T, Poitras NE, Cheung L, et al. Cervical cancer risk for women undergoing concurrent testing for human papillomavirus and cervical cytology: a population-based study in routine clinical practice. *Lancet Oncol* 2011;12:663-672.
52. Kotaniemi-Talonen L, Anttila A, Malila N, Laurila P, Hakama M, Nieminen P, et al: Screening with a primary human papillomavirus test does not increase

- detection of cervical cancer and intraepithelial neoplasia 3. *Eur J Cancer* 2008;44:565-571.
53. Cuzick J, Arbyn M, Sankaranarayanan R, Tsu V, Ronco G, Mayrand MH, et al. Overview of human papillomavirus-based and other novel options for cervical cancer screening in developed and developing countries. *Vaccine* 2008;26 Suppl 10:K29-41.
54. Bray F, Carstensen B, Moller H, Zappa M, Zakej MP, Lawrence G, et al. Incidence trends of adenocarcinoma of the cervix in 13 European countries. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:2191-2199.
55. Ordi J, Alonso I, Torné A, Esteve R, Sierra E, Campo E, et al. Human papillomavirus load in Hybrid Capture II assay: does increasing the cutoff improve the test. *Gynecol Oncol* 2005;99:313-319.
56. Meijer CJ, Berkhof J, Castle PE, Hesselink AT, Franco EL, Ronco G, et al. Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. *Int J Cancer* 2009;124:516-520.
57. Herraiz-Hernandez E, Preda O, Alonso S, Pardo RS, Olmo A. Detection and genotyping of human papillomavirus DNA in formalin-fixed paraffin-embedded specimens with the HPV Direct Flow CHIP System. *Open Virol J* 2013;7:91-95.
58. Heideman DA, Hesselink AT, van Kemenade FJ, Iftner T, Berkhof J, Topal F, et al. The Aptima HPV assay fulfills the cross-sectional clinical and reproducibility criteria of international guidelines for human papillomavirus test requirements for cervical screening. *J Clin Microbiol* 2013;51:3653-3657.

59. Giorgi Rossi P, Benevolo M, Vocaturo A, Caraceni D, Ciccocioppo L, Frega A, et al. Prognostic value of HPV E6/E7 mRNA assay in women with negative colposcopy or CIN1 histology result: a follow-up study. *PLoS One* 2013;8: e57600. doi: 10.1371/journal.pone.0057600.
60. Arbyn M, Ronco G, Anttila A, Meijer CJ, Poljak M, Ogilvie G, et al. Evidence regarding human papillomavirus testing in secondary prevention of cervical cancer. *Vaccine* 2012;30 Suppl 5:F88-99.
61. van der Graaf Y, Vooijs GP, Gaillard HL, Go DM. Screening errors in cervical cytologic screening. *Acta Cytol* 1987;31:434-438.
62. Castle PE, Bulten J, Confortini M, Klinkhamer P, Pellegrini A, Siebers AG, et al. Age-specific patterns of unsatisfactory results for conventional Pap smears and liquid-based cytology: data from two randomised clinical trials. *BJOG* 2010;117:1067-1073.
63. de Bekker-Grob EW, de Kok IM, Bulten J, van Rosmalen J, Vedder JE, Arbyn M, et al. Liquid-based cervical cytology using ThinPrep technology: weighing the pros and cons in a cost-effectiveness analysis. *Cancer Causes Control* 2012;23:1323-1331.
64. O'Connor DM. A brief's history of lower genital tract screening. *Low Gebit Tract Dis* 2007;11:182-188.
65. Jeronimo J, Schiffman M. Colposcopy at a crossroads. *Am J Obstet Gynecol* 2006;195:349-353.
66. Mitchell MF, Schottenfeld D, Tortolero-Luna G, Cantor SB, Richards-Kortum R. Colposcopy for the diagnosis of squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis. *Obstet Gynecol* 1998;91:626-631.

67. van der Marel J, van Baars R, Rodriguez A, Quint WG, van de Sandt MM, Berkhof J, et al. The increased detection of cervical intraepithelial neoplasia when using a second biopsy at colposcopy. *Gynecol Oncol* 2014;135:201-207.
68. Bornstein J, Bentley J, Bösze P, Girardi F, Haefner H, Menton M, et al. 2011 colposcopic terminology of the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy. *Obstet Gynecol* 2012;120:166-172.
69. Al-Nourhji O, Beckmann MJ, Markwell SJ, Massad LS. Pathology correlates of a Papanicolaou diagnosis of low-grade squamous intraepithelial lesion, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion. *Cancer* 2008;114:469-473.
70. Parker MF, Zahn CM, Vogel KM, Olsen CH, Miyazawa K, O'Connor DM. Discrepancy in the interpretation of cervical histology by gynecologic pathologists. *Obstet Gynecol* 2002;100:277-280.
71. Soutter WP, Butler JS, Tipples M. The role of colposcopy in the follow up of women treated for cervical intraepithelial neoplasia. *BJOG* 2006;113:511-514.
72. 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;101:721-728.
73. Ghaem-Maghami S, Sagi S, Majeed G, Souter WP. Incomplete excision of cervical intraepithelial neoplasia and risk of treatment failure: a meta-analysis. *Lancet Oncol* 2007;8:985-993.
74. Arbyn M, Redman CWE, Verdoodt F, Kyrgiou M, Tzafetas M, Ghaem-Maghami S, et al. Incomplete excision of cervical precancer as a predictor of treatment failure: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol* 2017;18:1665-1679.

75. Cui Y, Sangi-Haghpeykar H, Patsner B, Bump JMM, Williams-Brown MY, Binder GL, et al. Prognostic value of endocervical sampling following excision of high grade intraepithelial neoplasia. *Gynecol Oncol* 2017;144:547-552.
76. Wu J, Jia Y, Luo M, Duan Z. Analysis of residual/recurrent disease and its risk factors after loop electrosurgical excision procedure for high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Gynecol Obstet Invest* 2016;81:296-301.
77. Cuello MA, Espinosa ME, Orlandini EJ, Hwang DY. The value of endocervical curettage during loop electrosurgical excision procedures in predicting persistent/recurrent preinvasive cervical disease. *Int J Gynaecol Obstet* 2018;141:337-343.
78. Wright TC Jr, Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D. 2006 consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia or adenocarcinoma in situ. *J Low Genit Tract Dis* 2007;11:223-239.
79. Guías clínicas de la Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia (AEPC) 2014. Disponible en: http://www.aepcc.org/wp-content/uploads/2016/01/AEPC_revista02.pdf. Consultado el 15 de julio de 2019.
80. Onuki M, Matsumoto K, Sakurai M, Ochi H, Minaguchi T, Satoh T, et al. Posttreatment human papillomavirus testing for residual or recurrence high-grade cervical intraepithelial neoplasia: a pooled analysis. *J Gynecol Oncol* 2016;27:e3. doi: 10.3802/jgo.2016.27.e3.
81. Jancar N, Rakar S, Poljak M, Fujs K, Kocjan BJ, Vrtacnik-Bokal E. Efficiency of three surgical procedures in eliminating high-risk human papillomavirus

- infection in women with precancerous cervical lesions. *Eur J Gynecol Oncol* 2006;27:239-242.
82. Arbyn M, Paraskevidis E, Martin-Hirsch P, Prendiville W, Dillner J. Clinical utility of HPV-DNA detection: triage of minor cervical lesions, follow-up of women treated for high-grade CIN: an update of pooled evidence. *Gynecol Oncol* 2005;99 (3 Suppl 1):S7-11.
83. Venturoli S, Costa S, Barbieri D, Falasca A, Marra E, Garutti P, et al. Time to viral clearance after successful conservative treatment for high risk HPV infected high grade cervical intraepithelial neoplasia and early invasive squamous cervical carcinoma. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2016;86:270-272.
84. Torne A, Fuste P, Rodriguez-Carunchio L, Alonso I, del Pino M., Nonell R, et al. Intraoperative postconisation human papillomavirus testing for early detection of treatment failure in patients with cervical intraepithelial neoplasia: a pilot study. *BJOG* 2013;120:392-399.
85. Nobbenhuis MA, Meijer CJ, van den Brule AJ, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Risse EK, et al. Addition of high-risk HPV testing improves the current guidelines on follow-up after treatment for cervical intraepithelial neoplasia. *Br J Cancer* 2001;84:796-801.
86. Verguts J, Bronselaer B, Donders G, Arbyn M, Van Eldere J, Drijkoningen M, et al. Prediction of recurrence after treatment for high-grade cervical intraepithelial neoplasia the role of human papillomavirus testing and age at conisation. *BJOG* 2006;113:1303-1307.
87. Gök M, Coupé VM, Berkhof J, Verheijen RH, Helmerhorst TJ, Hogewoning CJ, et al. HPV16 and increased risk of recurrence after treatment for CIN. *Gynecol Oncol* 2007;104:273-275.

88. Alonso I, Torné A, Puig-Tintoré LM, Esteve R, Quinto LI, Campo E, et al. Pre- and post-conization high-risk HPV testing predicts residual/recurrent disease in patients treated for CIN2-3. *Gynecol Oncol* 2006;103:631-636.
89. Kocken M, Uijterwaal MH, de Vries AL, Berkhof J, Ket JC, Helmerhorst TJ, et al. High risk human papillomavirus testing versus cytology in predicting post-treatment disease in women treated for high-grade cervical disease: a systematic review and meta-analysis. *Gynecol Oncol* 2012;125:500-507.
90. Katki HA, Schiffman M, Castle PE, Fetterman B, Poitras NE, Lorey T, et al. Five-year risk of recurrence following treatment of CIN2, CIN 3, or AIS: performance of HPV and Pap contesting in post-treatment management. *J Low Genit Tract Dis* 2013;17 (5 Suppl 1):S78-S84.
91. Heymans J, Benoy IH, Poppe W, Depuydt CE. Type-specific HPV geno-typing improves detection of recurrent high-grade cervical neoplasia after conisation. *Int J Cancer* 2011;129:903-909.
92. Rabasa J, Bradbury M, Sanchez-Iglesias JL, Guerrero D, Forcada C, Alcalde A, et al. Evaluation of the intraoperative human papillomavirus test as a marker of early cure at 12 months after electrosurgical excision procedure in women with cervical high-grade squamous intraepithelial lesion: a prospective cohort study. *BJOG* 2019. doi: <https://doi.org/10.1111/1471-0528.15932>.
93. Castellsagué X, Rémy V, Puig-Tintoré LM, de la Cuesta RS, González-Rojas N, Cohet C. Epidemiology and costs of screening and management of precancerous lesions of the cervix in Spain. *J Low Genit Tract Dis* 2009;13:38-45.

94. Zielinski GD, Bais AG, Helmerhorst TJ, Verheijen RH, de Shipper FA, Snijders PJ, et al. HPV testing and monitoring of women after treatment of CIN3: review of the literature and meta-analysis. *Obstet Gynecol Surv* 2004;59:543-553.
95. Soutter WP, Sasieni P, Panoskaltsis T. Long-term risk of invasive cervical cancer after treatment of squamous cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer* 2006;118:2048-2055.
96. Chan PK, Ho WC, Wong MC, Chang AR, Chor JS, Yu MY. Epidemiologic risk profile of infection with different groups of human papillomaviruses. *J Med Virol* 2009 Sep;81(9):1635-1644.
97. Houfflin Debarge V, Collinet P, Vinatier D, Ego A, Dewilde A, Boman F, et al. Value of human papillomavirus testing after conization by loop electrosurgical excision for high-grade squamous intraepithelial lesions. *Gynecol Oncol* 2003;90:587-592.
98. Uijterwaal MH, Witte BI, Kemenade FJ Van, Rijkaart D, Ridder R, Berkhof J, et al. Triaging borderline/mild dyskaryotic Pap cytology with p16/Ki-67 dual-stained cytology testing: cross-sectional and longitudinal outcome study. *Br J Cancer* 2014;110:1579-1586.
99. Wright TC Jr, Behrens CM, Ranger-Moore J, Rehm S, Sharma A, Stoler MH, et al. Triaging HPV-positive women with p16/Ki-67 dual-stained cytology: Results from a sub-study nested into the ATHENA trial. *Gynecol Oncol* 2017;144:51-56.
100. Kang WD, Oh MJ, Kim SM, Nam JH, Park CS, Choi HS. Significance of human papillomavirus genotyping with high-grade cervical intraepithelial neoplasia treated by a loop electrosurgical excision procedure. *Am J Obstet Gynecol* 2010;203:72.e1-6.

101. Kang WD, Kim SM. Human papillomavirus genotyping as a reliable prognostic marker of recurrence after loop electrosurgical excision procedure for high grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN2-3) especially in postmenopausal women. *Menopause* 2016;23:81-86.
102. Del Mistro A, Matteucci M, Insacco EA, Onnis G, Da Re F, Baboci L, et al. Long-term clinical outcome after treatment for high-grade cervical lesions: a retrospective monoinstitutional cohort study. *Biomed Res Int* 2015; 2015:984528. doi: 10.1155/2015/984528.
103. Heymans J, Benoy IH, Poppe W, Depuydt CE. Type-specific HPV geno-typing improves detection of recurrent high-grade cervical neoplasia after conisation. *Int J Cancer J Int Cancer* 2011;129:903-909.
104. Kjær SK, Frederiksen K, Munk C, Iftner T. Long-term absolute risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 or worse following human papillomavirus infection: role of persistence. *J Natl Cancer Inst* 2010;102:1478-1488.
105. Söderlund-Strand A, Kjellberg L, Dillner J. Human papillomavirus type-specific persistence and recurrence after treatment for cervical dysplasia. *J Med Virol* 2014;86:634-641.
106. 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;12:441-450.
107. Demarquet E, Mancini J, Preaubert L, Gondry J, Chevreau J, Lamblin G, et al. Risk factors of post-large loop excision of the transformation zone recurrent high-grade cervical intraepithelial lesion: a prospective cohort study. *J Low Genit Tract Dis* 2019;23:18-23.

108. Chen L, Liu L, Tao X, Guo L, Zhang H, Sui L. Risk factor analysis of persistent high-grade squamous intraepithelial lesion after loop electrosurgical excisions procedure conization. *Low Genit Tract Dis* 2019;23: 24-27.
109. Chambo Filho A, Garbeloto E, Guarconi JR, Partele MP. Positive endocervical margins at conization: repeat conization or colposcopic follow-up? A retrospective study. *J Clin Med Res* 2015;7:540-544.
110. Shaco-Levy R, Meirovitz M, Eger G, Benharroch D, Dreiherr J. Post-conization endocervical curettage for estimating the risk of persistent or recurrent high-grade dysplasia. *Int J Gynaecol Obstet* 2013;121:49-52.
111. Cejtin HE, Zimmerman L, Mathews M, Patel A. Predictors of Persistent or recurrent disease after loop electrosurgical excision procedure. *J Low Genit Tract Dis* 2017;21:59-63.
112. Cuello MA, Espinosa ME, Orlandini EJ, Hwang DY. The value of endocervical curettage during loop electrosurgical excision procedures in predicting persistent/recurrent preinvasive cervical disease. *Int J Gynaecol Obstet* 2018;141:337-343.
113. Rimel BJ, Ferda A, Erwin J, Dewdney SB, Seamon L, Gao F, et al. Cervicovaginal cytology in the detection of recurrence after cervical cancer treatment. *Obstet Gynecol* 2011;118:548-553.
114. Henk HJ, Insinga RP, Singhal PK, Darkow T. Incidence and costs of cervical intraepithelial neoplasia in a US commercially insured population. *J Low Genit Tract Dis* 2010;14:29-36.
115. Insinga RP, Glass AG, Rush BB. The health care costs of cervical human papillomavirus-related disease. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:114-120.

Anexos



Vall d'Hebron
Hospital

Pg. Vall d'Hebron, 119-129
08035 Barcelona
Tel. 93 489 38 91
Fax 93 489 41 80
ceic@vhir.org

ID-RTF080

INFORME DEL COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTO Y COMISIÓN DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN DEL HOSPITAL UNIVERSITARI VALL D'HEBRON

Sra. Mireia Navarro Sebastián, Secretaria del COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS del Hospital Universitari Vall d'Hebron,

CERTIFICA

Que el Comité de Ética de Investigación con Medicamentos del Hospital Universitario Vall d'Hebron, en el cual la Comisión de proyectos de investigación está integrada, se reunió en sesión ordinaria nº 282 el pasado 17 de febrero de 2017 y evaluó el proyecto de investigación PR(AMI)29/2017 presentado con fecha 01/02/2017, titulado "*Estudio comparativo del test del VPH intraoperatorio post-conización cervical y el test del VPH a los 6 meses del tratamiento, como marcador de curación precoz en pacientes diagnosticadas de neoplasia cervical intraepitelial grado 2/3.*" que tiene como investigador principal al Dr. Jordi Rabasa Antonijuan del Servicio de Oncología de nuestro Centro.

Y que tras emitir un informe aprobado condicionado en dicha reunión y evaluar la documentación recibida posteriormente en respuesta a este informe

Versión de documentos:

- Memoria Versión 2. Octubre 2017.

El resultado de la evaluación fue el siguiente:

DICTAMEN FAVORABLE



El Comité tanto en su composición como en los PNT cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con el Real Decreto 1090/2015, y su composición actual es la siguiente:

Presidenta: Gallego Melcón, Soledad. Médico
 Vicepresidente: Segarra Sarries, Joan. Abogado
 Secretaria: Navarro Sebastián, Mireia. Química
 Vocales: Armadans Gil, Lluís. Médico
 Azpiroz Vidaur, Fernando. Médico
 Balasso, Valentina. Médico
 Cucurull Folguera, Esther. Médico Farmacóloga
 De Torres Ramírez, Inés M. Médico
 Fernández Liz, Eladio. Farmacéutico de Atención Primaria
 Fuentelsaz Gallego, Carme. Enfermera
 Fuentes Camps, Inmaculada. Médico Farmacóloga
 Guardia Massó, Jaume. Médico
 Joshi Jubert, Nayana. Médico
 Hortal Ibarra, Juan Carlos. Profesor de Universidad de Derecho
 Iavecchia, María Luján. Médico Farmacólogo
 Rodríguez Gallego, Alexis. Médico Farmacólogo
 Sánchez Raya, Judith. Médico
 Solé Orsola, Marta. Diplomada Enfermería
 Suñé Martín, Pilar. Farmacéutica Hospital
 Vargas Blasco, Víctor, Médico

En dicha reunión del Comité de Ética de Investigación con Medicamentos se cumplió el quórum preceptivo legalmente.

En el caso de que se evalúe algún proyecto del que un miembro sea investigador/colaborador, éste se ausentará de la reunión durante la discusión del proyecto.

Lo que firmo en Barcelona a 14 de noviembre de 2017

**MIREIA NAVARRO
SEBASTIAN**

Firmado digitalmente por MIREIA NAVARRO SEBASTIAN
 Nombre de reconocimiento (DN): c=ES, ou=Vegeu https://
 www.catcert.cat/veridCAT (03), ou=Serveis Publics de
 Certificacio CPIXSA-2, sn=NAVARRO SEBASTIAN,
 givenName=MIREIA, serialNumber=38121226Z, cn=MIREIA
 NAVARRO SEBASTIAN
 Fecha: 2017.11.15 14:39:09 +01'00'

Sra. Mireia Navarro
 Secretaria del CEIm



EVALUACIÓN DEL TEST DEL VPH INTRAOPERATORIO COMO MARCADOR PRECOZ DE CURACIÓN A LOS 12 MESES POST-CONIZACIÓN POR H-SIL

Jordi Rabasa A., Diana Guerrero L., Cristina Centeno M., Jose Luis Sanchez I., Antonio Gil M., Asun Perez B.
Servicio Ginecología. Hospital Universitari Vall Hebron. Barcelona.

OBJETIVO:

El objetivo principal del estudio es evaluar si el test del VPH intraoperatorio (VPH-IOP) tiene el mismo valor pronóstico de la enfermedad que el test del VPH realizado 6, 12 y 24 meses post-conización.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se incluyeron 216 pacientes diagnosticadas de HSIL mediante biopsia cervical o legrado endocervical y tratadas con conización cervical. Tras la conización, se tomó una muestra endocervical para la determinación del VPH mediante la captura de híbridos HC2 seguido de la técnica CLART-HPV2 para su tipado. El seguimiento post-conización consistió en citología, test del VPH y colposcopia a los 6, 12 y 24 meses. Se comparó el test de VPH-IOP con otros indicadores de recurrencia como los márgenes quirúrgicos y el test del VPH a los 6 meses.

RESULTADOS:

La tasa de recurrencia HSIL fue del 6 %. Existió una fuerte asociación entre un test VPH-IOP positivo y recurrencia (OR 22.56, 95 % IC 1.5-15.52) así como con el test VPH a los 6 meses (OR 16.04, 95 % IC 5.77-149.71) y los márgenes quirúrgicos (OR 4.75, 95 % I 1.5-15.52). La sensibilidad, especificidad, el valor predictivo positivo y negativo del test VPH-IOP fue 51.85, 81.42, 29.17 y 91.98 % y para el test VPH a los 6 meses fue 85.19, 81.08, 39.66 y 97.4 %. Detectamos asociación estadística entre el genotipo 16 (test IOP y a los 6 meses) y recurrencia.

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	ORs	95% CI	p-value
Márgenes quirúrgicos	25% (10.69-44.87)	79.57% (73.05-85.12)	15.56% (6.49-29.46)	87.57% (81.63-92.14)	4.75	(1.5-15.52)	p<0.001
Test VPH IOP	85.71% (57.19-98.22)	80.81% (74.62-86.05)	24% (13.06-38.17)	98.77% (95.61-99.85)	22.56	(5.77-149.71)	p<0.001
Test VPH 6 meses	76.92% (46.19-94.96)	75.88% (69.32-81.65)	17.24% (8.59-29.43)	98.05% (94.41-99.6)	16.04	(4.05-106.74)	p<0.001

CONCLUSIONES:

Con estos resultados, y a falta de incluir un mayor número de pacientes en el estudio, concluimos de momento que el rendimiento diagnóstico de recurrencia de enfermedad del test del VPH-IOP es similar al test a los 6 meses en el control postquirúrgico de pacientes conizadas por HSIL. Además, hemos encontrado que existe una fuerte asociación entre el test de VPH-IOP positivo y recurrencia de enfermedad. Finalmente, el genotipado podría ser útil en la detección de pacientes de alto riesgo de recurrencia.

* Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

BJOG, 2019 Sep 10. doi: 10.1111/1471-0528.15932. [Epub ahead of print]

Evaluation of the intraoperative human papillomavirus test as a marker of early cure at 12 months after electrosurgical excision procedure in women with cervical high-grade squamous intraepithelial lesion: a prospective cohort study.

Rabasa J¹, Bradbury M¹, Sanchez-Iglesias JL¹, Guerrero D¹, Forcada C¹, Alcalde A¹, Pérez-Benavente A¹, Cabrera S¹, Ramon-Caijal S^{2,3}, Hernandez J^{2,3}, Dinares C², García A², Centeno C¹, Gil-Moreno A^{1,3}.

Author information

- 1 Department of Gynaecology and Obstetrics, Vall d'Hebron University Hospital, Barcelona, Spain.
- 2 Department of Pathology, Vall d'Hebron University Hospital, Barcelona, Spain.
- 3 Spanish Biomedical Research Network Centre In Oncology (CIBERONC), Barcelona, Spain.

Abstract

OBJECTIVE: To evaluate if the intraoperative human papillomavirus (IOP-HPV) test has the same prognostic value as the HPV test performed at 6 months after treatment of high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) to predict treatment failure.

DESIGN: Prospective cohort study.

SETTING: Barcelona, Spain.

POPULATION: A cohort of 216 women diagnosed with HSIL and treated with loop electrosurgical excision procedure (LEEP).

METHODS: After LEEP, an HPV test was performed using the Hybrid Capture 2 system. If this was positive, genotyping was performed with the CLART HPV2 technique. The IOP-HPV test was compared with HPV test at 6 months and with surgical margins.

MAIN OUTCOME MEASURE: Treatment failure.

RESULTS: Recurrence rate of HSIL was 6%. There was a strong association between a positive IOP-HPV test, a positive 6-month HPV test, positive HPV 16 genotype, positive surgical margins and HSIL recurrence. Sensitivity, specificity, and positive and negative predictive values of the IOP-HPV test were 85.7, 80.8, 24.0 and 98.8% and of the HPV test at 6 months were 76.9, 75.8, 17.2 and 98.0%.

CONCLUSION: Intraoperative HPV test accurately predicts treatment failure in women with cervical intraepithelial neoplasia grade 2/3. This new approach may allow early identification of patients with recurrent disease, which will not delay the treatment. Genotyping could be useful in detecting high-risk patients.

TWEETABLE ABSTRACT: IOP-HPV test accurately predicts treatment failure in women with CIN 2/3.

© 2019 Royal College of Obstetricians and Gynaecologists.

KEYWORDS: Follow up; human papillomavirus; loop electrosurgical excision procedure; recurrence; squamous intraepithelial lesion

