

**IOSUD – UNIVERSITATEA „DUNĂREA
DE JOS” DIN GALAȚI
Școala doctorală de Științe Biomedicale**



REZUMAT TEZĂ DE DOCTORAT

**INCIDENȚA ȘI MANAGEMENTUL
DISPLAZIILOR CERVICALE**

**Doctorand,
MUNTEANU Iulian-Valentin**

**Conducător științific,
Prof. Univ. Dr. Habil. CĂLIN Alina-Mihaela**

Seria M Medicina Nr. 41

GALAȚI

2025

**IOSUD – UNIVERSITATEA „DUNĂREA DE JOS”
DIN GALAȚI**

Școala doctorală de Științe Biomedicale



REZUMAT TEZĂ DE DOCTORAT

**INCIDENȚA ȘI MANAGEMENTUL DISPLAZIILOR
CERVICALE**

**Doctorand
MUNTEANU Iulian-Valentin**

Președinte Prof. univ. dr. habil. TUTUNARU Dana

Conducător științific Prof. univ. dr. habil. CĂLIN Alina

Mihaela

Referenți științifici Prof. univ. dr. habil. NEMESCU

Dragoș

Conf. univ. dr. ANASTASIU Costin-Vlad

Conf. univ. dr. habil. MITREA Geta

Seria M Medicina Nr. 41

GALAȚI

2025

Seriile tezelor de doctorat susținute public în UDJG începând cu 1 octombrie 2013 sunt:

Domeniul fundamental ȘTIINȚE INGINEREȘTI

Seria I 1: Biotehnologii

Seria I 2: Calculatoare și tehnologia informației

Seria I 3: Inginerie electrică

Seria I 4: Inginerie industrială

Seria I 5: Ingineria materialelor

Seria I 6: Inginerie mecanică

Seria I 7: Ingineria produselor alimentare

Seria I 8: Ingineria sistemelor

Seria I 9: Inginerie și management în agricultură și dezvoltare rurală

Domeniul fundamental ȘTIINȚE SOCIALE

Seria E 1: Economie

Seria E 2: Management

Seria E 3: Marketing

Seria SSEF: Știința sportului și educației fizice

Seria SJ: Drept

Domeniul fundamental ȘTIINȚE UMANISTE

Seria U 1: Filologie- Engleză

Seria U 2: Filologie- Română

Seria U 3: Istorie

Seria U 4: Filologie - Franceză

Domeniul fundamental MATEMATICĂ ȘI ȘTIINȚE ALE NATURII

Seria C: Chimie

Domeniul fundamental ȘTIINȚE BIOMEDICALE

Seria M: Medicină

Seria F: Farmacie

CUPRINS:

ABREVIERI.....	iv
PARTEA GENERALĂ.....	1
CAPITOLUL 1.....	1
DISPLAZIA CERVICALĂ- DEFINIȚIE ȘI ETIOPATOGENIE.....	1
CAPITOLUL 2.....	3
PROFILUL EPIDEMIOLOGIC GLOBAL, REGIONAL ȘI NAȚIONAL AL DISPLAZIILOR CERVICALE.....	3
CAPITOLUL 3.....	6
PERSPECTIVE ASUPRA PROCESULUI DE SCREENING ȘI DIAGNOSTIC AL DISPLAZIILOR CERVICALE.....	6
CAPITOLUL 4.....	8
ABORDĂRI ALE MANAGEMENTULUI CLINIC A DISPLAZIILOR CERVICALE.....	8
CONTRIBUȚII PERSONALE.....	10
CAPITOLUL 5.....	10
MOTIVAȚIA ȘI OBIECTIVELE STUDIULUI.....	10
CAPITOLUL 6.....	12
UN STUDIU PROSPECTIV PRIVIND PROGRESIA, REGRESIA ȘI PERSISTENȚA LEZIUNILOR CERVICALE: EVALUAREA DIFERITELOR ABORDĂRI DE SCREENING.....	12
6.1. Introducere.....	12
6.2. Material și metode.....	12
6.3.Rezultate.....	13

6.4. Discuții.....	17
6.5. Concluzii.....	18
CAPITOLUL 7.....	19
<i>ABORDAREA RISCURILOR CONCURRENTE ÎN PROGRESIA, REGRESIA ȘI PERSISTENȚA DISPLAZIEI CERVICALE DE GRAD ÎNALT LA PACIENTE CU VÂRSTA PESTE 30 DE ANI – UN STUDIU PROSPECTIV.....</i>	
7.1. Introducere.....	19
7.2. Material și metode.....	19
7.3. Rezultate.....	20
7.4. Discuții.....	23
7.5. Concluzii.....	25
CAPITOLUL 8.....	26
<i>PROFILURILE CLINICE ȘI VIROLOGICE ASOCIATE CU POZITIVITATEA CİNTEC® PLUS: UN STUDIU BAZAT PE CLUSTERIZARE ȘI MODELARE ORIENTATĂ DE DATE.....</i>	
8.1. Introducere.....	26
8.2. Material și metode.....	26
8.3. Rezultate.....	28
8.4. Discuții.....	30
8.5. Concluzii.....	32
CAPITOLUL 9.....	33
<i>ÎNVĂȚARE AUTOMATĂ SUPRAVEGHEATĂ PENTRU PREDICȚIA SEVERITĂȚII NEOPLAZIEI INTRAEPITELIALE CERVICALE UTILIZÂND DATE</i>	

<i>CLINICE, VIROLOGICE ȘI IMUNOCITOCHEMICE: UN STUDIU RETROSPECTIV DIN EUROPA DE EST.....</i>	<i>33</i>
9.1. Introducere.....	33
9.2. Material și metode.....	33
9.3. Rezultate.....	34
9.4. Discuții.....	36
9.5. Concluzii.....	39
<i>CAPITOLUL 10.....</i>	<i>40</i>
<i>COMPARAREA PERFORMANȚEI MARKERILOR DE METILARE PENTRU PREDICȚIA NEOPLAZIEI INTRAEPITELIALE CERVICALE- ANALIZĂ SECUNDARĂ A DATELOR.....</i>	<i>40</i>
10.1. Introducere.....	40
10.2. Material și metode.....	40
10.3. Rezultate.....	41
10.4. Discuții.....	42
10.5. Concluzii.....	44
<i>CAPITOLUL 11.....</i>	<i>45</i>
<i>CONCLUZII GENERALE.....</i>	<i>45</i>
<i>CAPITOLUL 12.....</i>	<i>48</i>
<i>ORIGINALITATE, CONTRIBUȚII PERSONALE ȘI PERSPECTIVE PE CARE LE DESCHIDE TEZA.....</i>	<i>48</i>
<i>ANEXA 1- LISTA FIGURILOR INCLUSE ÎN TEZĂ.....</i>	<i>54</i>
<i>ANEXA 2- LISTA TABELELOR INCLUSE ÎN TEZĂ.....</i>	<i>55</i>
<i>BIBLIOGRAFIE.....</i>	<i>57</i>

ABREVIERI

ACOG: American College of Obstetricians and Gynecologists
ADN: Acid dezoxiribonucleic
AI: Inteligență artificială
ANOVA: Analiza varianței
APOT: Assay for Papillomavirus Oncogene Transcripts
ARNm: Acid ribonucleic mesager
ASC-H: Celule scuamoase atipice, nu se poate exclude o leziune de grad înalt
ASC-US: Celule scuamoase atipice cu semnificație nedeterminată
ASCCP: American Society for Colposcopy and Cervical Pathology
ASCL1: Achaete-Scute Family BHLH TF 1
AUC: Aria de sub curba ROC
BTS: Boli cu transmitere sexuală
CAP-ASCCP: College of American Pathologists – ASCCP
95%CI: Interval de încredere 95%
CIN: Neoplazie intraepitelială cervicală
CIN1: CIN gradul 1
CIN2: CIN gradul 2
CIN2+: CIN gradul 2 sau mai sever
CIN3: CIN gradul 3
CIN3+: CIN gradul 3 sau mai sever
CINtec®: Test imunohistochimic p16/Ki-67
CIS: Carcinom in situ
CK-7: Citokeratina 7
CNN: Rețele neuronale convoluționale
COC: Contraceptive orale combinate
CatBoost: Categorical Boosting

DBSCAN: Density-Based Spatial Clustering of Applications with Noise
 DEGs: Gene diferențial exprimate
 DS: Deviație standard
 ESGO: European Society of Gynaecological Oncology
 FKBP6: FK506 Binding Protein 6
 FR: Raport de fecundabilitate
 GynTect®: Test molecular pentru leziuni cervicale
 HC2: Hybrid Capture 2
 HPV: Virusul Papiloma Uman
 HPV HR: HPV cu risc înalt
 HPV LR: HPV cu risc scăzut
 HR: Raport de hazard (Hazard Ratio)
 HSIL: Leziune intraepitelială scuamoasă de grad înalt
 IMC: Indice de masă corporală
 INTS1: Integrator Complex Subunit 1
 IQR: Interval intercuartilic
 ITS: Infecții cu transmitere sexuală
 KNN: k-Nearest Neighbors
 KPNC: Kaiser Permanente Northern California
 L1: Regularizare de tip Lasso
 L2: Regularizare de tip Ridge
 LEEP: Loop Electrosurgical Excision Procedure
 LHX8: LIM Homeobox 8
 LMICs: Țări cu venituri mici și medii
 LMR: Lymphocyte-to-Monocyte Ratio
 LSIL: Leziune intraepitelială scuamoasă de grad scăzut
 MCM: Mini-Chromosome Maintenance proteins
 ML: Învățare automată
 MLP: Multi-Layer Perceptron
 NB: Naive Bayes
 NILM: Fără leziune intraepitelială sau malignitate
 NLR: Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio
 OMS: Organizația Mondială a Sănătății
 OR: Raport de șanse (Odds Ratio)

PAX1: Paired Box 1
 PCA: Analiza componentelor principale
 PLR: Platelet-to-LymphocyteRatio
 Pap: Test Babeş Papanicolau
 RF: Random Forest
 ROC: ReceiverOperatingCharacteristic
 RR: Risc relativ
 SCC: Carcinom scuamos
 SEC: SonoElastoColposcopie
 SEE: Spațiul Economic European
 SHAP: SHapleyAdditiveexPlanations
 SHR: Raport de hazard subdistribuțional
 SMOTE: SyntheticMinorityOversamplingTechnique
 SOX1: SRY-Box Transcription Factor 1
 SVM: Support Vector Machine
 Sens.: Sensibilitate
 Spec.: Specificitate
 TCT: ThinPrepCytologic Test
 ThinPrep: Citologie în mediu lichid
 UE: Uniunea Europeană
 UMAP: Uniform ManifoldApproximationandProjection
 VPN: Valoare Predictivă Negativă
 VPP: Valoare Predictivă Pozitivă
 XGBoost: eXtreme Gradient Boosting
 ZNF516: Zinc FingerProtein 516
 mRNA: Acid ribonucleic mesager
 miR: microARN specific
 miRNA: microARN
 qPCR: Reacție de polimerizare în lanț cantitativă

PARTEA GENERALĂ

CAPITOLUL 1

DISPLAZIA CERVICALĂ- DEFINIȚIE ȘI ETIOPATOGENIE

Neoplazia intraepitelială cervicală (CIN) cuprinde un spectru de leziuni pre-maligne ale epitelului colului uterin, clasificate în trei grade distincte: CIN1 (displazie ușoară), CIN2 (displazie moderată) și CIN3 (displazie severă sau carcinom in situ), în funcție de gradul de implicare epitelială și de anomaliile citologice.

HPV este recunoscut ca principalul agent etiologic al displaziei cervicale, determinând modificări celulare anormale care, în absența tratamentului, pot progresa către leziuni maligne (1-3). Infecția persistentă cu genotipuri HPV cu risc înalt, în special tipurile 16 și 18, reprezintă cel mai important factor de risc pentru apariția și evoluția neoplaziei intraepiteliale cervicale (CIN) (1).

HPV inițiază procesul displazic prin infectarea celulelor epiteliale cervicale și integrarea ADN-ului viral în genomul gazdei, ceea ce perturbă mecanismele de control ale ciclului celular și favorizează proliferarea necontrolată a celulelor (1, 3, 4). Pe lângă tipul HPV, o serie de factori individuali și de mediu influențează susceptibilitatea și persistența infecției. Printre aceștia se numără fumatul, imunosupresia și co-infecțiile cu agenți precum Chlamydia trachomatis, care pot amplifica riscul de displazie(1). Totodată, disbioza microbiotei vaginale și cervicale, caracterizată prin scăderea dominanței Lactobacillus și creșterea diversității microbiene, este asociată cu persistența infecției HPV și progresia leziunilor CIN (5-7).

Neoplazia intraepitelială cervicală este clasificată în mod tradițional în trei grade histologice: CIN1

(displazie uşoară), CIN2 (displazie moderată) şi CIN3 (displazie severă/carcinom in situ), în funcţie de proporţia de epiteliu cervical afectată. Acest sistem oferă un grad mai mare de acurateţe diagnostică şi considerat util de unii clinicieni, în special în stratificarea riscului şi managementul leziunilor CIN2 (8, 9).

Citologia cervico-vaginală (testul Papanicolau) este metoda standard utilizată în screening-ul populaţional pentru cancerul de col uterin, datorită caracterului său non-invaziv şi specificităţii ridicate, care poate ajunge până la 99,4% (10). Sensibilitatea acestei metode în detectarea displaziei sau cancerului variază între 68% şi 82%, dar poate fi mai scăzută în cazul leziunilor de grad înalt, cu o rată de rezultate false negative de până la 12,5% în unele studii (11, 12).

Evaluarea histologică, realizată de obicei prin biopsie dirijată colposcopic sau proceduri excizionale, reprezintă metoda de referinţă pentru confirmarea şi stadializarea displaziei cervicale (CIN1–3) şi identificarea cazurilor de cancer invaziv (11, 13, 14).

Citologia pe mediu lichid (ex. ThinPrep) prezintă o sensibilitate (76%) şi o specificitate (86%) superioare testului clasic, ceea ce duce la o acurateţe mai bună şi o corelaţie mai fidelă cu diagnosticul histologic (15).

Citologia HSIL are o valoare predictivă pozitivă ridicată: un studiu a raportat un PPV de 90,1% pentru displazia severă, în timp ce displazia moderată şi uşoară au avut PPV de 40,3%, respectiv 23,7% (16).

Diagnosticul molecular a devenit un instrument esenţial în detectarea, clasificarea şi evaluarea riscului în displazia cervicală, oferind o acurateţe superioară şi o obiectivitate crescută faţă de metodele clasice citologice şi histologice.

Unul dintre cei mai promiţători biomarkeri epigenetici este metilarea genelor FAM19A4 şi miR124-2. Hipermetilarea

acestor gene este strâns asociată cu severitatea leziunilor cervicale, în special CIN2/3.

În studii populaționale, testul de metilare FAM19A4/miR124-2 a demonstrat o specificitate ridicată (87–90%) pentru leziuni $\geq$ CIN2, deși sensibilitatea s-a menținut la un nivel moderat (33–50%) (17). Integrarea acestui test cu metodele standard (citologie, testare HPV) crește acuratețea generală și permite reducerea colposcopiilor inutile.

O meta-analiză recentă, care a inclus 43 de studii și peste 16.000 de femei, a raportat o sensibilitate de 68,6% pentru detecția CIN2+ și de 71,1% pentru CIN3+, la un prag de specificitate de 70%. Valorile predictive pozitive (PPV) au fost de 53,4% pentru CIN2+ și 35,0% pentru CIN3+, iar specificitatea a fost semnificativ mai mare decât cea obținută prin citologie ASC-US+, în timp ce sensibilitatea a depășit-o pe cea a genotipării HPV16/18 (18)

Alte panouri genetice de metilare, incluzând genele CCNA1, PAX1, HS3ST2, DAPK1 și TFPI2, au fost, de asemenea, corelate cu severitatea leziunilor. HS3ST2 s-a evidențiat prin capacitatea sa de a diferenția eficient leziunile HSIL/SCC de probele normale sau LSIL, cu sensibilitate și specificitate de 70–80% (19).

CAPITOLUL 2

PROFILUL EPIDEMIOLOGIC GLOBAL, REGIONAL ȘI NAȚIONAL AL DISPLAZIILOR CERVICALE

Neoplasiaintraepitelială cervicală (CIN) și cancerul de col uterin continuă să reprezinte probleme majore de sănătate publică la nivel global, cu variații semnificative în prevalență și incidență în funcție de regiune și nivelul de dezvoltare. Cancerul de col uterin este al patrulea cel mai frecvent cancer

la femei la nivel mondial, iar povara sa este cea mai accentuată în țările cu venituri mici și medii.

Africa înregistrează cea mai mare povară a cancerului cervical la nivel global. În anul 2020, Eswatini a avut cea mai mare rată de incidență ajustată pentru vârstă (ASIR) din lume, 84,6 la 100.000 femei-ani, urmată de Malawi (67,9) și Zambia (65,5). Mortalitatea este de asemenea alarmantă, ajungând la 55,7 la 100.000 în Eswatini (20).

Creșterea incidenței la femeile tinere și în regiunile cu prevalență mare a infecției HIV indică o tendință îngrijorătoare (20-22).

Incidența CIN de grad înalt în Europa variază între 31–186 la 100.000 femei-ani, cu un vârf de prevalență la femeile cu vârste între 25–39 ani. Tipurile HPV16 și HPV18 sunt cele mai frecvent întâlnite în leziunile de grad înalt (57–59%) (23).

Introducerea vaccinării anti-HPV și a strategiilor moderne de screening a transformat semnificativ epidemiologia CIN la nivel global.

Studii populaționale de amploare realizate în Suedia, Anglia, Norvegia, Canada și Statele Unite au demonstrat că vaccinarea anti-HPV reduce semnificativ incidența CIN2+ și CIN3+, eficacitatea atingând 75% atunci când vaccinarea este administrată înainte de vârsta de 17 ani (24-28).

Ratele displaziilor cervicale diferă semnificativ între Europa de Est și cea de Vest, fiind influențate de organizarea programelor de screening, acoperirea vaccinării anti-HPV, infrastructura sistemelor de sănătate și factorii socio-economici.

În Europa de Vest, programele organizate de screening pentru cancerul de col uterin, caracterizate prin rate ridicate de acoperire (>70%), invitații regulate și monitorizare riguroasă a calității, au condus la scăderi semnificative ale incidenței displaziei cervicale și ale mortalității prin cancer de col uterin (29).

În schimb, în Europa de Est, screening-ul este adesea oportunistic sau doar parțial organizat. Acoperirea variază semnificativ, de la câteva procente până la peste 70%, însă în general este mai redusă decât în Vest. Barierele majore includ accesul limitat la servicii medicale, disparitățile socio-economice și lipsa unor mecanisme sistematice de invitare, cum este cazul în Bulgaria și România, unde costurile percepute și barierele structurale reduc semnificativ participarea femeilor la screening, în special în rândul celor cu nivel scăzut de educație sau din mediul rural (30, 31).

Displazia cervicală, precursor al cancerului de col uterin, este determinată de o interacțiune complexă între factori comportamentali, sexuali, imunologici și socioeconomi, ceea ce subliniază necesitatea unei abordări multidimensionale în prevenție și diagnostic precoce. Înțelegerea acestor determinanți permite dezvoltarea unor intervenții eficiente, care să țintească atât mecanismele biologice, cât și inegalitățile sociale asociate bolii.

Acoperirea screening-ului rămâne sub ținta de 70% stabilită de Organizația Mondială a Sănătății în numeroase regiuni, cu rate de participare cuprinse între 47–57% în rândul femeilor tinere din unele țări cu venituri ridicate și chiar mai reduse în țările cu venituri mici și medii (32, 33).

Printre barierele identificate se numără lipsa de cunoștințe privind HPV și displazia cervicală, percepția redusă a relevanței screening-ului în special în rândul femeilor vaccinate, constrângerile de timp, dificultățile logistice și barierele culturale sau lingvistice (32, 34-36).

Grupurile defavorizate, precum imigranții, refugiații, femeile încarcerate și persoanele din mediul rural, se confruntă cu obstacole suplimentare, inclusiv acces limitat la servicii medicale, neîncredere în sistemele de sănătate și dezavantaje socioeconomice (34-36).

Vaccinarea anti-HPV rămâne de asemenea suboptimală la nivel global, cu o acoperire frecvent sub 70% și

rate și mai scăzute în țările cu resurse limitate (37-39). Ezitarea față de vaccinare este alimentată de lipsa de informare, preocupări legate de siguranță, dezinformare, factori culturali și religioși, precum și de recomandări insuficiente din partea personalului medical.

CAPITOLUL 3

PERSPECTIVE ASUPRA PROCESULUI DE SCREENING ȘI DIAGNOSTIC AL DISPLAZIILOR CERVICALE

Citologia Papanicolau, utilizată tradițional ca metodă de bază pentru screening, prezintă o sensibilitate moderată (55,4% pentru leziuni CIN2+) și o specificitate ridicată (96,8%), fiind eficientă în identificarea leziunilor cu semnificație clinică, dar cu risc de a omite cazurile subtile sau incipiente (40).

În schimb, testarea ADN-ului HPV, axată pe detectarea tipurilor de HPV cu risc înalt responsabile de majoritatea cazurilor de cancer cervical, oferă o sensibilitate semnificativ mai mare (94,6% pentru CIN2+) și o specificitate ușor mai redusă (94,1%), comparativ cu citologia (40).

Valoarea predictivă negativă ridicată a acestui test permite extinderea intervalelor de screening, deși crește probabilitatea rezultatelor fals pozitive din cauza infecțiilor tranzitorii (40-42).

Co-testarea, care combină testul Papanicolau cu testarea ADN-ului HPV, asigură cea mai mare sensibilitate (până la 100% pentru CIN2+), reducând considerabil riscul de a rata leziuni relevante clinic, însă cu o ușoară scădere a specificității (92,5%) (40).

Această abordare s-a dovedit deosebit de eficientă la femeile cu vârsta de peste 30 de ani, fiind asociată cu o detecție îmbunătățită a leziunilor precanceroase și cu posibile

economii pe termen lung în ceea ce privește costurile de sănătate (43, 44).

În plus, biomarkerii emergenți precum p16INK4a și ARN-ul mesager HPV E6/E7 au demonstrat o sensibilitate ridicată (95,5–96,4% pentru CIN3+) și o specificitate îmbunătățită (până la 74,8% pentru CIN2+), sugerând potențialul lor pentru optimizarea strategiilor de triaj (45).

În mod similar, genotiparea HPV și evaluarea încărcăturii virale pot contribui la o mai bună stratificare a riscului, în special în cazul infecțiilor persistente (40).

Alegerea metodei optime de screening depinde de echilibrul dintre sensibilitate, specificitate, costuri și resursele disponibile. Datele actuale susțin integrarea progresivă a testării ADN-ului HPV în programele naționale de screening, în vederea optimizării detecției precoce a leziunilor precanceroase și a reducerii incidenței cancerului de col uterin (43, 44).

Din punct de vedere economic, modelele de cost-eficacitate indică faptul că utilizarea co-testării poate conduce la reducerea numărului de cazuri de cancer invaziv și la economii potențiale pe termen lung. Totuși, utilitatea sa depinde de contextul fiecărui sistem de sănătate și de resursele disponibile (46).

În prezent, adoptarea testării HPV și a co-testării variază semnificativ între regiuni, iar lipsa integrării acestor metode riscă să accentueze inegalitățile în rezultatele legate de cancerul de col uterin (43).

Colposcopia reprezintă o piatră de temelie în diagnosticul și managementul displaziei cervicale, oferind vizualizare directă a colului uterin și permițând efectuarea biopsiilor țintite pentru confirmarea histopatologică. Acest instrument diagnostic are o sensibilitate ridicată pentru detectarea leziunilor de grad înalt (CIN2+), cu valori raportate între 83,7% și 96,44% (47-49).

Totuși, specificitatea colposcopiei este variabilă, oscilând între 23% și 40%, deși în anumite populații poate ajunge până la 96,5% (47-49) (16, 9, 13, 16). Valoarea predictivă pozitivă (PPV) pentru leziunile de grad înalt este moderată (62,65%–80,3%), în timp ce valoarea predictivă negativă (NPV) este mai mare (69,7%–94,1%), ceea ce sugerează că metoda este mai eficientă pentru excluderea bolii semnificative decât pentru confirmarea acesteia (49, 50).

CINtec® dual staining (p16/Ki-67) reprezintă un test imunocitochimic validat, utilizat pe scară largă pentru îmbunătățirea detecției și triajului displaziei cervicale, în special la femeile pozitive pentru HPV. Mecanismul său se bazează pe identificarea co-expresiei anormale a markerilor p16, asociat cu dereglarea ciclului celular indusă de HPV, și Ki-67, un marker al proliferării celulare, în cadrul aceleiași celule epiteliale – o caracteristică definitorie a infecțiilor HPV transformante și a leziunilor cervicale de grad înalt (51-53).

Datele clinice existente confirmă valoarea diagnostică ridicată a acestei metode. Un studiu realizat pe un lot de 492 de femei a arătat că CINtec® dual staining are o sensibilitate de 80,7% pentru CIN2+ și de 86,8% pentru CIN3+, cu specificități corespunzătoare de 64,0% și 54,0%. Aceste valori depășesc specificitatea testării HPV singulare, menținând în același timp o sensibilitate clinic relevantă (54).

CAPITOLUL 4

ABORDĂRI ALE MANAGEMENTULUI CLINIC A DISPLAZIILOR CERVICALE

Managementul leziunilor intraepitelialescuamoase cervicale reprezintă un subiect de interes major în practica clinică, datorită implicațiilor sale directe asupra prevenirii cancerului de col uterin și a impactului asupra sănătății

reproductive a pacientelor. Dovezile recente au condus la diferențierea clară a strategiilor de management în funcție de gradul leziunii și de profilul individual al pacientei.

Pentru CIN1, intervenția chirurgicală imediată nu este recomandată, deoarece multiple studii demonstrează o rată ridicată de regresie spontană și lipsa unui beneficiu suplimentar al tratamentului excizional(55). Managementul conservator previne supratratamentul și reduce riscul de complicații obstetricale inutile, fără a compromite siguranța oncologică (55).

În cazul CIN2, abordarea terapeutică este mai complexă, existând un echilibru între tratamentul conservator și cel intervențional. Studii recente susțin managementul conservator în cazuri selectate, în special la femeile tinere sub 30 de ani (56-59).

O meta-analiză ce a inclus 3.160 de paciente a evidențiat o rată de regresie de 50% la 24 de luni, care crește la 60% în rândul femeilor sub 30 de ani (9). Alte cohorte raportează rate de regresie între 57–77% la femeile tinere, cu o progresie către CIN3+ de doar 6–18% și cazuri extrem de rare de progresie către cancer invaziv (56-58, 60-63).

Factori precum prezența HPV-16 și citologia HSIL au fost identificați ca predictori majori ai persistenței sau progresiei leziunilor (61). Totodată, managementul conservator al CIN2 este considerat sigur până la vârsta de 40 de ani, în cazuri atent selecționate, și este asociat cu un grad ridicat de acceptare din partea pacientelor (57, 59, 63).

În concordanță cu aceste date, ghidurile internaționale au început să încurajeze abordarea conservatoare pentru CIN2 la femeile tinere, cu monitorizare atentă prin citologie, colposcopie și testare HPV (57).

În schimb, CIN3 este recunoscut ca precursor direct al cancerului de col uterin și necesită tratament excizional prompt (55). Procedurile standard, precum excizia cu ansă

diatermică sau conizația, oferă rate ridicate de vindecare virologică, însă pot fi asociate cu riscuri obstetricale, cum ar fi nașterea prematură (63).

Considerațiile speciale în managementul leziunilor CIN includ menținerea fertilității și reducerea complicațiilor obstetricale asociate tratamentului chirurgical, aspecte deosebit de importante la femeile de vârstă reproductivă (56, 57).

Succesul abordării conservatoare depinde de complianța pacienților la protocoalele de urmărire (56, 63). În plus, biomarkerii emergenți, precum metilarea ADN și genotiparea HPV, pot contribui la o stratificare mai precisă a riscului și la optimizarea deciziilor terapeutice pentru CIN2 (64).

CONTRIBUȚII PERSONALE

CAPITOLUL 5

MOTIVAȚIA ȘI OBIECTIVELE STUDIULUI

Lucrarea de față a avut în vedere ca și obiectiv general evaluarea incidenței și managementului displaziilor cervicale prin integrarea datelor clinice, virologice și imunocitochimice și compararea performanței diverselor metode de predicție (citologie, genotipare HPV, test CINtec® PLUS, biomarkeri moleculari FAM19A4 și miR-124-2 și modele de învățare automată), cu scopul de a dezvolta o strategie de stratificare optimă a leziunilor cervicale.

Astfel, obiectivele specifice ale tezei au fost reprezentate de următoarele:

1. Determinarea incidenței displaziilor cervicale în cadrul unei cohorte de paciente din România, cu analiza distribuției leziunilor de tip CIN1, CIN2, CIN3

- și a factorilor de risc asociați (vârstă, comportament sexual, istoric medical și de screening).
2. Compararea acurateței predictive a citologiei, genotipării HPV și testului CINtec® PLUS (efectuat pe probe proaspăt recoltate) în predicția progresiei, regresiei sau persistenței leziunilor cervicale, atât individual, cât și în combinație cu factori de risc personali.
 3. Aplicarea modelului de hazard subdistribuțional Fine și Gray pentru evaluarea riscurilor concurente, cu scopul de a estima incidența cumulativă și efectul covariatelor asupra probabilității de evoluție a leziunilor cervicale.
 4. Evaluarea utilității prognostice a ghidurilor ASCCP bazate pe riscuri concurente, prin estimarea probabilităților imediate de progresie, regresie sau persistență a leziunilor, înainte și după tratament, pentru optimizarea strategiilor de management.
 5. Analiza performanței predictive a modelelor de învățare automată supravegheată (regresie logistică, randomforest, SVM, Naive Bayes, KNN, XGBoost, CatBoost) în diferențierea leziunilor CIN1, CIN2 și CIN3 pe baza datelor clinice, virologice și imunocitochimice.
 6. Compararea performanței biomarkerilor moleculari FAM19A4 (FAM) și miR-124-2 (MIR), utilizați individual și în combinație (FAM+MIR), pentru predicția leziunilor CIN2+ și CIN3+, din punct de vedere al sensibilității, specificității, valorilor predictive și acurateței.
 7. Investigarea corelațiilor dintre biomarkeri și leziunile cervicale, inclusiv analiza relațiilor dintre miR-124-2, FAM19A4 și FAM19A4+ miR-124-2 cu diferitele grade de CIN și compararea lor cu markerii HPV tradiționali.

8. Elaborarea unui model integrat de stratificare a riscului, care să combine biomarkerii moleculari, datele clinice și algoritmi de învățare automată, cu scopul de a sprijini deciziile clinice între supraveghere și tratament imediat.

CAPITOLUL 6

UN STUDIU PROSPECTIV PRIVIND PROGRESIA, REGRESIA ȘI PERSISTENȚA LEZIUNILOR CERVICALE: EVALUAREA DIFERITELOR ABORDĂRI DE SCREENING

6.1. Introducere

Stratificarea riscului de progresie, regresie sau persistență a leziunilor cervicale utilizând testul dublu de colorare p16/Ki67 a fost puțin studiată în literatură. Prin urmare, scopul principal al acestui studiu prospectiv a fost să determine și să compare acuratețea predictivă a citologiei, genotipării HPV și CINtecPlus (efectuată pe probe recoltate proaspăt) aplicate individual sau combinate cu factori de risc personali în progresia, regresia sau persistența leziunilor cervicale la paciențele cu infecție HPV confirmată.

6.2. Material și metode

Acest studiu prospectiv a fost desfășurat în cadrul unei clinici private din Iași, România, în perioada octombrie 2022 – decembrie 2023, și a inclus paciente infectate cu HPV, cu sau fără leziuni cervicale documentate, care au fost monitorizate sau programate pentru tratamente excizionale

Rezultatele principale analizate au fost progresia, regresia și persistența leziunilor cervicale. S-a efectuat o analiză de sensibilitate utilizând ca predictorii factorii de risc clinici, rezultatele testelor HPV, citologia și testul CINtecPlus, luate individual sau combinate, raportate la rezultatul histopatologic considerat standard de aur.

6.3. Rezultate

În ceea ce privește progresia, aceasta a fost semnificativ mai frecventă în leziunile de grad înalt comparativ cu cele benigne sau CIN1 ($p = 0.002$).

Cele mai ridicate rate de progresie s-au observat în CIN3 și CIS (50% fiecare), urmate de CIN2 (44,44%), în timp ce doar 15,58% dintre cazurile CIN1 și 6,25% dintre cazurile benigne au prezentat progresie.

Regresia leziunilor a fost semnificativ asociată cu leziunile benigne și CIN1 ($p < 0.0001$). Regresia a fost prezentă la 62,5% dintre cazurile benigne și 11,69% dintre cazurile CIN1, în timp ce pentru leziunile CIN2, CIN3 și CIS nu s-a observat nicio regresie.

În ceea ce privește persistența, aceasta a fost semnificativ mai frecventă în grupurile cu CIN1 și CIN2 ($p = 0.022$). Persistența s-a observat la 72,73% dintre cazurile CIN1, 55,56% dintre cazurile CIN2 și 50% în CIN3 și CIS, în timp ce doar 31,25% dintre cazurile benigne au rămas persistente.

Testele individuale, precum citologia cervicală, au prezentat sensibilități scăzute, variind de la 41,18% pentru ASC-US la doar 17,65% pentru HSIL.

Specificitatea a crescut progresiv, de la 44,16% pentru ASC-US până la 79,05% pentru HSIL. Totuși, ariile de sub curba ROC (AUC) au fost reduse (0,457–0,544), sugerând o capacitate limitată de a diferenția între cazurile cu risc de progresie și cele fără risc semnificativ.

În cazul testării HPV, genotiparea pentru HPV 16/18 a evidențiat o sensibilitate moderată (44,12%) și o specificitate relativ bună (73,33%), cu o acuratețe de 66,19%. Alte tipuri de HPV cu risc înalt au prezentat o sensibilitate mai ridicată (64,71%), dar specificitate redusă (50%), în timp ce HPV cu risc scăzut a avut o sensibilitate minimă (11,76%).

Testul CINtecPlus pozitiv a arătat o sensibilitate de 63,64% și o specificitate de 50,5%. De asemenea, prezența a minimum trei factori de risc clinici a fost asociată cu o sensibilitate de 44,12% și o specificitate de 74,31%, cu o valoare AUC modestă (0,5873), ceea ce indică o utilitate limitată a acestor variabile utilizate izolat. Modelele combinate au demonstrat o capacitate superioară de predicție a progresiei displaziilor cervicale. Asocierea citologiei LSIL cu HPV 16/18 (Model 1) a crescut sensibilitatea la 51% și specificitatea la 89,13% (AUC 0,805).

Integrarea citologiei HSIL cu HPV 16/18 (Model 2) a determinat o creștere suplimentară a sensibilității (60%) și a specificității (92,55%). Adăugarea testului CINtecPlus a îmbunătățit și mai mult performanța (Modelele 3 și 4), cu un AUC de 0,922 în cazul combinației HSIL + HPV 16/18 + CINtecPlus. Cel mai bun rezultat a fost obținut prin integrarea tuturor variabilelor – citologie HSIL, HPV 16/18, CINtecPlus și factori de risc clinici (Modelul 6). Acest model a înregistrat o sensibilitate de 74,42%, o specificitate de 97,92%, un AUC de 0,961 și o acuratețe de 90,65%, reprezentând cea mai bună performanță globală în predicția progresiei displaziilor cervicale.

Analiza performanței testelor individuale a arătat că citologia ASC-US a avut o sensibilitate de 52,63% și o specificitate de 68,33%, cu o acuratețe globală de 66,19% și o valoare AUC de 0,604, sugerând o utilitate moderată pentru identificarea cazurilor cu regresie.

Citologia LSIL a prezentat o sensibilitate foarte scăzută (10,53%) și o acuratețe de doar 50,36%, ceea ce îi

limitează valoarea predictivă atunci când este utilizată singură. În schimb, citologia HSIL a avut o specificitate ridicată (80,0%) și o acuratețe de 71,94%, indicând că poate fi utilă în confirmarea regresiei în cazurile cu leziuni severe.

În privința markerilor virali, detecția HPV 16/18 a înregistrat o sensibilitate scăzută (10,53%), dar o specificitate moderată (65,83%) și o valoare AUC de 0,618, sugerând utilitatea sa limitată ca predictor singular.

Alte tipuri de HPV cu risc înalt au avut o sensibilitate crescută (72,2%), însă specificitatea scăzută (49,17%) ar putea duce la rezultate fals pozitive în predicția regresiei. Pe de altă parte, detecția HPV cu risc scăzut a avut specificitate înaltă (83,05%) și o sensibilitate redusă (15,79%), fiind mai utilă pentru excluderea regresiei decât pentru confirmarea ei.

Rezultatul negativ al testului CINtecPlus și prezența a mai puțin de trei factori de risc clinici au demonstrat performanțe modeste (AUC 0,655, respectiv 0,503), indicând o valoare predictivă redusă atunci când sunt utilizate independent.

Modelele combinate au arătat o îmbunătățire semnificativă a performanței. Modelul 1 (citologie LSIL + HPV 16/18) a avut o specificitate de 88,99% și o acuratețe de 74,8%, cu AUC 0,634, în timp ce Modelul 2 (citologie HSIL + HPV 16/18) a avut valori similare (specificitate 88,29%, acuratețe 74,29%). Modelul 3 (citologie LSIL + HPV negativ + CINtec negativ) a îmbunătățit sensibilitatea la 32% și a atins o acuratețe de 79,29%. Modelul 4 (citologie HSIL + HPV pozitiv + CINtec negativ) a prezentat o specificitate ridicată (87,2%) și o acuratețe de 80,71%.

Modelul 5 (citologie LSIL + HPV negativ + CINtec negativ + risc ≤ 3) a fost cel mai performant, cu sensibilitate 33,3%, specificitate 88%, AUC 0,691 și cea mai mare acuratețe (82,14%), evidențiind beneficiul combinației dintre testele citologice, markerii virali și factorii clinici în predicția regresiei. Modelul 6 (citologie HSIL + HPV negativ + CINtec

negativ + risc <3) a avut sensibilitate redusă (14,29%) și specificitate 85,71%, fiind mai puțin eficient comparativ cu Modelul 5.

Modelul 5 (Citologie LSIL + HPV 16/18 + CINtecPlus pozitiv + factori de risc >3) a prezentat cea mai bună performanță globală pentru predicția persistenței leziunilor cervicale, cu o sensibilitate de 61,04%, o specificitate de 88,71%, o valoare AUC de 0,707 și o acuratețe de 73,38%, sugerând o utilitate superioară în identificarea corectă a cazurilor de regresie.

Modelul 3 (Citologie LSIL + HPV 16/18 + CINtecPlus pozitiv) a avut de asemenea performanțe bune, cu o sensibilitate de 55,70%, specificitate de 83,33% și acuratețe de 67,63%, fiind astfel o variantă eficientă, dar ușor inferioară modelului 5.

Modelul 6 (Citologie HSIL + HPV 16/18 + CINtecPlus pozitiv + factori de risc >3) a avut o specificitate foarte ridicată (95,24%), însă sensibilitatea sa a fost mai scăzută (34,21%), ceea ce indică o mai bună capacitate de a exclude cazurile fără regresie, dar cu riscul de a omite unele cazuri pozitive. Un comportament similar a fost observat și la modelul 4 (Citologie HSIL + HPV 16/18 + CINtecPlus pozitiv), care a avut o specificitate de 90,16%, dar o sensibilitate de doar 28,21%.

Modelele simple, precum Modelul 1 (Citologie LSIL + HPV 16/18) și Modelul 2 (Citologie HSIL + HPV 16/18), au arătat performanțe moderate, cu sensibilități de 47,83% și respectiv 25,64%, iar acuratețile lor au fost de 58,27% și respectiv 52,50%, ceea ce indică limitări în comparație cu modelele care includ și CINtecPlus sau factorii de risc.

În ceea ce privește testele individuale, CINtecPlus pozitiv a avut o sensibilitate de 54,88%, dar o specificitate scăzută (50,00%) și o acuratețe de 52,99%, ceea ce îl face mai puțin performant comparativ cu modelele combinate.

6.4. Discuții

Acest studiu s-a concentrat pe pacientele HPV- pozitive, monitorizate pe o perioadă de un an, evaluând performanța predictivă a diferitelor teste index (citologia, genotiparea HPV și testul CINtecPlus) analizate individual sau în combinație cu factori clinici de risc pentru progresia, regresia sau persistența anomaliilor cervicale.

Rezultatele noastre au arătat că cei mai buni predictor ai progresiei leziunilor cervicale au fost prezența a cel puțin trei factori de risc clinici (acuratețe: 67,13%), citologia HSIL (acuratețe: 64,03%), detecția tulpinilor HPV 16/18 (acuratețe: 66,19%) și un rezultat pozitiv al testului CINtecPlus (acuratețe: 53,73%).

Majoritatea testelor index individuale au avut specificitate ridicată, dar sensibilitate scăzută spre moderată. Un model combinat, care a inclus toate aceste teste, a obținut o sensibilitate de 74,42%, o specificitate de 97,92%, o AUC de 0,961 și o acuratețe globală de 90,65%.

Rezultatele pozitive la citologia de grad înalt, prezența HPV 16/18 și un test CINtecPlus pozitiv au fost anterior asociate cu un risc crescut de progresie a leziunilor cervicale (65-67). Deși nu există în literatură date comparative referitoare la acuratețea unui astfel de model complex pentru predicția progresiei, mai multe studii au evaluat combinații de teste index pentru detecția bolii.

De exemplu, un studiu observațional prospectiv recent a arătat că asocierea colorării duale p16/Ki67 cu detecția HPV 16/18 a avut o sensibilitate de 42,8% și o specificitate de 92,8% pentru leziunile CIN2 de grad înalt, iar pentru leziunile CIN3 sensibilitatea și specificitatea au fost de 44% și, respectiv, 91% (68).

În ceea ce privește predicția regresiei leziunilor cervicale, cei mai buni predictor au fost prezența tulpinilor HPV cu risc scăzut (acuratețe: 73,72%), citologia ASC-US

(acuratețe: 66,19%), un rezultat negativ al testului CINtecPlus (acuratețe: 40,3%) și existența a mai puțin de trei factori de risc clinici (acuratețe: 64,03%).

Studii de urmărire anterioare au confirmat că regresia este mai frecventă la pacientele cu leziuni de grad scăzut (ASC-US/LSIL), infecții HPV non-16 sau test CINtecPlus negativ (69, 70). Modelul nostru, care a integrat toate aceste teste, a avut cea mai bună performanță pentru predicția regresiei (Se: 33,3%, Sp: 88%, AUC: 0,691, acuratețe: 82,14%).

Pentru predicția persistenței leziunilor, modelul care a inclus citologia LSIL, prezența HPV 16/18, un rezultat CINtecPlus pozitiv și cel puțin trei factori clinici de risc a obținut o sensibilitate de 61,04%, o specificitate de 88,71%, o AUC de 0,707 și o acuratețe de 73,38%.

Limitările studiului nostru sunt reprezentate de dimensiunea redusă a lotului, perioada scurtă de urmărire și includerea exclusivă a pacientelor cu citologie ASC-US, LSIL sau HSIL. Considerăm că o perioadă de urmărire extinsă ar putea oferi o imagine mai clară asupra dinamicii progresiei, regresiei sau persistenței leziunilor, în special la pacientele cu risc crescut.

Punctele forte ale studiului includ utilizarea histopatologiei ca standard de aur la includere și la reevaluare, analiza performanței predictive a diferitelor modele și folosirea testului CINtecPlus pe probe de citologie proaspete.

6.5. Concluzii

Cea mai precisă predicție a progresiei leziunilor cervicale a fost obținută printr-un model care a inclus prezența a cel puțin trei factori clinici de risc, un rezultat citologic sugestiv pentru HSIL, detecția tulpinilor HPV 16/18 și un test CINtecPlus pozitiv.

Predicția regresiei sau persistenței leziunilor cervicale, fie prin teste individuale, fie prin modele combinate, a rămas limitată, subliniind necesitatea îmbunătățirii monitorizării pacientelor HPV-pozitive prin strategii de testare multiplă sau prin integrarea unor biomarkeri noi.

CAPITOLUL 7

ABORDAREA RISCURILOR CONCURRENTE ÎN PROGRESIA, REGRESIA ȘI PERSISTENȚA DISPLAZIEI CERVICALE DE GRAD ÎNALT LA PACIENTE CU VÂRSTA PESTE 30 DE ANI – UN STUDIU PROSPECTIV

7.1. Introducere

Scopul acestui studiu a fost de a evalua utilitatea prognostică a predicțiilor de risc imediate, înainte și după tratament, derivate din ghidurile de management bazat pe risc ale Societății Americane de Colposcopie și Patologie Cervicală (ASCCP), pentru predicția progresiei, regresiei sau persistenței displaziei cervicale de grad înalt într-o cohortă de paciente din România.

7.2. Material și metode

Am realizat un studiu de cohortă prospectivă pe paciente cu vârsta peste 30 de ani care au efectuat screening auto-solicitat sau direcționat, cu sau fără diagnostic histologic confirmat de CIN de orice grad. Participantele au fost recrutate din clinici de colposcopie din regiunea Moldovei, România, între anii 2021 și 2024.

Am utilizat aplicația web a ghidurilor de management ASCCP (disponibilă la: <https://app.asccp.org/>) pentru

determinarea riscului imediat de CIN3+ la screeningul de rutină și post-tratament. Un prag de 60% a fost folosit în abordarea riscurilor concurente pentru stratificarea suplimentară a pacienților.

Pentru a analiza timpul până la apariția fiecărui rezultat, luând în considerare riscurile concurente, am utilizat modelul hazardului subdistribuțional al lui Fine și Gray.

Am definit timpul de la evaluarea inițială până la prima apariție a progresiei, regresiei sau persistenței ca rezultat principal „timp până la eveniment”. Scorurile de risc imediat pre-tratament și post-tratament au fost incluse ca predictorii continui. Cenzurarea a avut loc la ultima monitorizare pentru pacientele fără evenimente. Rezultatele au fost stratificate în funcție de tipul de CIN de grad înalt: CIN2+ și CIN3+.

Pentru a evalua impactul pragurilor de risc, am dihotomizat scorurile la >60% și am analizat acești predictorii categorici. Rezultatele au fost prezentate sub formă de SHR (raporturi de hazard subdistribuțional) cu intervale de încredere (IC) de 95%.

Am estimat și am reprezentat grafic funcțiile de incidență cumulativă stratificate după risc imediat pre- și post-tratament >60% și după subgrupul histologic (CIN2+ și CIN3+) pentru fiecare rezultat, pentru a ilustra probabilitățile rezultate în timp, ținând cont de riscurile concurente.

7.3. Rezultate

Datele noastre au arătat că riscul imediat post-tratament a fost semnificativ asociat cu progresia (SHR = 1,022, IC 95% = 1,008–1,036, $p = 0,002$), sugerând că acesta este un predictor puternic al progresiei bolii.

Riscul imediat pre-tratament a fost semnificativ asociat cu regresia (SHR = 1,022, IC 95% = 1,002–1,043, $p = 0,031$), indicând că un risc inițial mai mare poate prezice regresia ulterioară după tratament. Nici scorurile de risc pre- și

post-tratament nu au fost predictorii semnificativi pentru persistența displaziei cervicale de grad înalt.

Când am utilizat un prag de >60% pentru riscul evaluat, am constatat că atât riscul imediat pre-tratament (SHR = 4,13, IC 95% = 1,15–14,87, $p = 0,030$), cât și riscul post-tratament (SHR = 2,55, IC 95% = 1,06–6,11, $p = 0,036$) au fost semnificativ asociați cu creșterea riscului de progresie. Totuși, niciun predictor nu a fost semnificativ asociat cu regresia ($p > 0,5$). Pentru persistență, riscul imediat pre-tratament a fost un predictor semnificativ (SHR = 3,90, IC 95% = 1,34–6,14, $p < 0,001$).

În subgrupul CIN3+, un risc pre-tratament prezis mai mare de 60% a fost asociat cu o creștere de aproape opt ori a hazardului de progresie (SHR 7,97; IC 95%, 4,09–19,03; $p < 0,001$). Riscul post-tratament prezis imediat, peste 60%, a rămas de asemenea un predictor semnificativ al progresiei, dublând practic hazardul (SHR 2,08; IC 95%, 1,52–2,85; $p < 0,001$). În rândul pacienților cu CIN2+, riscul post-tratament >60% a fost, de asemenea, asociat cu o creștere semnificativă a riscului de progresie (SHR 3,47; IC 95%, 1,23–9,83; $p = 0,019$).

Scorurile de risc pre- și post-tratament mai mari de 60% nu au prezis semnificativ regresia în niciun subgrup histologic. Totuși, aceste scoruri au fost predictorii importanți ai persistenței bolii în toate subgrupurile histologice. La pacienții cu CIN2+, atât riscul pre-tratament cât și cel post-tratament >60% au fost asociate cu o creștere de aproximativ cinci ori a hazardului de persistență (pre-tratament SHR 5,19; IC 95%, 1,55–17,4; $p < 0,001$; post-tratament SHR 5,15; IC 95%, 1,95–13,31; $p < 0,001$). Asocieri similare au fost observate și în subgrupul CIN3+ ($p < 0,001$).

În figurile 7.3-7.5 sunt reprezentate incidențele cumulative ale progresiei, regresiei și persistenței CIN2+ și CIN3+ pentru riscurile pre- și post-tratament >60%.

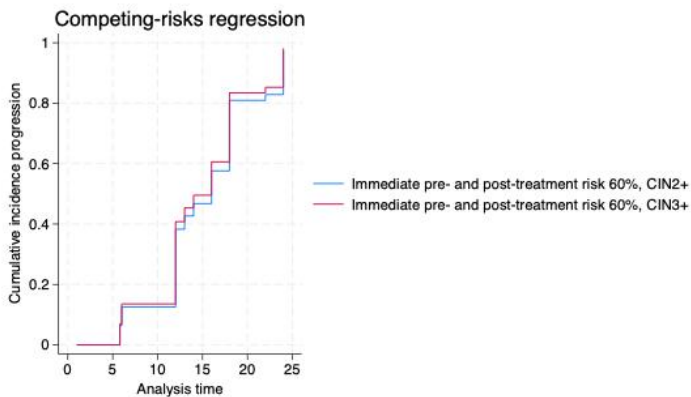


Figura 7.3. Incidența cumulativă a progresiei CIN2+ și CIN3+ pentru riscurile imediate pre- și post-tratament >60%.

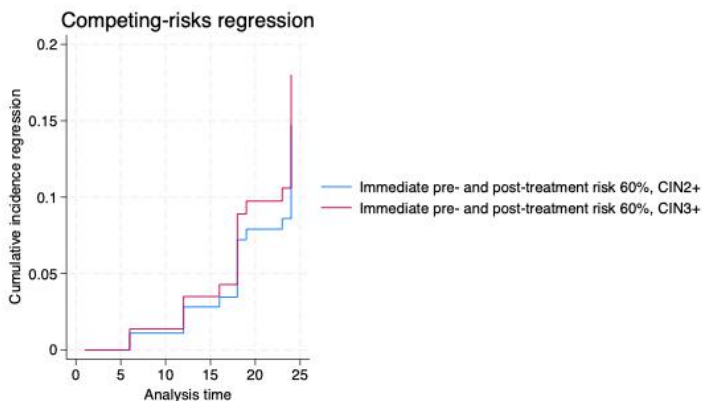


Figura 7.4. Incidența cumulativă a regresiei CIN2+ și CIN3+ pentru riscurile imediate pre- și post-tratament >60%.

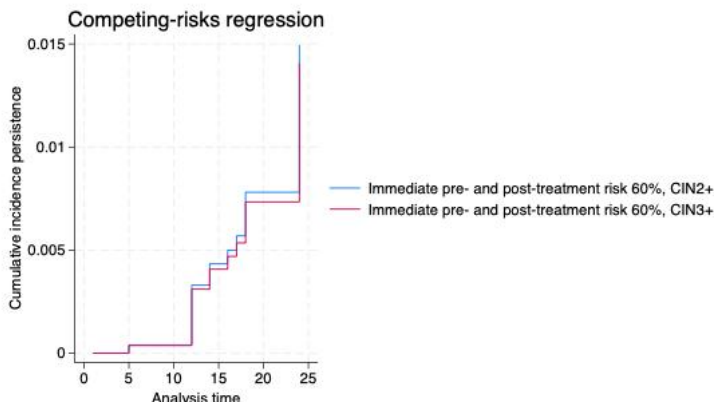


Figura 7.5. Incidența cumulativă a persistenței CIN2+ și CIN3+ pentru riscurile imediate pre- și post-tratament >60%.

7.4. Discuții

În acest studiu de cohortă prospectiv, am evaluat utilitatea prognostică a estimărilor de risc imediate pre-tratament și post-tratament derivate din ghidurile de management bazate pe risc ASCCP (71) pentru predicția progresiei, regresiei sau persistenței displaziei cervicale de grad înalt.

Datele noastre au arătat că riscul imediat post-tratament a fost asociat semnificativ cu progresia ulterioară a displaziei cervicale, iar această observație a fost consecventă atât pentru pragurile de risc continue, cât și pentru cele dichotomice (>60%). Pentru un prag de 60%, riscul imediat post-tratament a prezis semnificativ progresia atât pentru CIN2+, cât și pentru CIN3+.

Pe de altă parte, riscul imediat pre-tratament >60% a fost asociat semnificativ cu progresia CIN3+, dar nu și cu progresia CIN2+. De asemenea, riscul imediat pre-tratament a

fost semnificativ asociat cu regresia, dar această observație nu s-a menținut la pragul de >60%.

Deși scorurile de risc continue nu au prezis cu acuratețe persistența globală a displaziei cervicale de grad înalt, aplicarea unui prag de >60% a îmbunătățit puterea de discriminare. Astfel, atât riscul pre-, cât și cel post-tratament >60% au fost puternic asociate cu persistența în toate subgrupurile histologice.

Din câte știm, acesta este primul studiu prospectiv care a evaluat performanța prognostică a scorurilor de risc ASCCP într-o populație din Europa de Est. Datele comparative din cohorte non-SUA sunt limitate (72), în special cele care examinează rezultatele longitudinale dincolo de triajul inițial al riscului (progresie, regresie, persistență).

Aceste scoruri de risc și strategiile de management al riscului au fost validate în cohorte mari, precum cohorta Kaiser Permanente Northern California (KPNC) (aproximativ 1,5 milioane de participanți), registrul New Mexico HPV Pap (450.000 participanți), CDC NBC-CEDP (aproximativ 200.000 participanți) și studiul BD Onclarity (aproximativ 30.000 participanți) (73, 74).

Un studiu retrospectiv realizat de Zhao și colaboratorii, care a inclus 96.318 pacienți cu vârste între 25-65 de ani supuși testării combinate, a avut ca scop evaluarea riscului CIN3+ și a portabilității managementului bazat pe risc ASCCP (75).

Autorii au arătat că riscul imediat de CIN3+ a variat între subgrupurile cu HPV16 pozitiv (34,09%), HPV18 (13,38%), alte tipuri HPV (6,71%) și hrHPV negativ (0,12%) (75).

De asemenea, autorii au comparat rezultatele lor cu cele determinate în cohorta KPNC, arătând un risc imediat semnificativ mai mare de CIN3+ (1,42% vs 0,46%) și o creștere disproporționată a riscului imediat de cancer în

majoritatea subgrupurilor care necesitau colposcopie sau tratament imediat (75).

Riscul imediat și cumulativ de CIN3+ fluctuează în funcție de numeroase variabile, care pot include populația de screening, metodele de screening și managementul rezultatelor screening-ului.

În regiunile cu prevalență ridicată a cancerului de col uterin, cum sunt România și Europa de Est, screening-ul tinde să fie mai degrabă oportunist decât sistematic, iar persoanele supuse screening-ului oportunist prezintă, în general, riscuri (pre)canceroase mai mari decât populația generală (20, 76).

Limitările acestui studiu includ dimensiunea mică a cohorței, pierderea pacienților din urmărire și lipsa validării acestor scoruri de risc în populația evaluată.

Cercetările viitoare ar putea include mai mulți predictorii în modelele care evaluează utilitatea prognostică a acestor scoruri de risc.

7.5. Concluzii

În cohorta evaluată, estimările de risc imediat derivate din ASCCP, în special riscul post-tratament >60%, s-au dovedit eficiente în predicția progresiei și persistenței displaziei cervicale de grad înalt.

Aceste constatări susțin utilizarea instrumentelor bazate pe risc pentru urmărirea și managementul individualizat, chiar și în contextul screeningului oportunist.

Cu toate acestea, este necesară validarea locală și adaptarea modelului pentru a ține cont de diferențele regionale în epidemiologia HPV și accesul la servicii medicale.

CAPITOLUL 8

PROFILURILE CLINICE ȘI VIROLOGICE ASOCIATE CU POZITIVITATEA CİNTEC® PLUS: UN STUDIU BAZAT PE CLUSTERIZARE ȘI MODELARE ORIENTATĂ DE DATE

8.1. Introducere

Scopul principal al acestui studiu retrospectiv a fost evaluarea și modelarea factorilor clinici, comportamentali și virologici asociați cu pozitivitatea testului CİNtec® PLUS la pacienții supuși screeningului pentru cancerul de col uterin și evaluarea performanței lor predictive pentru predicția CIN2 și CIN3 utilizând un model nesupravegheat bazat pe învățare automată.

8.2. Material și metode

Am realizat un studiu de cohortă retrospectiv pe paciente cu infecție cu HPV care au efectuat screening pentru cancerul de col uterin, fie prin auto-prezentare, fie prin trimitere ținută, în asociere cu testul CİNtec® PLUS. Pacientele au fost recrutate din clinici de colposcopie din regiunea Moldovei, România, între 2023 și 2025.

Am utilizat regresia logistică binară pentru a cuantifica impactul diferiților predictorii asupra rezultatului pozitiv al testului CİNtec® PLUS și am raportat rapoartele de șanse (OR) și intervalele de încredere de 95% (CI). Am evaluat discriminarea modelului logistic prin analiza curbelor caracteristicilor de operare a receptorului (ROC), iar semnificația statistică a fost definită la $p < 0,05$.

Probabilitatea prezisă de pozitivitate CİNtec® PLUS din modelul logistic a fost utilizată pentru a crea un scor clinic de risc, scalat de la 0 la 10. Scorurile au fost rotunjite la cel

mai apropiat număr întreg și utilizate pentru a stratifica pacientele în 3 categorii de risc: risc scăzut (scor 0–3), risc intermediar (scor 4–6) și risc înalt (scor 7–10). Analiza ANOVA și testul post-hoc Bonferroni au fost utilizate pentru a evalua diferențele scorurilor de risc calculate în funcție de categoria de risc.

Am dezvoltat, de asemenea, un clasificator bazat pe gradient boosting utilizând cadrul XGBoost (eXtreme Gradient Boosting) pentru predicția pozitivării testului CINTec® PLUS pe baza factorilor clinici de risc. Modelul a fost antrenat folosind o împărțire stratificată 70/30 între seturile de antrenament și testare. Calibrarea și discriminarea modelului au fost evaluate cu analiza ROC, iar noi am raportat precizia, recall-ul, scorul F1 și aria de sub curba ROC (AUC).

Pentru a evalua importanța caracteristicilor și pentru a interpreta deciziile modelului, am aplicat metoda SHapleyAdditiveexPlanations (SHAP) și am raportat graficele sumare SHAP care au clasificat predictorii în funcție de valorile medii absolute SHAP.

Pentru segmentarea nesupravegheată a pacienților, am aplicat algoritmul DBSCAN (Density-Based Spatial Clustering of Applications with Noise), după reducerea dimensionalității utilizând proiecția UMAP (Uniform Manifold Approximation and Projection). UMAP a fost efectuat pe variabilele predictor standardizate pentru a obține o reprezentare bidimensională. Clusterele definite de DBSCAN au fost vizualizate pe proiecția UMAP pentru a evalua heterogenitatea fenotipică.

Pentru fiecare caracteristică au fost generate heat-map-uri de tip hex-bin pentru a investiga distribuția variabilelor clinice și comportamentale în spațiul UMAP cu dimensiuni reduse. Această metodă a facilitat vizualizarea tendințelor localizate în distribuția caracteristicilor între clustere.

De asemenea, am efectuat o analiză predictivă pentru neoplazia intraepitelială cervicală de gradul 2 și 3 confirmată histologic, pentru a evalua performanța diagnostică a testului CINtec® PLUS și pentru a o compara cu un model XGBoost.

8.3. Rezultate

Datele noastre au indicat că vârsta (OR: 1.058, IC95%: 1.006 – 1.111, $p=0.027$), IMC (OR: 1.829, IC95%: 0.729 – 2.942, $p=0.004$), un istoric pozitiv de fumat (OR: 1.241, IC95%: 0.079 – 2.735, $p=0.012$) și citologia HSIL (OR: 7.06, IC95%: 2.287- 21.836, $p=0.001$) au crescut semnificativ șansele unui rezultat pozitiv al testului. Valoarea globală AUC a modelului pentru predicția unui rezultat pozitiv al testului a fost 0.809.

Datele noastre au indicat că paciențele clasificate ca având risc scăzut au avut un scor mediu de 2,03 (SD = 0,94), în timp ce cele din grupul de risc mediu au avut un scor mediu semnificativ mai mare de 4,98 (SD = 0,79). Grupul cu risc ridicat a prezentat cel mai mare scor mediu, cu o valoare de 8,38 (SD = 0,99) ($p < 0,001$).

Pentru a îmbunătăți predicția rezultatelor testului CINtec® PLUS, am utilizat un model de clasificare bazat pe algoritmul XGBoost. Modelul a arătat o valoare AUC de 0.874 și o acuratețe de 81.3%, confirmând eficiența sa ridicată în clasificarea pacienților în funcție de rezultatul testului.

Graficul de tip SHAP summary ilustrează contribuția relativă și direcția de influență pentru fiecare variabilă predictivă din modelul XGBoost utilizat pentru a prezice pozitivitatea testului CINtec® PLUS (Figura 8.4).

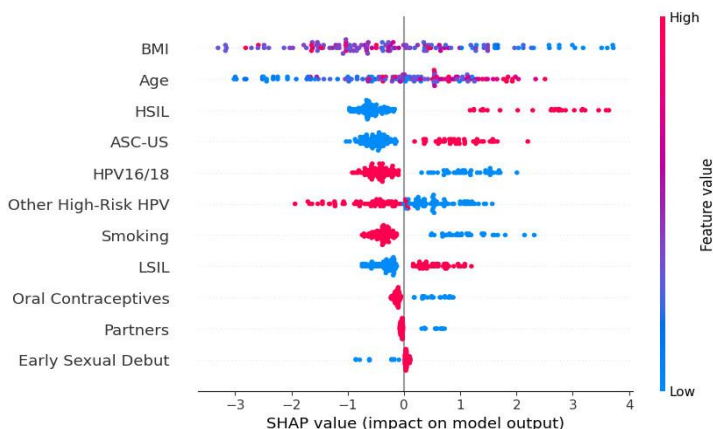


Figura 8.4. Graficul de tip SHAP summary care afișează impactul caracteristicilor individuale asupra rezultatului modelului pentru predicția pozitivării testului CINtec® PLUS.

Cei mai importanți predictori din acest model au fost IMC-ul și vârsta, ambele asociate cu direcții variabile de impact asupra rezultatului modelului. Un IMC mai mare a fost asociat, în general, cu o probabilitate mai scăzută prezisă (valori SHAP spre stânga) a unui test pozitiv, sugerând o posibilă asociere inversă, în timp ce o vârstă mai mare părea să crească riscul.

Prezența HSIL, ASC-US și a altor tipuri de HPV cu risc crescut a fost asociată, în general, cu valori SHAP pozitive, indicând faptul că aceste variabile au crescut probabilitatea prezisă de pozitivare a testului CINtec® PLUS.

Fumatul a avut în mare parte un impact pozitiv asupra pozitivării CINtec® PLUS atunci când a fost prezent, ceea ce este în concordanță cu factorii de risc cunoscuți pentru displaziacervicală. Prezența HPV16/18 a fost asociată, în general, cu o creștere a rezultatului modelului (predicție pozitivă), dar cu o consistență mai mică decât era de așteptat.

Prezența LSIL a fost asociată cu o creștere a pozitivării testului CINtec® PLUS. Factorii comportamentali și reproductivi, cum ar fi numărul de parteneri, utilizarea contraceptivelor orale și debutul sexual precoce, au contribuit moderat, iar direcția efectelor lor a variat. În comparație cu regresia logistică.

Algoritmul DBSCAN a identificat 11 clustere distincte (Clusterle 0–10), pe lângă un grup de valori aberante etichetate ca Cluster –1, care reprezintă pacienți ce nu au putut fi atribuite niciunui dintre clusterelor principale din cauza densității locale insuficiente.

Rezultatele noastre au indicat că un test pozitiv singur a avut o acuratețe generală pentru predicția CIN2 de 70% și pentru predicția CIN3 de 52%. Valorile AUC generale au fost de 0,74 pentru predicția CIN2 și de 0,69 pentru predicția CIN3.

Aceeași tendință a fost observată și atunci când am testat performanța generală a modelului XGBoost pentru predicția CIN2 și CIN3. Astfel, pentru predicția CIN2, modelul a obținut o performanță superioară, cu o sensibilitate de 71% și o specificitate de 85%. Acuratețea generală a atins 0,80, iar AUC a fost de 0,90.

Pentru CIN3, sensibilitatea modelului a fost ridicată (96%), dar specificitatea a fost scăzută (25%). În ciuda acestui fapt, modelul a menținut un scor F1 ridicat (0,92) și o acuratețe (0,85), deși AUC a fost de 0,58.

8.4. Discuții

Rezultatele noastre au evidențiat factorii de risc asociați semnificativ cu pozitivitatea CINtec® PLUS și au permis crearea unor scoruri de risc pe baza modelului de regresie logistică care a încorporat factorii relevanți identificați în cohorta noastră de pacienți. În plus, am identificat clustere semnificative de tipologii ale pacienților asociate cu o

probabilitate crescută de pozitivitate CINtec® PLUS, care ar putea ghida managementul clinic al acestora.

Am constatat că anomaliile citologice de grad înalt, în special HSIL, istoricul pozitiv de fumat, vârsta mai înaintată și IMC-ul au fost factori de risc independenți asociați cu pozitivitatea CINtec® PLUS, iar modelul de regresie logistică ce a inclus aceste variabile a obținut o valoare AUC de 0,80, ceea ce indică o performanță predictivă ridicată.

De asemenea, pacientele care prezentau factori de risc multipli au avut un scor de risc crescut pentru pozitivitatea CINtec® PLUS. Când am utilizat modelul XGBoost pentru a prezice rezultatul CINtec® PLUS, am obținut o precizie de 75%, o acuratețe generală de 0,62 și o valoare AUC de 0,77.

Datele din literatura de specialitate au indicat că nivelurile de p16 sunt crescute la pacientele mai în vârstă, ceea ce indică senescența celulară; astfel, vârsta înaintată ar putea fi un factor important care modulează pozitivitatea testului evaluat (77-79).

Mai mult decât atât, fumatul pare să aibă un impact semnificativ asupra pozitivării CINtec® PLUS, așa cum a demonstrat un studiu prospectiv longitudinal realizat de White și colaboratorii, care a inclus 275 de paciente pozitive pentru HPV, ce s-au prezentat la colposcopie pentru anomalii citologice (LSIL/ASCUS) (80).

Trzeszcz și colaboratorii au evaluat performanța a trei modele: genotiparea HPV primară cu triaj CINtec® PLUS, citologia primară cu reflex genotipare HPV și citologia primară singură pentru detectarea riscului de HSIL la pacientele sub 30 de ani (81).

Autorii au demonstrat că primul model a avut o sensibilitate semnificativ mai mare pentru detectarea HSIL, cuantificată cu CIN2 sau mai grav, decât celelalte două modele (83,3% vs. 70,8%/45,8%) și a avut valori predictive pozitive și negative semnificativ mai mari (VPP: 29,4%/21,3%/22,9%; VPN: 91,7%/82,9%/82,2%) (81).

De asemenea, alte date din literatura de specialitate au confirmat utilizarea CINtec® PLUS pentru detectarea leziunilor HSIL (82, 83).

Punctele forte ale acestui studiu includ integrarea rezultatelor confirmate histopatologic, utilizarea unor metode de învățare automată pentru scopuri predictive și aplicarea clusterizării nesupravegheate pentru definirea fenotipurilor pacienților din cohorta evaluată.

Totuși, există câteva limitări inerente ale acestui studiu care trebuie luate în considerare. În primul rând, designul retrospectiv poate fi supus unor bias-uri de selecție și informaționale. În al doilea rând, dimensiunea relativ redusă a eșantionului ar putea limita puterea statistică pentru a detecta asocieri mai subtile.

8.5. Concluzii

Acest studiu demonstrează că învățarea automată, în special modelul XGBoost, poate prezice în mod eficient pozitivitatea testului CINtec® PLUS și leziunile CIN2 confirmate histologic prin utilizarea factorilor de risc clinici, comportamentali și virologici.

Modelul a prezentat o performanță globală ridicată în predicția testului CINtec® PLUS, iar vârsta și indicele de masă corporală (IMC) au fost identificați ca predictorii semnificativi. În plus, anomaliile citologice de grad înalt, istoricul de fumat și infecția cu HPV16/18 au crescut semnificativ probabilitatea unui rezultat pozitiv al testului.

Modelul XGBoost a demonstrat o capacitate discriminativă ridicată pentru predicția CIN2. Totuși, pentru CIN3, deși modelul a menținut o sensibilitate ridicată, specificitatea redusă și valoarea AUC modestă i-au limitat utilitatea ca instrument de diagnostic independent.

Aplicarea metodei de clusterizare nesupravegheată a evidențiat fenotipuri distincte de paciente asociate cu niveluri diferite de risc pentru cancerul de col uterin.

CAPITOLUL 9

ÎNVĂȚARE AUTOMATĂ SUPRAVEGHEATĂ PENTRU PREDICȚIA SEVERITĂȚII NEOPLAZIEI INTRAEPITELIALE CERVICALE UTILIZÂND DATE CLINICE, VIROLOGICE ȘI IMUNOCITOCHIMICE: UN STUDIU RETROSPECTIV DIN EUROPA DE EST

9.1. Introducere

Prezentul studiu a avut ca obiectiv evaluarea performanței predictive a diferitelor modele de învățare automată supravegheată în diferențierea leziunilor CIN1, CIN2 și CIN3, utilizând un set de date care include genotiparea HPV, rezultatele citologice și dublul test p16/Ki-67.

9.2. Material și metode

Acest studiu retrospectiv a inclus 98 de femei care au fost supuse biopsiilor cervicale ghidate colposcopic în centre de îngrijire terțiară din România, între ianuarie 2022 și decembrie 2024.

Pentru a evalua capacitatea predictivă a caracteristicilor clinice și de laborator în clasificarea gradului CIN, au fost dezvoltate modele de învățare automată supravegheate separat pentru fiecare categorie CIN (CIN1, CIN2, CIN3). Clasificatorii utilizați au fost: regresie logistică, randomforest (RF), support vector machine (SVM), Naive Bayes, k-NearestNeighbors (KNN), gradient boosting extrem (XGBoost) și CatBoost.

9.3. Rezultate

Modelul Random Forest a demonstrat cea mai bună performanță generală, cu o precizie de 0,67, sensibilitate de 0,67 și scor F1 de 0,67 pentru clasa pozitivă (CIN1), o acuratețe generală de 63% și o valoare ROC AUC de 0,658. Modelul optimizat a utilizat un număr de 100 de estimatori și fără restricție de adâncime maximă.

Algoritmul KNN a arătat, de asemenea, performanțe acceptabile, cu o precizie de 0,58, sensibilitate de 0,73, scor F1 de 0,65, acuratețe de 56% și ROC AUC de 0,539. Modelul SVM a avut performanțe moderate: precizie de 0,54, sensibilitate de 0,47 și scor F1 de 0,50, cu o acuratețe de 48% și ROC AUC de 0,444.

Regresia logistică a avut cea mai scăzută performanță: precizie de 0,50, sensibilitate de 0,40, scor F1 de 0,44, acuratețe generală de 44% și ROC AUC de 0,389, utilizând parametrul $C=1$ și penalizare L2. Naive Bayes a avut o performanță modestă, cu precizie de 0,50, sensibilitate de 0,67, scor F1 de 0,57, acuratețe de 44% și ROC AUC de 0,417.

Regresia logistică cu regularizare L2 ($C = 0.01$) a prezentat cea mai bună performanță generală, obținând o acuratețe de 0,89, o precizie de 0,83, un recall de 0,71 și un scor F1 de 0,77. Capacitatea sa de discriminare, indicată de ROC AUC de 0,8393, sugerează un echilibru bun între sensibilitate și specificitate.

CatBoost, un model de tip gradient boosting, a demonstrat, de asemenea, o performanță ridicată, cu o acuratețe de 0,85, precizie și recall ambele de 0,71 și un scor F1 de 0,71. Notabil, CatBoost a înregistrat cel mai mare ROC AUC dintre toate modelele, 0,8464, indicând o putere predictivă excelentă. Acest model a fost optimizat cu o adâncime a arborilor de 5 și 100 de iterații.

Random Forest, configurat cu o adâncime maximă de 10 și 50 de estimatori, a obținut o acuratețe de 0,78, cu precizie, recall și scor F1 fiecare de 0,57. ROC AUC-ul său de 0,8036 a indicat o bună capacitate de discriminare.

Modelul Support Vector Machine (SVM) cu kernel radial ($C = 10$) a atins o acuratețe de 0,74, o precizie de 0,50, un recall de 0,71 și un scor F1 de 0,59, cu un ROC AUC de 0,7893. Similar, modelul k-NearestNeighbors (KNN) cu $k = 5$ a arătat performanțe comparabile, cu o acuratețe de 0,78, o precizie de 0,56, un recall de 0,71 și un scor F1 de 0,62. ROC AUC-ul acestuia a fost 0,7750, indicând o putere predictivă moderată.

XGBoost, un alt algoritm de tip ensemblelearning, a obținut o acuratețe de 0,74, o precizie de 0,50, un recall de 0,57 și un scor F1 de 0,53, cu un ROC AUC de 0,7964, comparabil cu celelalte modele de tip ensemble.

Pe de altă parte, Naive Bayes a demonstrat cea mai slabă performanță, cu o acuratețe de 0,37, o precizie de 0,27 și un scor F1 de 0,41, în ciuda unui recall relativ ridicat de 0,86. ROC AUC-ul său a fost 0,6893, ceea ce sugerează o capacitate limitată de discriminare.

Regresia logistică a demonstrat cea mai bună performanță generală dintre toate modelele evaluate. A obținut o precizie de 0,67, un recall perfect de 1,00 și un scor F1 de 0,80. Modelul a atins, de asemenea, cea mai mare acuratețe (96%) și cel mai mare ROC AUC (0,98), cu hiperparametri optimi: $C = 0,01$ și penalizare L2.

Modelele Random Forest, XGBoost și CatBoost au avut performanțe comparabile, fiecare atingând o acuratețe de 93% și un scor F1 de 0,50. Aceste modele au arătat o bună capacitate de discriminare, cu valori ROC AUC de 0,98, 0,93 și respectiv 0,96. Parametrii optimi pentru Random Forest au inclus o adâncime maximă de 5 și 50 de estimatori; XGBoost a performat cel mai bine cu o rată de învățare de 0,05, adâncime

maximă de 3 și 50 de estimatori; iar CatBoost a folosit o adâncime de 3 și 50 de iterații.

Modelul SVM, reglat cu $C = 0,1$ și kernel liniar, a obținut o precizie de 0,33, un recall de 0,50 și un scor F1 de 0,40. Deși acuratețea sa a fost de 89%, valoarea ROC AUC a fost mai scăzută (0,88).

KNN cu 3 vecini a avut rezultate mai slabe, cu o precizie de 0,25, recall de 0,50, scor F1 de 0,33, o acuratețe de 85% și un ROC AUC semnificativ mai redus de 0,66.

Naive Bayes a înregistrat cea mai scăzută precizie (0,17), dar a obținut un recall de 1,00, sugerând o sensibilitate ridicată, dar o specificitate redusă. Deși scorul F1 a fost modest (0,29), valoarea ROC AUC a fost ridicată (0,98), însă acuratețea generală a rămas relativ scăzută (63%).

9.4. Discuții

În acest studiu, am evaluat performanța mai multor modele de învățare automată (ML) supravegheată în predicția gradelor de neoplazie intraepitelială cervicală (CIN), utilizând date clinice, citologice, virologice și imunocitochimice de la 98 de paciente cu diagnostice histologic confirmate de CIN1, CIN2 sau CIN3.

Modelele ML au demonstrat o putere predictivă variabilă în funcție de gradul CIN și algoritmul utilizat. Pentru predicția CIN1, modelele Random Forest și KNN au avut cele mai bune rezultate, cu scoruri F1 de 0,67 și 0,65. Aceste modele ar putea beneficia de capacitatea lor de a gestiona date mixte și de a surprinde tipare neliniare în variabile clinice și comportamentale, cum ar fi numărul de parteneri sexuali și istoricul de fumat.

În schimb, predicția CIN2 a fost cel mai bine realizată utilizând Regresia Logistică și CatBoost, cu scoruri F1 de 0,77 și respectiv 0,71. Regresia logistică a obținut cea mai mare acuratețe (89%) și un ROC AUC robust (0,8393), sugerând că

frontierele liniare de decizie combinate cu regularizarea pot fi suficiente pentru leziunile de grad mediu, în special atunci când sunt ghidate de predictorii puternici precum statusul HPV 16/18 și citologia HSIL.

Predicția CIN3 a fost cea mai precisă dintre toate modelele. Regresia Logistică a condus din nou performanța cu un scor F1 de 0,80 și un ROC AUC de 0,98. Alte metode de tip ensemble, precum Random Forest, XGBoost și CatBoost, au avut, de asemenea, rezultate bune (acuratețe $\geq 93\%$, ROC AUC $\geq 0,93$).

În ciuda numărului mic de cazuri CIN3 ($n=9$), aceste rezultate evidențiază capacitatea modelelor ML de a detecta leziuni cu risc înalt cu o putere discriminativă solidă, o nevoie critică în programele de prevenire a cancerului de col uterin.

Notabil, deși modelele Naive Bayes au obținut frecvent valori ridicate ale recall-ului, ele au avut performanțe reduse în precizie și acuratețe generală, în special în cazul CIN3 (precizie = 0,17). Acest lucru reflectă sensibilitatea modelului la presupunerile de independență a caracteristicilor, adesea încălcate în seturile de date medicale reale.

Progresele recente în învățarea automată au arătat eficiența diferitelor algoritmi în predicția neoplaziei intraepiteliale cervicale. Modelele tradiționale, precum regresia logistică și KNN, sunt utilizate pe scară largă pentru interpretabilitatea și simplitatea lor; totuși, ele sunt adesea depășite de modelele de tip ensemble și cele avansate precum Random Forest, XGBoost și CatBoost, în special atunci când sunt aplicate pe date clinice preprocesate de înaltă calitate (84-87).

SVM-urile au demonstrat eficiență notabilă în sarcini legate de patologia cervicală, cu valori AUC raportate între 0,82 și 0,93 în aplicații de diagnostic, inclusiv în mielopatia cervicală degenerativă și screening-ul cancerului de col uterin (84, 85). Deși SVM-urile nu depășesc constant metodele de tip

ensemble, ele rămân o opțiune fiabilă pentru sarcini de clasificare binară implicând seturi de date echilibrate.

Tehnicile de tip ensemble, în special stackedensembles, demonstrează o performanță predictivă superioară. Un studiu privind detectarea cancerului de col uterin a demonstrat că un model stackedensemble a obținut o acuratețe de 0,994, depășind semnificativ performanța clasificatorilor individuali (88).

Modelele Random Forest, deși nu sunt evaluate constant pentru stratificarea CIN1–3, au demonstrat performanțe robuste în sarcini mai generale de predicție a neoplaziei cervicale și sunt adesea preferate pentru capacitatea lor de a gestiona date dezechilibrate și neliniare (86).

KNN, deși utilizat în diferite studii mai mult pentru imputarea datelor sau ca clasificator secundar, are în general o acuratețe predictivă mai scăzută și o robustețe redusă comparativ cu modelele de tip ensemble sau cele bazate pe kernel(87).

De asemenea, deși XGBoost și CatBoost sunt utilizate frecvent în sarcini de învățare automată medicală, aplicarea lor specifică în predicția CIN nu este bine documentată în literatura existentă. Performanța lor comparativă în clasificarea CIN necesită cercetări suplimentare.

În concluzie, deși modelele ensemble și cele avansate de ML arată un potențial semnificativ pentru predicția precisă a gradelor CIN, literatura existentă nu oferă analize comparative directe ale acestor algoritmi în acest cadru diagnostic specific.

Acest studiu are mai multe limitări. În primul rând, dimensiunea redusă a eșantionului, în special numărul mic de cazuri de CIN3, poate fi un factor care a influențat stabilitatea și aplicarea la nivel de populație generală a modelelor. Deși a fost utilizată tehnica SMOTE pentru a atenua dezechilibrul claselor, suprasample-ul sintetic nu poate reproduce complet complexitatea leziunilor de grad înalt apărute natural.

În al doilea rând, setul de date a fost derivat dintr-o singură regiune geografică, ceea ce poate limita validitatea externă. Diferențele în genotipurile HPV, acoperirea screening-ului și infrastructura medicală pot influența aplicabilitatea modelelor în alte populații.

În al treilea rând, studiul a utilizat abordări ML clasice, mai degrabă decât pipeline-uri end-to-end de deeplearning, care ar putea îmbunătăți clasificarea dacă ar fi disponibile seturi de date mai mari cu imagini adnotate.

9.5. Concluzii

Rezultatele noastre evidențiază importanța genotipării HPV cu risc înalt, în special a tipurilor 16 și 18, împreună cu testarea duală CINTec® ca factori esențiali în predicția CIN. Pozitivitatea CINTec a demonstrat o corelație semnificativă cu severitatea leziunilor, susținând astfel rolul său ca biomarker substitutiv pentru transformarea oncogenică.

Deși studiul prezintă rezultate încurajatoare, limitările, inclusiv dimensiunea redusă a eșantionului și specificitatea geografică, impun prudență în generalizarea acestor concluzii. În ciuda dezechilibrului de clasă, acuratețea constant ridicată în detectarea CIN3 subliniază potențialul modelelor de învățare automată de a îmbunătăți evaluarea precoce a riscului de cancer de col uterin și managementul acestuia.

Cercetările viitoare ar trebui să se concentreze pe validarea acestor rezultate în cohorte mai mari, multicentrice, de preferat integrând date multimodale, inclusiv imagistica colposcopică și biomarkerii moleculari.

În plus, integrarea clinică a instrumentelor bazate pe învățarea automată ar trebui să vizeze îmbunătățirea fluxurilor decizionale, reducerea variabilității diagnostice și diminuarea atât a supra-tratamentului, cât și a sub-tratamentului leziunilor cervicale precanceroase.

CAPITOLUL 10

COMPARAREA PERFORMANȚEI MARKERILOR DE METILARE PENTRU PREDICȚIA NEOPLAZIEI INTRAEPITELIALE CERVICALE- ANALIZĂ SECUNDARĂ A DATELOR

10.1. Introducere

Obiectivul principal al acestui studiu a fost reprezentat de compararea performanței MIR, FAM și FAM+MIR pentru predicția leziunilor de tip CIN (1-3), CIN2+ și CIN3+ din punct de vedere al sensibilității, specificității, valorilor predictive și acurateței. Obiectivele secundare au constatat în investigarea asocierilor și corelațiilor dintre predictorii și rezultatele urmărite.

10.2. Material și metode

Această analiză secundară a fost realizată utilizând un set de date derivat dintr-un studiu retrospectiv publicat anterior, care a avut ca obiectiv investigarea rolului biomarkerilor moleculari și al testării HPV în diagnosticul leziunilor intraepiteliale cervicale. Scopul principal al acestei analize a fost evaluarea performanței diagnostice a markerilor individuali și combinați în identificarea cazurilor cu leziuni cervicale semnificative (CIN2+ și CIN3+), precum și examinarea influenței vârstei asupra acestor performanțe.

Această analiză a fost realizată utilizând date secundare provenite dintr-o bază de date preexistentă, fără colectarea de informații suplimentare direct de la pacienți. Datele au fost anonimizate înainte de analiză, astfel încât niciun participant nu poate fi identificat direct sau indirect.

Performanța diagnostică a fiecărui marker, precum și a combinațiilor de markeri, a fost evaluată prin calcularea

sensibilității, specificității, valorilor predictive pozitive (VPP) și negative (VPN) și a acurateței globale.

Pentru a explora mai detaliat relațiile dintre biomarkeri și outcome-uri, au fost construite modele de regresie logistică univariată pentru predicția CIN2+ și CIN3+ și am raportat valorile oddsratio (OR) cu intervale de încredere de 95% și valorile p corespunzătoare. În toate analizele, pragul de semnificație statistică a fost stabilit la $p < 0,05$. Datele lipsă au fost tratate prin excluderea observațiilor incomplete pentru variabilele implicate în fiecare analiză specifică.

10.3. Rezultate

Pentru leziunile de grad scăzut (CIN1 și CIN2), performanța diagnostică a MIR, FAM și a combinației lor a fost limitată. Sensibilitatea pentru CIN1 a fost scăzută pentru toți markerii (MIR, 7,7%; FAM, 7,7%; FAM+MIR, 15,4%), cu o specificitate doar moderată (interval, 40,0%–55,0%) (Tabelul 10.4).

Tendențe similare au fost observate pentru CIN2, unde sensibilitatea a rămas sub 36%, iar valorile predictive pozitive (VPP) au fost reduse ($\leq 19\%$), deși valorile predictive negative (VPN) au depășit 64%, indicând o utilitate mai mare în excluderea bolii decât în confirmarea acesteia în aceste categorii cu leziuni de grad inferior.

În schimb, performanța a crescut semnificativ pentru leziunile de grad înalt. Pentru CIN3, FAM+MIR a demonstrat cea mai mare sensibilitate (76,9%), în timp ce FAM a prezentat cea mai mare specificitate (72,5%) și VPP (42,1%).

De asemenea, FAM+MIR a obținut cel mai mare VPN (88,9%), ceea ce sugerează utilitatea sa ca instrument de screening sensibil.

Pentru CIN2+, FAM+MIR a atins din nou cea mai mare sensibilitate (60,0%), în timp ce FAM și MIR au demonstrat fiecare o specificitate excelentă (92,3%) și VPP de

peste 94%. În cazul CIN3+, FAM+MIR a menținut cea mai mare sensibilitate (73,1%), în timp ce FAM a păstrat cea mai mare specificitate (88,9%) și VPP (84,2%).

Pentru leziunile CIN1, toate metodele au prezentat performanțe slabe, cu valori AUC scăzute (MIR: 0,288; FAM: 0,313; FAM+MIR: 0,277), ceea ce a indicat o capacitate redusă de discriminare între cazurile pozitive și negative.

În cazul CIN2, performanța a rămas modestă, dar s-a observat o ușoară îmbunătățire pentru MIR (0,425) și FAM+MIR (0,409), în timp ce FAM a avut cea mai mică valoare (0,353).

Pentru CIN3, predictorii au prezentat o creștere semnificativă a AUC, cu valori de 0,594 pentru MIR, 0,670 pentru FAM și 0,685 pentru FAM+MIR, ceea ce a indicat o capacitate moderată spre bună de discriminare, în special pentru combinația FAM+MIR.

În cazul leziunilor avansate (CIN2+ și CIN3+), performanța generală a fost bună: MIR a atins AUC 0,712 pentru CIN2+ și 0,715 pentru CIN3+, FAM a avut AUC 0,687 pentru CIN2+ și 0,752 pentru CIN3+, iar combinația FAM+MIR a oferit cea mai bună valoare pentru CIN2+ (0,723), dar a fost ușor inferioară FAM în CIN3+ (0,736 vs. 0,752).

10.4. Discuții

Analiza secundară realizată a evidențiat o asocieră semnificativă între markerii epigenetici de metilare MIR, FAM și combinația FAM+MIR și prezența leziunilor de tip CIN2+ și CIN3+, însă nu și cu leziunile de grad inferior (CIN1 și CIN2).

În mod particular, markerul FAM a prezentat cel mai ridicat risc relativ pentru CIN3+ (OR 12,80), fiind urmat de combinația FAM+MIR (OR 7,76) și MIR (OR 7,04). Aceste rezultate confirmă observațiile din literatura de specialitate,

potrivit cărora metilarea ADN-ului crește progresiv odată cu severitatea leziunilor cervicale, reflectând acumularea modificărilor epigenetice asociate carcinogenezei.

În ceea ce privește relevanța clinică, markerii epigenetici de metilare, în special FAM și combinația FAM+MIR, pot constitui instrumente utile pentru trierea cazurilor HPV pozitive. Sensibilitatea și specificitatea acestor teste sunt comparabile cu cele raportate în meta-analizele publicate anterior, care au demonstrat o sensibilitate de 68–78% și o specificitate de 74–80% pentru identificarea leziunilor CIN2+ și CIN3+.

Această performanță sugerează că integrarea markerilor de metilare în algoritmi de screening poate reduce numărul colposcopiilor inutile și al tratamentelor excesive, fără a compromite siguranța clinică.

Pentru leziunile de grad inferior (CIN1 și CIN2), markerii epigenetici au avut performanțe limitate, cu sensibilitate sub 36% și valori predictive pozitive reduse. Aceste date sunt în concordanță cu studiile anterioare, care arată că metilarea are un rol redus în diagnosticul leziunilor cu potențial spontan regresiv.

Astfel, utilizarea markerilor epigenetici ar trebui focalizată pe cazurile cu risc crescut de progresie, în special pentru identificarea CIN3+, acolo unde acuratețea testelor este superioară.

Rezultatele noastre sunt în acord cu cele publicate în literatura de specialitate. Astfel, metilarea FAM19A4 (FAM) a demonstrat o acuratețe diagnostică ridicată pentru detectarea leziunilor CIN2+ și CIN3+, cu o sensibilitate de 84,6%, o specificitate de 97,7% și o AUC de 0,957 într-un studiu prospectiv amplu, care a inclus 492 de paciente HPV-pozitive (89). Aceste rezultate susțin utilitatea clinică potențială a FAM ca biomarker unic pentru triajul pacienților HPV-pozitive și sunt în concordanță cu datele anterioare care indică faptul că

markerii de metilare ai genelor gazdă oferă o specificitate ridicată pentru boala cervicală de grad înalt.

De asemenea, același studiu a raportat performanțe comparabile pentru detectarea HSIL și a cancerului de col uterin (89), ceea ce întărește relevanța clinică a FAM ca marker robust de-a lungul întregului spectru al bolii cu semnificație clinică.

În schimb, metilarea miR-124-2 (MIR) a prezentat o acuratețe diagnostică mai scăzută, cu o sensibilitate de 69,7%, o specificitate de 79% și o AUC de 0,796 într-un studiu prospectiv ce a inclus 170 de femei hr-HPV-pozitive, utilizând testul de metilare QIASure® (90).

Deși MIR, analizat individual, a arătat o performanță moderată, valoarea sa clinică pare să crească atunci când este combinat cu FAM sau cu citologia. Într-adevăr, combinația dintre metilarea FAM și MIR asociată cu citologia a obținut o sensibilitate de 94,7% pentru detectarea CIN2+, cu o reducere corespunzătoare a specificității (76,3%) (90).

Aceste rezultate evidențiază potențialul rol complementar al testării combinate de metilare și citologie în maximizarea sensibilității, menținând în același timp o specificitate acceptabilă în triajul pacienților HPV-pozitive.

Totuși, analiza prezintă câteva limitări importante. Dimensiunea redusă a eșantionului restrânge puterea statistică și generalizarea rezultatelor. De asemenea, caracterul retrospectiv al studiului poate introduce bias-uri de selecție, iar lipsa unui grup extern de validare reduce robustețea concluziilor.

În plus, combinația FAM+MIR nu a demonstrat un avantaj semnificativ față de utilizarea exclusivă a markerului FAM, ceea ce ar putea reflecta fie o suprapunere biologică între markerii analizați, fie limitările lotului studiat.

10.5. Concluzii

Markerii epigenetici de metilare, în special FAM și combinația FAM+MIR, demonstrează o asociere semnificativă cu prezența leziunilor cervicale de tip CIN2+ și CIN3+, dar au utilitate limitată pentru identificarea leziunilor de grad inferior. Performanțele acestora, comparabile cu datele raportate în literatura de specialitate, sugerează un potențial important de integrare în algoritmi de triere moleculară a pacienților HPV pozitive, cu posibilitatea reducerii colposcopiilor inutile și a supra-tratamentului.

Totuși, dimensiunea redusă a eșantionului și lipsa unei validări externe limitează generalizarea concluziilor. Sunt necesare studii prospective, multicentrice, care să cuprindă cohorte extinse de pacienți, pentru confirmarea acestor rezultate și evaluarea impactului clinic al implementării markerilor epigenetici în screening-ul cervical.

CAPITOLUL 11

CONCLUZII GENERALE

Pe baza rezultatelor obținute în primul studiu prospectiv cuprins în această lucrare, care a evaluat acuratețea predictivă a citologiei, genotipării HPV și a testului CINtecPlus, individual și combinate cu factori de risc personali, în predicția progresiei, regresiei și persistenței leziunilor cervicale la pacienții cu infecție HPV confirmată, se pot formula mai multe concluzii relevante.

Rezultatele acestui studiu evidențiază faptul că utilizarea integrată a testelor de screening și a factorilor de risc personali poate optimiza managementul pacienților cu infecție HPV. În timp ce citologia rămâne utilă ca metodă de triere inițială, genotiparea HPV și testul CINtecPlus, utilizate separat sau combinate, oferă o valoare adăugată substanțială în predicția progresiei leziunilor și pot ghida decizii mai precise privind supravegherea și tratamentul.

Rezultatele celui de-al doilea studiu prospectiv evidențiază o serie de aspecte esențiale privind valoarea prognostică a riscurilor imediate, calculate pre- și post-tratament, pe baza ghidurilor ASCCP, pentru predicția evoluției displaziei cervicale de grad înalt în rândul unei cohorte de pacienți din România.

Acest studiu a arătat utilitatea riscurilor imediate calculate pe baza ghidurilor ASCCP nu doar în identificarea pacienților cu risc crescut de progresie, ci și în diferențierea între regresie și persistență.

Integrarea acestor scoruri în deciziile clinice poate îmbunătăți managementul personalizat al displaziei cervicale de grad înalt, optimizând selecția pacienților pentru monitorizare atentă sau intervenții terapeutice precoce.

Rezultatele celui de-al treilea studiu cuprins în această lucrare evidențiază o serie de asocieri clinice, comportamentale și virologice relevante pentru pozitivitatea testului CINtec® PLUS și pentru predicția leziunilor cervicale de grad înalt (CIN2 și CIN3).

Acest studiu susține valoarea combinării datelor clinice tradiționale cu abordările de modelare predictivă avansată pentru a îmbunătăți triajul pacienților și pentru a personaliza managementul riscului de neoplazie cervicală, depășind limitările testării standard CINtec® PLUS utilizate izolat.

Pe baza rezultatelor obținute din acest al patrulea studiu retrospectiv, se pot formula mai multe concluzii generale privind atât profilul clinic al pacienților incluse, cât și performanța algoritmilor de învățare automată utilizați pentru diferențierea leziunilor CIN1, CIN2 și CIN3.

Analiza performanței algoritmilor de învățare automată a arătat rezultate diferențiate în funcție de clasa țintă. Pentru predicția CIN1, modelul Random Forest a demonstrat cele mai bune performanțe generale, urmat de KNN, însă cu o

putere predictivă moderată, sugerând dificultatea identificării corecte a leziunilor de grad scăzut.

În schimb, pentru predicția CIN2, regresia logistică și CatBoost au avut cele mai bune rezultate, evidențiind capacitatea lor de a gestiona eficient relațiile complexe între variabilele clinice, virale și citologice.

Pentru predicția CIN3, regresia logistică a obținut cele mai ridicate valori de acuratețe și ROC AUC, fiind urmată de modelele ensemble (Random Forest, XGBoost și CatBoost), ceea ce confirmă utilitatea acestor metode în identificarea leziunilor severe.

În ansamblu, studiul sugerează că algoritmi de tip regresie logistică și modele bazate pe boosting sunt cei mai promițători pentru discriminarea leziunilor CIN de grad înalt, în timp ce modelele de tip Random Forest și KNN pot fi utile pentru clasificarea leziunilor de grad scăzut, deși cu o acuratețe mai redusă.

Integrarea acestor algoritmi în practica clinică, alături de factorii de risc și markerii biologici asociați, ar putea sprijini dezvoltarea unor instrumente de suport decizional menite să optimizeze managementul pacienților cu leziuni cervicale.

Rezultatele ultimului studiu evidențiază un rol diferențiat al markerilor epigenetici miR-124-2, FAM19A4 și combinației lor (FAM19A4+miR-124-2) pentru predicția leziunilor intraepiteliale cervicale, cu performanțe notabil crescute pentru leziunile de grad înalt (CIN2+ și CIN3+), comparativ cu cele de grad scăzut (CIN1 și CIN2).

Pentru leziunile de grad înalt, analiza a evidențiat o îmbunătățire semnificativă a performanței diagnostice. Combinația FAM19A4+miR-124-2 s-a dovedit a fi cea mai sensibilă metodă, în special pentru CIN3 și CIN3+, în timp ce FAM19A4 a prezentat cea mai bună specificitate și cele mai ridicate VPP, subliniind rolul său de marker robust în confirmarea cazurilor cu risc crescut.

Datele obținute indică faptul că markerii moleculari, în special FAM19A4 și combinația FAM19A4+miR-124-2, au un potențial semnificativ în identificarea leziunilor de grad înalt și ar putea completa metodele actuale de screening și diagnostic.

CAPITOLUL 12

ORIGINALITATE, CONTRIBUȚII PERSONALE ȘI PERSPECTIVE PE CARE LE DESCHIDE TEZA

În acest context, lucrarea de față și-a propus să aducă o contribuție științifică prin integrarea metodelor avansate de stratificare a riscului, incluzând teste de screening, biomarkeri moleculari și modele predictive bazate pe învățare automată, cu scopul de a optimiza deciziile clinice. Obiectivul final a fost reducerea incidenței leziunilor CIN de grad înalt și a tratamentelor inutile printr-un management mai eficient, fundamentat pe date obiective și algoritmi validați.

În cadrul primului studiu cuprins în această lucrare, am dezvoltat și am evaluat modele predictive care au integrat citologia, genotiparea HPV, testul CINtecPlus și factorii de risc personali. Aceste modele au prezentat performanțe superioare comparativ cu utilizarea individuală a fiecărui test, oferind o abordare mai bine fundamentată pentru sprijinirea deciziilor clinice și pentru reducerea intervențiilor terapeutice nejustificate.

Utilitatea practică a acestor rezultate constă în posibilitatea de a stratifica mai precis riscul pacienților cu infecție HPV și de a adapta managementul în funcție de probabilitatea de progresie sau regresie a leziunilor.

În perspectivă, aceste modele ar putea fi integrate în protocoalele de screening și supraveghere, contribuind la personalizarea conduitei clinice și la optimizarea resurselor medicale.

Studii viitoare, derulate pe cohorte mai mari și în diferite contexte clinice, vor fi necesare pentru validarea externă a acestor rezultate și pentru evaluarea impactului lor asupra incidenței CIN și a reducerii tratamentelor inutile.

Cel de-al doilea studiu cuprins în această lucrare a evidențiat valoarea predictivă a riscurilor imediate pre- și post-tratament, conform ghidurilor ASCCP, în prognosticul leziunilor cervicale.

Am arătat că aceste scoruri nu numai că identifică pacientele cu probabilitate crescută de progresie către CIN2+ sau CIN3+, dar și diferențiază cazurile cu potențial de regresie spontană. Aceste rezultate permit o adaptare mai precisă a strategiilor de management și pot contribui la reducerea incidenței CIN de grad înalt prin aplicarea unor măsuri terapeutice țintite, evitând supra-tratamentul și consecințele potențiale asupra sănătății reproductive.

Din câte cunoaștem, acesta a fost primul studiu prospectiv care a evaluat performanța prognostică a scorurilor de risc ASCCP într-o populație din Europa de Est. Această abordare a fost justificată de faptul că datele comparative provenite din cohorte non-SUA sunt limitate, în special în ceea ce privește analiza rezultatelor longitudinale, cum ar fi progresia, regresia și persistența leziunilor, dincolo de simplul triaj inițial al riscului.

Originalitatea demersului constă în aplicarea și validarea acestor scoruri într-un context epidemiologic distinct, caracterizat prin particularități legate de prevalența tipurilor de HPV, accesul la screening, tiparele de comportament sexual și practicile de management clinic specifice regiunii.

Astfel, studiul nostru a contribuit la evaluarea relevanței și a limitelor acestor scoruri de risc în afara populațiilor în care au fost inițial dezvoltate, oferind informații esențiale pentru adaptarea strategiilor de management al CIN la realitățile locale.

Mai mult decât atât, includerea analizei evoluției naturale a leziunilor cervicale în această populație a permis identificarea unor aspecte practice importante privind stratificarea riscului și potențialul de personalizare a conduitei clinice, reprezentând o bază utilă pentru cercetări ulterioare și eventuale ajustări ale ghidurilor de practică în context european.

Rezultatele celui de-al treilea studiu au adus contribuții importante în înțelegerea relației dintre factorii clinici, comportamentali și virologici și pozitivitatea testului CINtec® PLUS, precum și în predicția leziunilor cervicale de grad înalt. Am demonstrat că integrarea acestor variabile într-un model predictiv complex permite o evaluare mai precisă a riscului, depășind limitările testării standard.

Un element de originalitate al studiului a fost utilizarea algoritmului XGBoost pentru integrarea factorilor clinici, comportamentali și virologici, ceea ce a condus la o performanță predictivă superioară, cu o AUC de 0,90 pentru CIN2 și o sensibilitate ridicată de 96% pentru CIN3.

Mai mult decât atât, prin analiza SHAP am reușit să identificăm contribuția diferențiată a fiecărui factor la predicția modelului, consolidând capacitatea de interpretare a rezultatelor. Abordarea prin clusterizare nesupravegheată a permis gruparea pacienților în categorii de risc distincte, susținând ideea unei posibile personalizări a strategiilor de management.

Contribuțiile personale ale acestui studiu se regăsesc în dezvoltarea și validarea unui model predictiv robust, în identificarea unor factori de risc suplimentari pentru pozitivitatea testului CINtec® PLUS, precum și în propunerea unei metode de stratificare diferențiată a pacienților pe baza profilului lor de risc.

Aceste rezultate oferă o perspectivă nouă asupra modului în care datele clinice tradiționale pot fi combinate cu

instrumente avansate de modelare pentru a optimiza managementul pacienților cu infecție HPV.

Perspectiva de viitor derivată din aceste rezultate vizează validarea externă a modelelor predictive în cohorte independente și integrarea acestora în platformele de screening, pentru a sprijini luarea deciziilor clinice prin sisteme automatizate de suport.

Totodată, rezultatele obținute pot constitui baza pentru dezvoltarea unor ghiduri de management bazate pe risc individual, cu potențialul de a îmbunătăți triajul pacienților și de a reduce intervențiile inutile. Acest demers ar putea contribui, pe termen lung, la o abordare mai eficientă și mai personalizată a managementului leziunilor cervicale.

Cel de-al patrulea studiu a adus o contribuție importantă prin evaluarea comparativă a performanței mai multor algoritmi de învățare automată supravegheată în diferențierea leziunilor cervicale CIN1, CIN2 și CIN3, utilizând date clinice și virologice integrate, inclusiv genotiparea HPV, citologia și p16/Ki-67.

Această abordare a reprezentat un demers original prin aplicarea sistematică a unor modele diverse, de la metode statistice tradiționale, precum regresia logistică, la algoritmi avansați de tip ensemble, precum XGBoost și CatBoost, în scopul de a identifica cele mai eficiente soluții pentru predicția riscului de progresie a leziunilor cervicale.

Rezultatele au arătat că regresia logistică a avut cele mai bune performanțe pentru predicția leziunilor CIN2 și CIN3, confirmând utilitatea modelelor interpretabile în contextul clinic și valoarea predictorilor clasici precum statusul HPV 16/18 și citologia HSIL.

În același timp, modelele Random Forest și KNN s-au dovedit eficiente pentru predicția leziunilor CIN1, ceea ce sugerează că algoritmi capabili să gestioneze relații complexe și neliniare pot fi mai adecvați pentru formele cu risc scăzut.

Aceste constatări evidențiază importanța adaptării algoritmului de învățare automată la profilul specific al leziunii evaluate.

Contribuțiile personale ale acestui studiu constau în integrarea și compararea extensivă a mai multor metode de învățare automată pe un set de date clinic robust, precum și în identificarea avantajelor și limitărilor fiecărui algoritm în funcție de severitatea leziunilor cervicale.

De asemenea, analiza detaliată a performanțelor modelelor a demonstrat că tehnicile de tip ensemble pot fi aplicate cu succes în predicția leziunilor de grad înalt, depășind performanțele testelor tradiționale utilizate izolat.

Perspectiva de viitor derivată din acest studiu vizează validarea externă a acestor modele în cohorte independente și explorarea posibilității de integrare a algoritmilor performanți în platforme digitale de suport decizional.

Acest demers ar putea permite o stratificare mai precisă a pacientelor, reducerea numărului de intervenții invazive nejustificate și personalizarea strategiilor de supraveghere și tratament, contribuind astfel la optimizarea managementului leziunilor cervicale și la îmbunătățirea eficienței programelor de prevenire a cancerului de col uterin.

Ultimul studiu a adus o contribuție importantă prin compararea sistematică a performanței markerilor epigenetici miR-124-2, FAM19A4 și a combinației FAM19A4+miR-124-2 pentru predicția leziunilor cervicale de tip CIN, CIN2+ și CIN3+.

Evaluarea sensibilității, specificității, valorilor predictive și acurateței acestor teste a permis o caracterizare detaliată a utilității lor clinice, demonstrând că markerii epigenetici pot reprezenta un instrument de triere valoros, mai ales în cazul pacientelor cu risc crescut de leziuni avansate.

Această abordare a oferit o analiză comparativă riguroasă, contribuind la o înțelegere mai nuanțată a locului acestor biomarkeri în algoritmi de screening și management al infecției cu HPV.

Rezultatele au evidențiat un element de originalitate prin identificarea markerului FAM19A4 ca având cel mai mare risc relativ pentru CIN3+, urmat de combinația FAM19A4+miR-124-2 și miR-124-2. Aceste date confirmă observațiile anterioare privind creșterea progresivă a metilării ADN-ului odată cu severitatea leziunilor, dar le completează prin cuantificarea diferențelor între markerii individuali și combinațiile acestora, oferind astfel o bază solidă pentru rafinarea strategiilor de triere.

Contribuțiile personale ale acestui studiu constau în demonstrarea faptului că integrarea markerilor epigenetici, în special FAM19A4 și FAM19A4+miR-124-2, poate îmbunătăți semnificativ selecția pacienților care necesită colposcopie, reducând numărul de investigații inutile fără a compromite siguranța clinică.

De asemenea, studiul a confirmat performanțele limitate ale acestor markeri în predicția leziunilor cu grad scăzut (CIN1 și CIN2), subliniind nevoia de utilizare selectivă a acestor teste în practica medicală.

Perspectiva de viitor derivată din aceste rezultate include validarea markerilor epigenetici în cohorte mai mari și în contexte clinice diverse, precum și explorarea integrării lor în algoritmi de predicție complexă alături de testarea HPV, citologie și modele de învățare automată.

O astfel de abordare ar putea conduce la dezvoltarea unor protocoale de screening personalizate, capabile să optimizeze triajul pacienților și să reducă incidența tratamentelor excesive, contribuind astfel la un management mai eficient și mai precis al leziunilor cervicale.

ANEXA 1- LISTA FIGURILOR INCLUSE ÎN TEZĂ

Titlul figurii	Pagina
Figura 6.1. Prevalența displaziilor cervicale în cohorta analizată.	46
Figura 6.1. Distribuția infecției cu HPV 16/18 în grupurile evaluate.	47
Figura 6.2. Distribuția altor tipuri HPV cu risc crescut în grupurile evaluate.	48
Figura 6.3. Distribuția altor tipuri HPV cu risc scăzut în grupurile evaluate.	48
Figura 6.4. Distribuția fumului în grupurile evaluate.	49
Figura 6.5. Utilizarea contraceptivelor orale combinate în grupurile evaluate.	49
Figura 6.6. Istoric personal de partener sexual multiplu în grupurile evaluate.	50
Figura 6.7. Debut sexual precoce în grupurile examinate.	50
Figura 6.8. Antecedente de proceduri excizionale în grupurile examinate.	51
Figura 6.9. Antecedente de vaccinare anti HPV în grupurile examinate.	51
Figura 6.10. Rezultatele citologiei în grupurile examinate.	52
Figura 6.11. Rezultatele citologiei în grupurile examinate.	52
Figura 7.1. Reprezentarea schematică a distribuției tipurilor HPV în cadrul grupurilor.	67
Figura 7.2. Diagrame tip boxplot care reprezintă riscul calculat imediat înainte de tratament și după tratament, stratificat în funcție de rezultat.	69
Figura 7.3. Incidența cumulativă a progresiei CIN2+ și CIN3+ pentru riscurile imediate pre- și post-tratament >60%.	72
Figura 7.4. Incidența cumulativă a regresiei CIN2+ și CIN3+ pentru riscurile imediate pre- și post-tratament >60%.	72
Figura 7.5. Incidența cumulativă a persistenței CIN2+ și CIN3+ pentru riscurile imediate pre- și post-tratament >60%.	73
Figura 8.1. Curba ROC pentru predicția unui rezultat pozitiv al testului CINtec® PLUS folosind modelul de regresie logistică.	81
Figura 8.2. Boxplot care demonstrează scorurile medii de risc calculate pentru un rezultat pozitiv al testului CINtec® PLUS în funcție de categoria de risc.	82
Figura 8.3. Curba ROC pentru modelul XGBoost pentru predicția unui rezultat pozitiv al testului CINtec® PLUS pe baza factorilor de risc.	83
Figura 8.4. Graficul de tip SHAP summary care afișează impactul caracteristicilor individuale asupra rezultatului modelului pentru predicția pozitivării testului CINtec® PLUS.	83
Figura 8.5. Importanța agregată a caracteristicilor pe baza valorilor medii absolute SHAP pentru predicția pozitivării testului CINtec® PLUS.	84

Figura 8.6. Segmentareapacientelorutilizând UMAP șiclusterizarea DBSCAN. Grafic de distribuție hex-binned al caracteristicilorînspațiul UMAP.	85
Figura 8.7. Grafic de distribuție hex-binned al caracteristicilorînspațiul UMAP.	86
Figura 8.8. Curbă ROC pentrupredicția CIN2 și CIN3 utilizând un rezultatCINtec® PLUS pozitiv.	87
Figura 9.1. Distribuțiavârsteiîntreceletreicategorii de neoplazieîntraepitelialăcervicală (CIN).	97
Figura 9.2. Metricile de performanță ale modelelor de învățareautomatăpentrupredicția CIN1.	98
Figura 9.3. Metricile de performanță ale modelelor de învățareautomatăpentrupredicția CIN2.	100
Figura 9.4. Metricile de performanță ale modelelor de învățareautomatăpentrupredicția CIN3.	102
Figura 10.1. Hartă de corelațieîntrepredictorișirezultateleurmărite.	110

ANEXA 2- LISTA TABELELOR INCLUSE ÎN TEZĂ

Titlul tabelului	Pagina
Tabelul 1.1-Factori care influențează evoluția displaziilor cervicale	3
Tabelul 1.2-Sisteme de clasificare a leziunilor cervicale	6
Tabelul 1.3-Performanța diagnostică a citologiei în raport cu standardul de aur reprezentat de evaluarea histologică	7
Tabelul 1.4-Rezumat al principalilor markeri utilizați pentru diagnosticul molecular al displaziilor cervicale	9
Tabelul 2.1-Profilul epidemiologic global al displaziilor cervicale și cancerului de col uterin	12
Tabelul 2.2-Sumar al obiectivelor OMS pentru reducerea și/sau eliminarea cancerului de col la nivel global	13
Tabelul 2.3-Efectele vaccinării anti-HPV și ale screening-ului asupra ratelor de CIN	14
Tabelul 2.4-Displazia cervicală – comparație între Europa de Est și Europa de Vest	16
Tabelul 2.5-Sumar al influenței factorilor de risc comportamentali, imunologici și socioeconomi	17
Tabelul 3.1-Performanța metodelor de screening pentru CIN2+	22
Tabelul 3.2-Sensibilitatea și specificitatea metodelor acceptate de screening	23
Tabelul 3.3-Date din studiile europene privind performanța screening-ului pentru displazia cervicală	24
Tabelul 3.4-Utilitatea colposcopiei pentru diagnosticul displaziilor cervicale	26
Tabelul 3.5-Performanța diagnostică a colposcopiei conform datelor europene	27
Tabelul 3.6-Utilitatea CINtec® pentru diagnosticul displaziilor cervicale	29
Tabelul 3.7-Performanța diagnostică a altor markeri moleculari	30
Tabelul 4.1-Managementul displaziilor cervicale în funcție de severitate	32
Tabelul 4.2-Sumar al recomandărilor de ghid privind tratamentul displaziilor	34
Tabelul 4.3-Riscurile evaluate cantitativ aferente factorilor de risc	35
Tabelul 4.4-Abordări alternative de management ghidat de biomarkeri	36
Tabelul 4.5-Aspecte cheie în managementul displaziei la adolescente și femei tinere	37

Tabelul 4.6-Sumar al recomandărilor de management în sarcină	39
Tabelul 5.1-Prevalențele progresiei, regresiei și persistenței displaziilor cervicale	53
Tabelul 5.2-Performanțele testelor și modelelor de predicție pentru progresie	54
Tabelul 5.3-Performanțele testelor și modelelor de predicție pentru regresie	56
Tabelul 5.4-Performanțele testelor și modelelor de predicție pentru persistență	57
Tabelul 7.1-Caracteristicile inițiale ale populației studiate	66
Tabelul 7.2- Analiză comparativă a distribuției tulpinilor HPV	66
Tabelul 7.3-Distribuția categoriilor histologice și citologice inițiale	68
Tabelul 7.4-Riscuri calculate pre- și post-tratament (analiză ANOVA)	68
Tabelul 7.5-Comparații post-hoc (Bonferroni) pentru riscuri pre- și post-tratament	69
Tabelul 7.6-Hazard Ratio-uri pre- și post-tratament (predictori)	70
Tabelul 7.7-Hazard Ratio-uri stratificate după displazie de grad înalt	71
Tabelul 8.1-Caracteristici clinice în funcție de rezultatele testului CINtec® PLUS	80
Tabelul 8.2- Regresie logistică – predictori pentru rezultat pozitiv CINtec® PLUS	81
Tabelul 8.3- ANOVA și Bonferroni pentru scoruri de risc în 3 grupuri	82
Tabelul 8.4- Performanța modelului XGBoost	82
Tabelul 8.5- Analiza ROC – test CINtec® PLUS pentru CIN2 și CIN3	86
Tabelul 9.1- Caracteristici clinice ale pacienților	96
Tabelul 9.2- Performanța modelelor ML pentru predicția CIN1	98
Tabelul 9.3- Performanța modelelor ML pentru predicția CIN2	99
Tabelul 9.4- Performanța modelelor ML pentru predicția CIN3	101
Tabelul 10.1- Distribuția predictorilor în funcție de rezultate histologice	108
Tabelul 10.2- Analiza univariată a asocierii predictorilor cu rezultatele urmărite	109
Tabelul 10.3- Rezultatele regresiei logistice	111
Tabelul 10.4- Performanța markerilor pentru predicția outcome-urilor	112
Tabelul 10.5- Valorile AUC pentru markerii predictivi	113

BIBLIOGRAFIE

1. Dasgupta S. A Review on Cervical Dysplasia: Etiology, Risk Factors, Diagnostic Biomarkers and Possible Nutritional Association. *Asian Pacific Journal of Cancer Care*. 2022.
2. Bogani G, Sopracordevole F, Ciavattini A, Vizza E, Vercellini P, Giannini A, et al. Duration of human papillomavirus persistence and its relationship with recurrent cervical dysplasia. *Eur J Cancer Prev*. 2023;32(6):525-32.
3. Salcedo M, Schmeler K. Cervical dysplasia and HPV. *Evidence-based Obstetrics and Gynecology*. 2018.
4. Bogani G, Sopracordevole F, Ciavattini A, Vizza E, Vercellini P, Ghezzi F, et al. HPV persistence after cervical surgical excision of high-grade cervical lesions. *Cancer Cytopathol*. 2023.
5. Norenhag J, Du J, Olovsson M, Verstraelen H, Engstrand L, Brusselaers N. The vaginal microbiota, human papillomavirus and cervical dysplasia: a systematic review and network meta-analysis. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2019;127:171-80.
6. Kudela E, Líšková A, Samec M, Koklesová L, Holubekova V, Rokos T, et al. The interplay between the vaginal microbiome and innate immunity in the focus of predictive, preventive, and personalized medical approach to combat HPV-induced cervical cancer. *EPMA Journal*. 2021;12:199-220.

7. Žukienė G, Narutytė R, Rudaitis V. Association Between Vaginal Microbiota and Cervical Dysplasia Due to Persistent Human Papillomavirus Infection: A Systematic Review of Evidence from Shotgun Metagenomic Sequencing Studies. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025;26.
8. Syrjänen K, Kataja V, Yliskoski M, Chang F, Syrjänen S, Saarikoski S. Natural History of Cervical Human Papillomavirus Lesions Does Not Substantiate the Biologic Relevance of the Bethesda System. *Obstetrics & Gynecology*. 1992;79:675-82.
9. Schneider V. Symposium Part 2: Should the Bethesda System Terminology be Used in Diagnostic Surgical Pathology?: Counterpoint. *International Journal of Gynecological Pathology*. 2003;22:13-7.
10. Soost H, Lange H, Lehmacher W, Ruffing-Kullmann B. The validation of cervical cytology. Sensitivity, specificity and predictive values. *Acta cytologica*. 1991;35 1:8-14.
11. Amanova GU, Eshkabilov TZ, Khamidova F, Abdullayev B. The Early Diagnosis Of Precancer Of The Cervix. *American Journal of Applied Sciences*. 2020;02:51-3.
12. Smetanina S, Shadrova O, Puriaeva EV, Khusiyanova A, Gamayunov S. Errors in interpreting the severity of intraepithelial lesions and cervical cancer in cytological cervical screening. *PA Herzen Journal of Oncology*. 2025.
13. Denecke A, Emar D, Hillemanns P, Ramachandran D, Brüning B, Jentschke M. Diagnostic cervical excision in patients with HPV positivity, cytological abnormalities- and preoperative cervical stenosis. *BMC Women's Health*. 2024;24.
14. Fonseca FV, Cordeiro M, Pozza AC, Maestri C. Cervical Intraepithelial Neoplasia: Analyzing the Disease Present Exclusively in the Endocervical Canal. *RBGO Gynecology & Obstetrics*. 2022;44:385-90.
15. Abulafia O, Pezzullo J, Sherer D. Performance of ThinPrep liquid-based cervical cytology in comparison with

conventionally prepared Papanicolaou smears: a quantitative survey. *Gynecologic oncology*. 2003;90 1:137-44.

16. Milicić-Juhas V, Pajtler M. Is the HSIL subclassification cytologically real and clinically justified? *Collegium antropologicum*. 2010;34 2:395-400.

17. Muresu N, Puci MV, Sotgiu G, Sechi I, Usai M, Cossu A, et al. Diagnostic Accuracy of DNA-Methylation in Detection of Cervical Dysplasia: Findings from a Population-Based Screening Program. *Cancers (Basel)*. 2024;16(11).

18. Kelly H, Benavente Y, Pavon MA, De Sanjose S, Mayaud P, Lorincz AT. Performance of DNA methylation assays for detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN2+): a systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer*. 2019;121(11):954-65.

19. Lim E, Ng S, Li J, Chang A, Ng J, Ilancheran A, et al. Cervical dysplasia: assessing methylation status (Methylight) of CCNA1, DAPK1, HS3ST2, PAX1 and TFPI2 to improve diagnostic accuracy. *Gynecologic oncology*. 2010;119 2:225-31.

20. Singh D, Vignat J, Lorenzoni V, Eslahi M, Ginsburg O, Lauby-Secretan B, et al. Global estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2020: a baseline analysis of the WHO Global Cervical Cancer Elimination Initiative. *Lancet Glob Health*. 2023;11(2):e197-e206.

21. Zhang X, Zeng Q, Cai W, Ruan W. Trends of cervical cancer at global, regional, and national level: data from the Global Burden of Disease study 2019. *BMC Public Health*. 2021;21.

22. Vaccarella S, Laversanne M, Ferlay J, Bray F. Cervical cancer in Africa, Latin America and the Caribbean and Asia: Regional inequalities and changing trends. *International Journal of Cancer*. 2017;141.

23. Sabale U, Karamousouli E, Popović L, Krasznai Z, Harrop D, Meiwald A, et al. The indirect costs of human papillomavirus-related cancer in Central and Eastern Europe:

years of life lost and productivity costs. *Journal of medical economics*. 2024;1-15.

24. Herweijer E, Sundström K, Ploner A, Uhnoo I, Sparén P, Arnheim-Dahlström L. Quadrivalent HPV vaccine effectiveness against high-grade cervical lesions by age at vaccination: A population-based study. *International Journal of Cancer*. 2016;138:2867-74.

25. Rebolj M, Pesola F, Mathews C, Mesher D, Soldan K, Kitchener H. The impact of catch-up bivalent human papillomavirus vaccination on cervical screening outcomes: an observational study from the English HPV primary screening pilot. *British Journal of Cancer*. 2022;127:278-87.

26. Mikalsen MP, Simonsen GS, Sørbye SW. Impact of HPV Vaccination on the Incidence of High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN2+) in Women Aged 20–25 in the Northern Part of Norway: A 15-Year Study. *Vaccines*. 2024;12.

27. Donken R, Niekerk D, Hamm J, Smith L, Sadarangani M, Naus M, et al. O17.3 Declining rates of cervical intraepithelial NEOPLASIA after introduction of the HPV vaccine in british columbia, canada. *Sexually Transmitted Infections*. 2019;95.

28. Donken R, Van Niekerk D, Hamm J, Spinelli J, Smith L, Sadarangani M, et al. Declining rates of cervical intraepithelial neoplasia in British Columbia, Canada: An ecological analysis on the effects of the school-based human papillomavirus vaccination program. *International Journal of Cancer*. 2021;149:191-9.

29. Jansen E, Zielonke N, Gini A, Anttila A, Segnan N, Vokó Z, et al. Effect of organised cervical cancer screening on cervical cancer mortality in Europe: a systematic review. *European journal of cancer*. 2020.

30. Poljak M, Seme K, Maver P, Kocjan B, Cuschieri K, Rogovskaya S, et al. Human papillomavirus prevalence and type-distribution, cervical cancer screening practices and

current status of vaccination implementation in Central and Eastern Europe. *Vaccine*. 2013;31 Suppl 7.

31. Todorova I, Băban A, Alexandrova-Karamanova A, Bradley J. Inequalities in cervical cancer screening in Eastern Europe: perspectives from Bulgaria and Romania. *International Journal of Public Health*. 2009;54:222-32.

32. Murfin J, Irvine F, Meechan-Rogers R, Swift A. Education, income and occupation and their influence on the uptake of cervical cancer prevention strategies: A systematic review. *Journal of clinical nursing*. 2019.

33. Smith M, Sherrah M, Sultana F, Castle P, Arbyn M, Gertig D, et al. National experience in the first two years of primary human papillomavirus (HPV) cervical screening in an HPV vaccinated population in Australia: observational study. *The BMJ*. 2022;376.

34. Wearn A, Shepherd L. Determinants of routine cervical screening participation in underserved women: a qualitative systematic review. *Psychology & Health*. 2022;39:145-70.

35. Lee H, Lee MH. Barriers to Cervical Cancer Screening and Prevention in Young Korean Immigrant Women: Implications for Intervention Development. *Journal of Transcultural Nursing*. 2017;28:353-62.

36. Brousseau E, Ahn S, Matteson K. Cervical Cancer Screening Access, Outcomes, and Prevalence of Dysplasia in Correctional Facilities: A Systematic Review. *Journal of women's health*. 2019.

37. Silver M, Kobrin S. Exacerbating disparities?: Cervical cancer screening and HPV vaccination. *Preventive medicine*. 2019:105902.

38. Tobaiqy M, Maclure K. A Systematic Review of Human Papillomavirus Vaccination Challenges and Strategies to Enhance Uptake. *Vaccines*. 2024;12.

39. Dykens J, Peterson C, Holt H, Harper D. Gender neutral HPV vaccination programs: Reconsidering policies to

expand cancer prevention globally. *Frontiers in Public Health*. 2023;11.

40. Avian A, Clemente N, Mauro E, Isidoro E, Di Napoli M, Dudine S, et al. Clinical validation of full HR-HPV genotyping HPV Selfy assay according to the international guidelines for HPV test requirements for cervical cancer screening on clinician-collected and self-collected samples. *Journal of Translational Medicine*. 2022;20.

41. Kang M, Ha S, Cho H, Chung D, Kim N, An J, et al. Comparison of papanicolaou smear and human papillomavirus (HPV) test as cervical screening tools: can we rely on HPV test alone as a screening method? An 11-year retrospective experience at a single institution. *Journal of Pathology and Translational Medicine*. 2020;54:112-8.

42. Li Z-F, Jia X, Feng X, Zhang S, Zhang X, Pan Q, et al. Comparison of primary cytology, primary HPV testing and co-testing as cervical cancer screening for Chinese women: a population-based screening cohort. *BMJ Open*. 2022;12.

43. Shin M, West I, Hsu C, Prado M, Tsui J, Ko L, et al. Pap-HPV co-testing adoption trends for cervical cancer screening in a multi-state Practice Research Network (PBRN) 2012-2017. *The Annals of Family Medicine*. 2024.

44. Gravitt P, Paul P, Katki H, Vendantham H, Ramakrishna G, Sudula M, et al. Effectiveness of VIA, Pap, and HPV DNA Testing in a Cervical Cancer Screening Program in a Peri-Urban Community in Andhra Pradesh, India. *PLoS ONE*. 2010;5.

45. Reuschenbach M, Clad A, Von Knebel Doeberitz C, Wentzensen N, Rahmsdorf J, Schaffrath F, et al. Performance of p16INK4a-cytology, HPV mRNA, and HPV DNA testing to identify high grade cervical dysplasia in women with abnormal screening results. *Gynecologic oncology*. 2010;119 1:98-105.

46. Felix J, Lacey M, Miller J, Lenhart G, Spitzer M, Kulkarni R. The Clinical and Economic Benefits of Co-

Testing Versus Primary HPV Testing for Cervical Cancer Screening: A Modeling Analysis. *Journal of Women's Health*. 2016;25:606-16.

47. Alan C, Metin US, Acar A. Concordance of Colposcopy-Directed Biopsy and Conization Results in Cervical Dysplasia. *Gynecology Obstetrics & Reproductive Medicine*. 2025.

48. Gyawali P, Ghimire S. Role of Colposcopy in Detection of Dysplastic Cervical Lesion as a Screening Tool. *Journal of Global Oncology*. 2018.

49. Parven R, Mondal M, Sultana SS, Khatun MM, Begum MS. Role of Colposcopy in Diagnosing and Differentiating Types of Cervical Intraepithelial Neoplasia. *Scholars International Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2023.

50. Hassan MA, Itsura P, Odongo BE. Colposcopic and Histopathologic Comparative Interpretations Among Patients Undergoing Evaluation for Cervical Dysplasia in Western Kenya. *EMJ Reproductive Health*. 2024.

51. von Knebel Doeberitz M. p16INK4a/Ki67 Dual-Staining Immunocytochemistry to Refer Women Infected by High-Risk Human Papillomavirus for Colposcopy. *Acta Cytol*. 2025;69(1):16-25.

52. Poznyak MV, Kaptilnyy VA, Chilova R, Lystsev D, Ageev M, Kovalev MI, et al. Clinical evaluation of p16/Ki-67 dual staining in cervical cytology. *Voprosy ginekologii, akušerstva i perinatologii*. 2025.

53. Dona M, Vocaturo A, Giuliani M, Ronchetti L, Rollo F, Pescarmona E, et al. p16/Ki-67 dual staining in cervico-vaginal cytology: correlation with histology, Human Papillomavirus detection and genotyping in women undergoing colposcopy. *Gynecologic oncology*. 2012;126 2:198-202.

54. El-Zein M, Gotlieb W, Gilbert L, Hemmings R, Behr M, Franco E. Dual staining for p16/Ki-67 to detect high-grade

cervical lesions: Results from the Screening Triage Ascertainning Intraepithelial Neoplasia by Immunostain Testing study. *International Journal of Cancer*. 2020;148:492-501.

55. Petry K. Management options for cervical intraepithelial neoplasia. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*. 2011;25 5:641-51.

56. Lee M, Finlayson S, Gukova K, Hanley G, Miller D, Sadownik L. Outcomes of Conservative Management of High Grade Squamous Intraepithelial Lesions in Young Women. *Journal of Lower Genital Tract Disease*. 2018;22:212-8.

57. Loopik D, Bekkers R, Massuger L, Melchers W, Siebers A, Bentley J. Justifying conservative management of CIN2 in women younger than 25 years - A population-based study. *Gynecologic oncology*. 2019;152 1:82-6.

58. Loopik D, Doucette S, Bekkers R, Bentley J. Regression and Progression Predictors of CIN2 in Women Younger Than 25 Years. *Journal of Lower Genital Tract Disease*. 2016;20:213.

59. Rafi J, Khalil H. Conservative Management Outcome of Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 2: A Three-Year Follow-Up Study. *Journal of Clinical Gynecology and Obstetrics*. 2024.

60. Tjandraprawira K, Olaitan A, Petrie A, Wilkinson N, Rosenthal A. Comparison of expectant vs. excisional/ablative management for CIN2 in the era of HPV testing. 2020.

61. Salvadó A, Miralpeix E, Sole-Sedeno J, Kanjou N, Lloveras B, Duran X, et al. Predictor factors for conservative management of cervical intraepithelial neoplasia grade 2: Cytology and HPV genotyping. *Gynecologic oncology*. 2021.

62. Tainio K, Athanasiou A, Tikkinen KA, Aaltonen R, Cárdenas J, Glazer-Livson S, et al. Clinical course of untreated cervical intraepithelial neoplasia grade 2 under active surveillance: systematic review and meta-analysis. *bmj*. 2018;360.

63. Gori S, Frayle H, Pagan A, Soldà M, Romagnolo C, Insacco E, et al. Exploring conservative management for cervical intraepithelial neoplasia grade 2 in organised cervical cancer screening programmes: a multicentre study in Italy. *Family Medicine and Community Health*. 2024;12(Suppl 2).
64. Dovnik A, Poljak M. The Role of Methylation of Host and/or Human Papillomavirus (HPV) DNA in Management of Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 2 (CIN2) Lesions. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24.
65. Lycke KD, Kahlert J, Damgaard RK, Eriksen DO, Bennetsen MH, Gravitt PE, et al. Clinical course of cervical intraepithelial neoplasia grade 2: a population-based cohort study. *Am J Obstet Gynecol*. 2023;229(6):656.e1-e15.
66. Rodríguez-Trujillo A, Martí C, Angeles MA, Sierra A, Esteve R, Saco A, et al. Value of HPV 16/18 Genotyping and p16/Ki-67 Dual Staining to Predict Progression to HSIL/CIN2+ in Negative Cytologies From a Colposcopy Referral Population. *Am J Clin Pathol*. 2018;150(5):432-40.
67. Li Y, Liu J, Gong L, Sun X, Long W. Combining HPV DNA load with p16/Ki-67 staining to detect cervical precancerous lesions and predict the progression of CIN1-2 lesions. *Virol J*. 2019;16(1):117.
68. Øvestad IT, Dalen I, Andersland MS, Vintermyr OK, Moltu P, Berland JM, et al. Triaging HPV-Positive Cervical Samples with p16 and Ki-67 Dual Stained Cytology within an Organized Screening Program-A Prospective Observational Study from Western Norway. *Int J Mol Sci*. 2023;24(8).
69. Nourrisson A, Lepetit H, Marty M, Garrigue I, Brun JL. Regression of cervical high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL/CIN2) managed expectantly. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2022;51(8):102442.
70. White C, Bakhiet S, Bates M, Keegan H, Pilkington L, Ruttle C, et al. Triage of LSIL/ASC-US with p16/Ki-67 dual staining and human papillomavirus testing: a 2-year prospective study. *Cytopathology*. 2016;27(4):269-76.

71. Perkins RB, Guido RS, Castle PE, Chelmow D, Einstein MH, Garcia F, et al. 2019 ASCCP Risk-Based Management Consensus Guidelines for Abnormal Cervical Cancer Screening Tests and Cancer Precursors. *J Low Genit Tract Dis.* 2020;24(2):102-31.
72. Gui T, Chen Z, Chen F. Validation of the indication for colposcopy proposed by the 2019 ASCCP risk-based management consensus guidelines: A single-center study in China. *PLoS One.* 2021;16(7):e0253493.
73. Gage JC, Hunt WC, Schiffman M, Katki HA, Cheung LA, Myers O, et al. Similar Risk Patterns After Cervical Screening in Two Large U.S. Populations: Implications for Clinical Guidelines. *Obstet Gynecol.* 2016;128(6):1248-57.
74. Cheung LC, Egemen D, Chen X, Katki HA, Demarco M, Wiser AL, et al. 2019 ASCCP Risk-Based Management Consensus Guidelines: Methods for Risk Estimation, Recommended Management, and Validation. *J Low Genit Tract Dis.* 2020;24(2):90-101.
75. Zhao J, Li W, Wang Z, Liu W, Sun S, Wu L, et al. Risk assessment in a Chinese cohort of 96 318 females undergoing opportunistic cervical cancer screening. *Oncologist.* 2025;30(7).
76. Sabale U, Reuschenbach M, Takyar J, Dhawan A, Hall A, Vittal D, et al. Epidemiological, economic and humanistic burden of cervical intraepithelial neoplasia in Europe: A systematic literature review. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology: X.* 2025;25:100360.
77. Safwan-Zaiter H, Wagner N, Wagner KD. P16INK4A-More Than a Senescence Marker. *Life (Basel).* 2022;12(9).
78. Chaurasia A, Pantelis P, Theocharous G, Veroutis D, Kotsinas A, Gorgouli EV, et al. Hpv-negative oral squamous cell carcinoma arising from oral submucous fibrosis with p16ink4a positivity and cellular senescence: a case report.

Journal of Clinical and Experimental Dentistry. 2025;17(4):e479.

79. Tang L, Hladyshau S, Ross A, Nyrop KA, Entwistle A, Muss HB, et al. The Role of p16Ink4a as an Early Predictor of Physiological Decline during Natural Aging. medRxiv. 2024.

80. White CM, Bakhiet S, Bates M, Ruttle C, Pilkington LJ, Keegan H, et al. Exposure to tobacco smoke measured by urinary nicotine metabolites increases risk of p16/Ki-67 co-expression and high-grade cervical neoplasia in HPV positive women: A two year prospective study. Cancer Epidemiol. 2020;68:101793.

81. Trzeszcz M, Mazurec M, Jach R, Mazurec K, Jach Z, Kotkowska-Szeps I, et al. Is Primary HPV with Secondary p16/Ki67 Dual-Stain an Alternative HSIL-Risk Detection Strategy in Cervical Cancer Screening for Women under 30 Years? Diagnostics (Basel). 2021;11(11).

82. Sharma P, Gupta P, Gupta N, Suri V, Rajwanshi A. Evaluation of the Performance of CinTec® PLUS in SurePath™ Liquid-Based Cervico-Vaginal Samples. Turk Patoloji Derg. 2021;37(1):32-8.

83. Aromseree S, Wongjumpa W, Ekalaksananan T, Temtanakitpaisan A, Kleebkaow P, Srisathaporn S, et al. P16/Ki-67 Dual Staining in Positive Human Papillomavirus DNA Testing for Predictive Diagnosis of Abnormal Cervical Lesions in Northeastern Thai Women. Asian Pac J Cancer Prev. 2022;23(10):3405-11.

84. Song J, Li J, Zhao R, Chu X. Developing Predictive Models for Surgical Outcomes in Patients with Degenerative Cervical Myelopathy: A Comparison of Statistical and Machine Learning Approaches. The spine journal : official journal of the North American Spine Society. 2023.

85. Chu X, Song J, Wang J, Kang H. A stacking ensemble machine learning model for predicting postoperative axial pain intensity in patients with degenerative cervical myelopathy. Scientific Reports. 2025;15.

86. Nakajo M, Jinguji M, Tani A, Yano E, Hoo CK, Hirahara D, et al. Machine learning based evaluation of clinical and pretreatment 18F-FDG-PET/CT radiomic features to predict prognosis of cervical cancer patients. *Abdominal Radiology*. 2021;47:838-47.
87. Aljrees T. Improving prediction of cervical cancer using KNN imputer and multi-model ensemble learning. *PLOS ONE*. 2024;19.
88. Chen X, Aljrees T, Umer M, Saidani O, Almuqren L, Mzoughi O, et al. Cervical cancer detection using K nearest neighbor imputer and stacked ensemble learning model. *Digit Health*. 2023;9:20552076231203802.
89. Cheng X, Chai R, Zhang T, Chen Y, Fan F, Ye Y, et al. A novel methylation-detection panel for HPV associated high-grade squamous intraepithelial lesion and cervical cancer screening. *Scientific Reports*. 2024;14.
90. Mortaki A, Douligeris A, Daskalaki M, Bikouvaraki E-S, Louizou E, Daskalakis G, et al. The Role of HPV Genotyping, Cytology, and Methylation in the Triage of High-Risk HPV-Positive Patients. *Biomedicines*. 2025;13.