

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**Faculdade de Medicina**

**Helena Rabelo Castro Meira**

**FATORES DE RISCO PARA RECIDIVA DA  
NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL  
APÓS CIRURGIA DE ALTA FREQUÊNCIA**

**Belo Horizonte**  
**2014**

**Helena Rabelo Castro Meira**

**FATORES DE RISCO PARA RECIDIVA DA  
NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL  
APÓS CIRURGIA DE ALTA FREQUÊNCIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Medicina.

Programa: Saúde da Mulher.

Área de Concentração: Reprodução Humana e Patologia Ginecológica.

Orientador: Prof. Dr. Victor Hugo de Melo.

Coorientadora: Prof. Dr<sup>a</sup>. Maria Inês Miranda de Lima.

**Belo Horizonte**  
**Faculdade de Medicina – UFMG**  
**2014**

## AGRADECIMENTOS

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho e, especialmente:

Ao **Professor Dr. Victor Hugo de Melo**, meu orientador, pelo exemplo, pela atenção, disponibilidade, apoio e compreensão durante todas as fases deste trabalho.

À **Professora Dr<sup>a</sup>. Maria Inês Miranda de Lima**, coorientadora, pela atenção, incentivo e amizade e pela oportunidade de realizar este trabalho.

À direção do **Posto de Atendimento Médico (PAM) Sagrada Família**, que me autorizou o atendimento a essas pacientes.

A todos os colegas do Centro de Treinamento e Referências em Doenças Infecciosas e Parasitárias (CTR-DIP), pelo companheirismo durante esses anos.

A todos do Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico (NUPAD), em especial à Dr<sup>a</sup> Dora Mendes del Castilho e Dr<sup>a</sup> Nara de Oliveira Carvalho, pelo apoio e contribuição no meu aprendizado.

À Rosemary Mendes Martins, enfermeira do PAM Sagrada Família, pela busca incansável de pacientes, o que muito contribui para a realização deste trabalho.

Às amigas Dr<sup>a</sup> Claudia Teixeira da Costa Lodi, Dr<sup>a</sup> Deise Barbosa, Dr<sup>a</sup> Sônia Tyama Asajiro e Dr<sup>a</sup> Vera Regina Moreira Marcelino, pelo apoio, companheirismo e carinho.

Ao Dr. Marcelo Militão, médico e estatístico, que me orientou nas análises estatísticas.

Ao Níveo Bispo, estatístico, pela ajuda na análise estatística e valiosas sugestões de aprimoramento da tese.

À Prof<sup>a</sup> Magda Barbosa Roquette de Pinho Taranto, pela colaboração e revisão do Português.

A todas as pacientes, razão deste estudo, pela participação na realização deste projeto.

## RESUMO

**Objetivos:** avaliar a frequência de recidiva da neoplasia intraepitelial cervical após conização do colo uterino com cirurgia de alta frequência e analisar os fatores que se associam à recidiva de neoplasia intraepitelial cervical. **Pacientes e métodos:** estudo de coorte retrospectiva (1998 a 2011), sendo avaliadas 287 pacientes com diagnóstico de neoplasia intraepitelial cervical submetidas à conização do colo. A peça cirúrgica foi encaminhada para exame histopatológico, que avaliou o grau da lesão, as margens e o comprometimento glandular. As pacientes foram acompanhadas a cada seis meses com citologia, coleta de amostra para papilomavírus humano – ácido desoxirribonucleico (HPV-DNA), colposcopia e biópsia, quando indicado. O tempo de seguimento médio foi de 25,1 meses. Foram consideradas recidivas as lesões que, após a cirurgia, foram confirmadas novamente por biópsia. Para a análise das características qualitativas foi realizada análise univariada por meio de Kaplan-Meier associado aos resultados do teste *log-rank*. A análise multivariada foi feita a partir do ajuste do modelo de Cox até significância estatística do valor- $p < 0,05$ . **Resultados:** no estudo, 65 (22,6%) pacientes tiveram diagnóstico histopatológico de recidiva da lesão. A incidência de recidiva nas pacientes positivas para o vírus da imunodeficiência humana (HIV) foi maior, com risco relativo de 4,45 e intervalo de confiança (IC) (2,73-7,25). O comprometimento glandular associou-se à recidiva em 2,82 e IC (1,73-4,62) e às margens comprometidas com risco relativo de 2,81 e IC (1,69-4,65). **Conclusões:** a recidiva de neoplasia intraepitelial cervical (NIC) associou-se a: margens comprometidas, soropositividade para o HIV e o comprometimento glandular. O risco de recidiva em mulheres portadoras do HIV foi significativamente mais alto, comparado com as mulheres não infectadas pelo HIV.

Palavras-chave: Neoplasia intraepitelial cervical. Recidiva de neoplasia intraepitelial. Conização. Infecções por HIV.

## ABSTRACT

**Objectives:** To evaluate the frequency of recurrence of cervical intraepithelial neoplasia after conization with high frequency surgery and assess the factors are associated with recurrence of cervical intraepithelial neoplasia. Patients and methods: retrospective cohort study (1998-2011), evaluated 287 patients with cervical intraepithelial neoplasia undergoing conization of the cervix. The surgical specimen was sent for histopathological examination, which assessed the degree of lesion margins and glandular involvement. Patients were followed every 6 months with cytology sample collection for HPV DNA, colposcopy and biopsy when indicated. The mean follow-up was 25.1 months. The lesions after surgery, were confirmed by biopsy was considered recurrences. For analysis of the qualitative characteristics was performed univariate analysis using the Kaplan - Meier results associated with the log - rank test. Multivariate analysis was performed by adjusting the Cox model to statistical significance of p - value < 0.05. **Results:** In the study, 65 (22.6 %) patients had histopathologic diagnosis of recurrence. The recurrence rate in HIV positive patients was higher with a relative risk of 4.45 and CI (2.73 to 7.25). The glandular involvement was associated with recurrence in HF and 2.82 (1.73 to 4.62) and positive margins relative risk of 2.81 and CI (1.69 to 4.65). **Conclusions:** Recurrence of CIN is associated with positive margins, the HIV seropositivity and glandular involvement. The risk of recurrence in women with HIV virus was significantly higher compared with women not infected with HIV.

Key words: cervical intraepithelial neoplasia, recurrent intraepithelial neoplasia, Conization; HIV infections.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACOG	Colégio Americano de Obstetras e Ginecologistas
ACS	<i>American Cancer Society</i>
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência adquirida
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AP	Anatomia Patológica
ASC	Células atípicas
ASCCP	Sociedade Americana de Colposcopia e Patologia Cervical
ASC-US	Células atípicas de significado indeterminado
ASC-H	Células atípicas não se pode excluir lesão de alto grau
CAF	Cirurgia de alta frequência
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CH	Captura híbrida
COEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CTR-DIP	Centro de Treinamento e Referências em Doenças Infecciosas e Parasitárias
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dNTP	Desoxirribonucleotídeos fosfatados
dp	Desvio-padrão
DST	Doença sexualmente transmissível
EUA	Estados Unidos da América
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
HAART	Terapia antirretroviral potente
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HPV	Papilomavírus humano
HR	Razão das proporções
HSIL	Lesão intraepitelial escamosa de alto grau
IARC	<i>International Agency of Research on Cancer</i>
IC	Intervalo de confiança
ICTV	<i>International Committee on Taxonomy of Viruses</i>
INCA	Instituto Nacional de Câncer

ISH	Hibridização <i>in situ</i>
JEC	Junção escamocolunar
LASER	<i>Light amplification by stimulated emission of radiation</i>
LCR	<i>Long control region</i>
LH	Baixo risco
LIE	Lesão intraepitelial escamosa
LSIL	Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau
MgCl	Cloreto de Magnésio
mL	Mililitro
mm	Milímetro
NaCl	Cloreto de sódio
NASBA	<i>Nucleic acid sequence-based amplification</i>
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
NIC	Neoplasia intraepitelial cervical
NIC1	Neoplasia intraepitelial cervical grau leve
NIC2	Neoplasia intraepitelial cervical grau moderado
NIC3	Neoplasia intraepitelial cervical grau acentuado
NUPAD	Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico
°C	Grau Celsius
OMS	Organização Mundial de Saúde
p53	Proteína 53
PAM	Posto de Atendimento Médico
PCR	Reação em cadeia da polimerase
pRb	Proteína do retinoblastoma
RNA	Ácido ribonucleico
RNAm	Ácido ribonucleico mensageiro
rpm	Rotações por minuto
RR	Risco relativo
SMSA	Secretaria Municipal de Saúde
SPSS	<i>Statistical Package for Social Sciences</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre Esclarecido
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UI	Unidade internacional
WHO	<i>World Health Organization</i>



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### Figuras

FIGURA 1 - Número estimado da doença para cada 100 mil habitantes para o ano de 2012.....	16
FIGURA 2 - Esquema do genoma do HPV.....	23
FIGURA 3 - Progressão de lesões induzidas por HPV a câncer cervical.....	26
FIGURA 4 - Estrutura do HIV.....	42
FIGURA 5 – Ciclo Vital do HIV.....	42

### Gráficos

GRÁFICO 1 - Tempo de sobrevivência até a recidiva da NIC e respectivos intervalos de confiança estimados por Kaplan-Meier.....	72
GRÁFICO 2 - Curva de sobrevivência estimada para a covariável mudança de parceiros ( $p=0,025$ ).....	73
GRÁFICO 3 - Curva de sobrevivência estimada para a variável citologia.....	74
GRÁFICO 4 - Curva de sobrevivência estimada para a variável margem ectocervical.....	75
GRÁFICO 5 - Curva de sobrevivência estimada para a variável comprometimento glandular.....	76
GRÁFICO 6 - Curva de sobrevivência estimada para a variável HIV.....	77
GRÁFICO 7 - Histograma do tempo (meses).....	128
GRÁFICO 8 - <i>Box-plot</i> do tempo (meses).....	129
GRÁFICO 9 - Resíduos padronizados de Schoenfeld para o modelo final de Cox.....	130

### Quadros

QUADRO 1 - Relação entre os genes do papilomavírus humano e suas requeridas funções.....	26
QUADRO 2 - Nome e forma da variável resposta.....	62
QUADRO 3 - Covariáveis de interesse.....	63

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Características demográficas, comportamentais e clínicas das 287 pacientes do estudo.....	66
TABELA 2 - Característica da população do estudo, forma quantitativa.....	67
TABELA 3 - Descrição dos resultados da PCR e da citologia.....	67
TABELA 4 - Frequência dos achados histopatológicos da peça cirúrgica e avaliação das margens cirúrgicas.....	68
TABELA 5 - Descrição do tempo de acompanhamento (meses).....	69
TABELA 6 - Descrição da variável resposta (recidiva) em relação às características sociodemográficas e clínicas e <i>teste de log-rank</i> .....	70
TABELA 7 - Análise univariada das características sociodemográficas e clínicas avaliadas para os dois grupos estudados: modelo de Cox.....	78
TABELA 8 - Modelo final de Cox para o tempo até a recidiva da NIC.....	79
TABELA 9 - Estimativa de Kaplan-Meier: tempo até a recidiva.....	126
TABELA 10 - Seleção de variáveis usando o modelo de Cox.....	128
TABELA 11 - Teste de proporcionalidade das taxas de falha para o modelo final de Cox.....	127

## SUMÁRIO<sup>1</sup>

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	17
2.1 Neoplasia intraepithelial cervical.....	17
2.2 Colpocitologia oncótica e colposcopia.....	18
2.3 Papilomavírus humano.....	20
2.3.1 Métodos de detecção tipagem do HPV.....	28
2.3.2 Captura híbrida.....	30
2.3.3 Reação em cadeia da polimerase.....	30
2.4 Fatores de risco sociodemográficos associados às lesões intraepiteliais cervicais.....	33
2.4.1 Idade.....	33
2.4.2 Tabagismo.....	34
2.4.3 Início precoce da atividade sexual.....	34
2.4.4 Número de parceiros sexuais.....	35
2.4.5 Número de anticoncepcionais orais.....	35
2.4.6 Uso de preservativo.....	36
2.4.7 Multiparidade.....	37
2.4.8 Imunossuprimidas.....	38
2.4.8.1 Síndrome da imunodeficiência humana.....	38
2.5 A resposta imunológica.....	39
2.5.1 Imunidade inata.....	39
2.5.2 Imunidade adaptativa.....	40
2.5.3 Imunidade celular.....	40
2.5.4 Imunidade humoral.....	41
2.6 Testes de amplificação do genoma do vírus.....	43
2.6.1 Contagem de células CD4+em sangue periférico.....	43

<sup>1</sup> Este trabalho foi revisado de acordo com as novas regras ortográficas aprovadas pelo Acordo Ortográfico assinado entre os países que integram a Comunidade de Países de Língua Portuguesa (CPLP), em vigor no Brasil desde 2009. E foi formatado de acordo com a ABNT NBR 14724 de 17.04.2011.

2.7 Coinfecção HPV e HIV.....	44
2.8 Tratamento da lesão intraepitelial cervical.....	46
2.9 Recidiva Neoplasia Intraepitelial Cervical.....	48
2.10 Seguimento das neoplasias intraepiteliais cervicais.....	49
3 OBJETIVOS.....	50
4 PACIENTES E MÉTODOS.....	51
4.1 Considerações éticas.....	51
4.2 Desenho do estudo.....	51
4.3 Pacientes.....	52
4.4 Métodos.....	52
4.4.1 Entrevista.....	52
4.4.2 Detecção HPV e seus genótipos.....	53
4.4.3 Citologia oncótica cervical.....	54
4.4.4 Colposcopia.....	54
4.4.5 Biópsia de colo uterino.....	54
4.4.6 Procedimento cirúrgico.....	55
4.4.7 Reação em cadeia da polimerase.....	56
4.5 Análise estatística.....	61
4.5.1 Análise univariada e multivariada.....	61
5 RESULTADOS.....	62
5.1 Descrição do estudo.....	62
5.2 Etapas das análises estatísticas.....	64
5.2.1 Análise preliminar.....	64
5.2.2 Análise univariada e multivariada.....	64
5.2.2.1 Análise descritiva.....	65
5.2.2.2 Análise univariada e multivariada.....	69
5.2.2.3 Análise de recidiva de doença cervical pré-invasiva ao longo do tempo.....	71
5.2.2.4 Análise univariada.....	77
5.2.3 Avaliação da proporcionalidade das taxas de falha.....	79

6 DISCUSSÃO.....	79
6.1 Tempo de acompanhamento.....	79
6.2 População.....	80
6.3 Características sociodemográficas.....	80
6.4 Características ginecológicas e obstétricas.....	82
6.5 Achados citológicos, histológicos e PCR.....	83
6.6 Recidiva da neoplasia intraepitelial cervical.....	85
6.7 HIV e HPV.....	91
6.8 Comentários finais.....	92
7 CONCLUSÕES.....	93
REFERÊNCIAS.....	94
APÊNDICES E ANEXOS.....	110

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer do colo uterino é o segundo tipo de neoplasia maligna mais prevalente nas mulheres, sendo responsável, no mundo, por aproximadamente 500 mil novos casos no mundo por ano e mais de 250 mil mortes, caracterizando um sério problema de saúde pública. Estima-se que a prevalência da infecção genital pelo papilomavírus humano (HPV) no mundo seja de 440 milhões (WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 2007).

O câncer do colo uterino é o segundo tumor mais frequente na população feminina depois do câncer de mama e a quarta causa de morte de mulheres por câncer no Brasil. A estimativa de novos casos por ano é de 18.430 e a cada ano faz 4.800 vítimas fatais, com risco estimado de 17 ocorrências a cada 100 mil mulheres (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER - INCA, 2012; Ministério da Saúde).

Mais de 85% dos casos de câncer do colo uterino e dos óbitos ocorrem em países em desenvolvimento, que possuem 5% dos recursos mundiais para seu tratamento (SANJOSE *et al.*, 2010). O câncer do colo uterino é a principal causa de anos perdidos por câncer em populações em desenvolvimento (JEMAL *et al.*, 2011).

A taxa de sobrevida em cinco anos varia entre 51 e 70% em países desenvolvidos e em países em desenvolvimento é de 41% de sobrevida em cinco anos (PARKIN *et al.*, 2005).

A maioria das mortes por câncer do colo uterino ocorre em mulheres com doença localmente avançada estágio II a IV da Federação Internacional de Ginecologia e

Obstetrícia (FIGO, 2009) (ANEXO D), quando as lesões não são passíveis de cura com cirurgia (MONK; TEWARI; KOH, 2007).

A infecção pelo HPV é reconhecida como uma das doenças sexualmente transmissíveis mais comuns (MUNOZ *et al.*, 1994). A infecção pelo HPV de alto risco é frequente entre as mulheres sexualmente ativas, com incidência entre 15 e 40% (BOSCH *et al.*, 2006). Estima-se que, até atingir 50 anos de idade, pelo menos 80% das mulheres serão infectadas por algum tipo de HPV de alto risco em algum momento de suas vidas (BASEMAN; KOUTSKY, 2005).

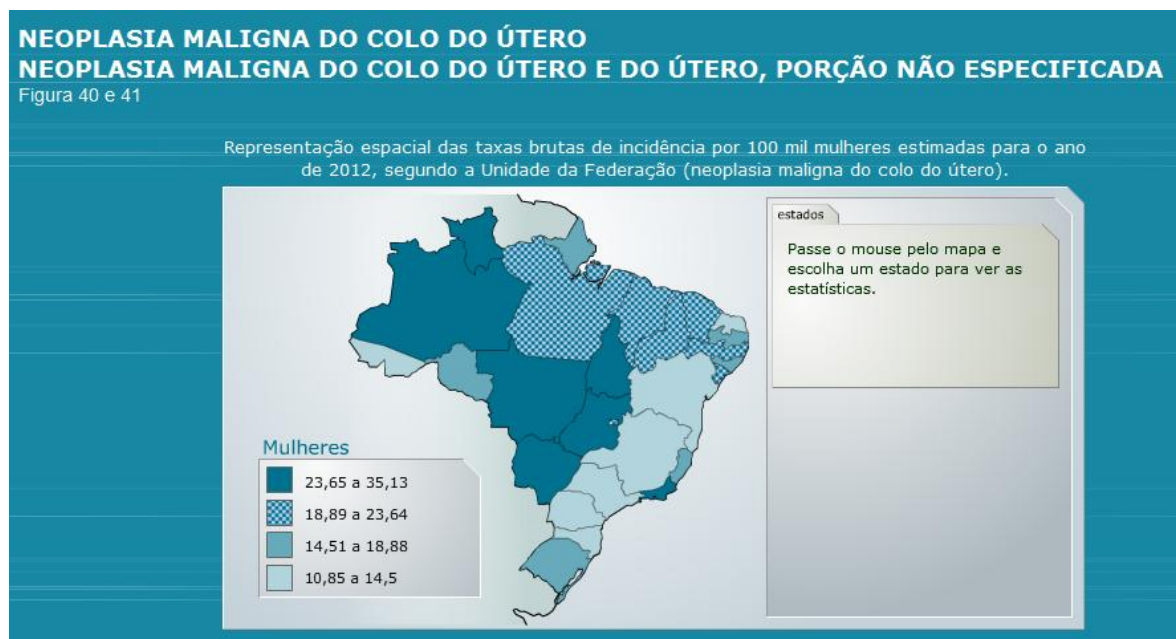
O câncer do colo uterino é, em princípio, um câncer evitável, que apresenta evolução lenta, com longo período desde o desenvolvimento das lesões precursoras ao aparecimento do câncer. A prevenção é eficiente e existem diversas formas de intervenção no controle às múltiplas manifestações da doença.

Porém, apesar da eficácia dos métodos e programas de rastreamento do câncer cervical, a doença se mantém com alta morbimortalidade, necessitando de programas e tratamentos adequados nos países em desenvolvimento (BOSCH *et al.*, 1995; FRANCO; DUARTE-FRANCO; FERENCY, 2001).

O Instituto Nacional de Câncer (INCA) estimava para 2012 que seriam diagnosticados 15.590 novos casos de câncer de colo do útero no Brasil.

O câncer de colo do útero é o mais incidente na região Norte e regiões Centro-Oeste (23,65 a 35,13 por 100mil). Na região Nordeste (18,89 a 23,64 por 100mil), é o segundo mais frequente. Na região Sudeste (10,85 a 14,5 por 100mil) eo quarto é na região Sul (14,51 a 18,88 por 100mil).

FIGURA 1 - Número estimado da doença para cada 100 mil habitantes para o ano de 2012





## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Neoplasia intraepitelial cervical

A infecção persistente por HPV de alto risco oncogênico é necessária para o desenvolvimento de câncer cervical. A maioria das mulheres infectadas pelo HPV, cerca de 90%, irá obter a eliminação viral espontaneamente, a partir de mecanismos imunológicos em um período de 24 meses (MOSCICKI *et al.*, 2006). Portanto, apenas reduzida porcentagem das mulheres infectadas pelo HPV irá permanecer persistentemente infectada e estará sob o risco de desenvolver o câncer cervical (ZUR HAUSEN, 2002).

Estudos epidemiológicos confirmam a gênese da neoplasia cervical por certos tipos de HPV (FRANCO, 1996; MUNOZ *et al.*, 1994; SCHIFFMAN BAUER *et al.*, 1993; ZUR HAUSEN, 1991; ZUR HAUSEN, 1994).

A evidência atual sugere que mais de 50% dos adultos sexualmente ativos tenham sido infectados com um ou mais tipos de HPV genital, no entanto, as maiores partes das infecções pelo HPV desaparecem ou se tornam latentes (HO *et al.*, 1998).

Estima-se que 99% dos casos de câncer tenham como etiologia uma infecção genital pelo HPV (SANKARANARAYANAN *et al.*, 2009; WALBOOMERS *et al.*, 1999; WHO, 2007).

Na maioria dos casos de câncer cervical, aproximadamente 91%, há um único tipo de HPV identificado, com menores proporções, sendo observado em casos provenientes da África, onde múltiplos tipos virais são detectados em 19% dos

casos e em adenocarcinomas (múltiplos tipo de HPV identificados em 8% dos casos) (SANJOSE *et al.*, 2010).

## 2.2 Colpocitologia oncótica e colposcopia

A identificação das neoplasias intraepiteliais cervicais precoce permite tratamento eficaz, com menos custo e alto índice de cura. Os métodos utilizados até o momento para o diagnóstico são a citologia oncótica, colposcopia, histologia e, mais recentemente, a pesquisa da presença do HPV. A maioria das infecções são assintomáticas ou inaparentes e de caráter transitório. As formas são clínicas (lesões exofíticas ou condilomas) e subclínica (quando visível por meio de técnicas de magnificação e após aplicação de reagentes, como ácido acético a 2-5%). O vírus também é capaz de estabelecer uma infecção latente em que não existem lesões visíveis, sendo apenas diagnosticado com técnicas de biologia molecular (PALO *et al.*, 2002)

Desde que Papanicolau, em 1938, avaliando células descamadas da vagina, encontrou casos de câncer, essa técnica foi reconhecida em 1943 e é praticada desde então. É uma das estratégias mais bem-sucedidas para prevenção de câncer até o presente momento. Porém, necessita de infraestrutura de atendimento, tratamento e seguimento bem-organizado (CUZIK J *et al.*, 2006).

Em 2005, a *American Society of Cytopathology* publicou ser a colpocitologia o padrão de rastreamento do câncer cervical. Apesar das limitações da técnica com proporção significativa de resultados falso-positivos (entre 5 e 70%), os resultados falso-negativos são em torno de 20 a 30% e em lesões pré-malignas e malignas de 15 a 50% (CARESTIATO *et al.*, 2006).

A colpocitologia é um teste de sensibilidade mundial de 50%, podendo chegar a 80% em países desenvolvidos, e especificidade de 99,1% para o diagnóstico das alterações causadas pelo HPV (ARBYN *et al.*, 2004).

Os resultados inadequados podem ocorrer devido às limitações do método, como amostras não representativas ou insuficientes, transporte e preparo inadequados dos esfregaços e análise das lâminas (FERENCZY *et al.*, 1997).

O conhecimento adquirido sobre a história natural dessas lesões foi adaptando novos conceitos. Atualmente, a terminologia mais aceita é o Sistema Bethesda 2001 (ANEXO A).

Paciente com citologia de células atípicas (ASC) tem chance de apresentar lesão de alto grau em torno de 5 a 17% dos casos. Por outro lado, a neoplasia intraepitelial cervical grau moderado (NIC2) e grave (NIC3) estão presentes em 24 a 94% dos resultados citológicos de ASC-H (SOLOMON *et al.*, 2002).

O rastreamento do câncer do colo uterino tem sido baseado na coleta da citologia oncológica e colposcopia nos casos com alteração citológica. A colposcopia é um método propedêutico utilizado para a visualização direta do colo uterino com lente de aumento e reações tinturiais, que permitem a identificação e caracterização de lesões dentro e fora da zona de transformação. Os achados colposcópicos permite avaliar a topografia, o aspecto e a extensão das lesões, direcionando o local mais indicado para a realização da biópsia. Apresenta sensibilidade e especificidade de 94 e 51%, respectivamente (MAZIAH; SHARIFAH; YAHYA, 1991; PARHAM; WIREDU; HUSSEIN, 1991).

O exame histopatológico é padrão-ouro de diagnóstico morfológico, realizado em amostras retiradas de áreas suspeitas de lesões intraepiteliais cervicais. Porém, a relação entre a infecção persistente pelo HPV e o desenvolvimento do câncer de colo uterino introduz novas perspectivas na metodologia para rastreamento, diagnóstico, tratamento e prevenção (BOSCH *et al.*, 2002)

Para a comprovação da etiologia viral, até então apenas o teste citopatológico era utilizado na prevenção da NIC. Atualmente, os testes moleculares visam detectar o ácido desoxirribonucleico (DNA) ou ácido ribonucleico mensageiro (RNAm) do HPV para serem desenvolvidos novos programas de rastreamento. Na América

Central e do Sul, a cobertura dos programas pode ser alta, mas a qualidade e o acesso aos tratamentos são ruins (KITCHENER; CASTLE; COX, 2006).

### 2.3 Papilomavírus humano (HPV)

As infecções causadas pelo HPV são consideradas o fator de risco mais importante para lesões intraepiteliais escamosas do colo do útero e câncer invasivo (MUNOZ, 2000; 2006; ZUR HAUSEN, 2000; ZUR HAUSEN, 2009). A grande maioria das infecções com o HPV tem regressão espontânea e muitas vezes não é diagnosticada. O foco principal é nas infecções persistentes causadas pelos HPVs de alto risco oncogênico, responsáveis por desenvolver neoplasias (NADAL; MANZIONE, 2006).

O HPV é um membro da família *Papillomaviridae*. Filogeneticamente, os papilomavírus são agrupados em gêneros e espécies e as lesões por eles provocadas têm diferentes características. Atualmente, são compostos de 16 gêneros, cinco destes compostos de HPV: *Alphapapillomavirus*, *Betapapillomavirus*, *Gammapapillomavirus*, *Mupapillomavirus* e *Nupapillomavirus* (INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES - ICTV, 2005). O gênero *Alphapapillomavirus* constitui o maior grupo de HPV, no qual se encontram as espécies que infectam a região ano-genital e oral, abrangendo os HPVs de alto potencial carcinogênico (RAMOZ *et al.*, 2002). Os HPVs de alto risco são responsáveis por quase todos os casos de câncer de colo uterino e menor proporção de casos de outros cânceres do trato genital, como de vulva e de pênis, e alguns tipos de cânceres extragenitais, tais como carcinomas de cabeça e pescoço, além de contribuir para cerca de 40% dos casos de câncer oral (STANLEY, 2010).

São conhecidos mais de 230 tipos de HPV com base na sequência do DNA viral (HAWES *et al.*, 2004). Foram caracterizados 118 genótipos de HPV de acordo com o nicho ecológico, potencial oncogênico e posição filogenética (DE VILLIERS *et al.*, 2004). Aproximadamente 40 tipos infectam o trato genital.

Os HPVs infectam tanto mucosas quanto os tecidos cutâneos. Podem ser classificados, segundo o seu tropismo pela pele, como cutaneotrópicos; e pela mucosa, como mucosotrópicos. Os cutâneos são aqueles que infectam a superfície queratinizada da pele, causando verrugas comuns; e os mucosotrópicos são encontrados infectando as mucosas urogenitais, anais e oro-respiratórias, causando lesões intraepiteliais de diferentes graus (SCHEURER; TORTOLERO-LUNA; ADLER-STORTHZ, 2005). As diferenças no tropismo estão relacionadas a discretas variações em certas porções do genoma, que resultam em potencial patogênico distinto (STUBENRAUCH; LAIMINS, 1999).

Os HPVs podem ser classificados como oncogênicos de alto risco, denominados oncogênicos, e oncogênicos de baixo risco (CLIFFORT; HOWELL-JONES; FRANCESCHI, 2011; SANJOSE *et al.*, 2010; SARASRABUDDHE *et al.*, 2007).

O risco oncogênico do vírus está diretamente relacionado ao comportamento do seu genoma na célula hospedeira. O DNA viral dentro da célula hospedeira pode assumir duas formas: a epissomal e a integrada. Os HPVs de baixo risco oncogênico tendem a manter o seu DNA íntegro, circular e epissomal, diferente dos HPVs de alto risco oncogênico, cujas fitas de DNA circular se abrem, sofrem deleções e se integram ao genoma da célula hospedeira, sendo encontrado nos tumores malignos. Acabam por determinar um comportamento viral mais agressivo nas regiões infectadas de HPV (BIBBO; MORAES FILHO, 1998).

Os tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 são oncogênicos de alto risco, estando presentes em 99% das neoplasias malignas. Os tipos de HPV 26, 53, 66, 67, 70, 73 e 82 são classificados como genótipos de provável alto risco (INTERNATIONAL AGENCY OF RESEARCH ON CANCER - IARC, 2009). Mais de 70% dos casos de câncer cervical no mundo são causados pelo HPV 16 e 18. O HPV 16 é o mais comum, responsável por 55% dos casos, seguido pelo HPV 18, responsável por 15% dos casos de câncer cervical (MCKENZIE *et al.*, 2010).

Os tipos virais que com maior frequência se integram ao genoma humano são os 16 e 18; nas infecções virais, os tipos 31, 33 e 35. Esses cinco tipos virais são os mais encontrados nas lesões intraepiteliais cervicais. Na América do Sul os HPVs

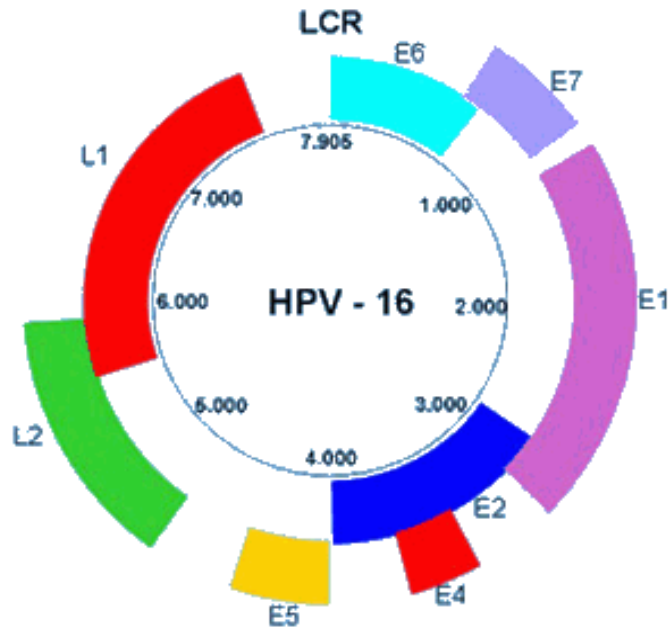
16 e 18 são responsáveis por 65-70% dos casos de neoplasia cervical (SMITH *et al.*, 2007). Os HPVs 18 e 45 são mais comuns em adenocarcinoma do que em carcinomas de células escamosas (LI *et al.*, 2011; SANJOSE *et al.* 2010).

Os tipos 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 55, 61, 62, 71, 81 e candHPV89 Cp6108 são tidos como de baixo risco, presentes nas lesões intraepiteliais cervicais de baixo risco (LEVI *et al.*, 2002; LEVI *et al.*, 2004; MUNOZ *et al.*, 2003).

O HPV é composto de dupla fita de DNA de conformação circular, com cerca de 8.000 pares de bases, envolto por um capsídeo icosaédrico não envelopado de 72 capsômeros e diâmetro medindo 52 a 55 nm, com peso molecular de  $5,2 \times 10^6$  daltons. O vírus é estável e resistente à dessecação, mantendo-se viável no meio extracelular por até uma semana (CHANG; KENG, 1999; DOORBAR, 2005; KNIPE; HOWLEY, 2007).

O HPV é um DNA-vírus cujo genoma está dividido em três domínios: a região reguladora não codificadora (*long control region*) e duas regiões codificadoras: a região inicial (“*early*”) com seis genes (E1, E2, E4, E5, E6 e E7) e a região tardia (“*late*”), que codifica dois genes (L1 e L2) (DOORBAR *et al.*, 2005; KANODIA *et al.*, 2007; SCHEURER; TORTOLERO-LUNA; ADLER-STORTHZ, 2005; STOLER, 2003). Os genes ‘L’ codificam proteínas do capsídeo viral durante o estágio tardio da montagem do virion. Os ‘E’ codificam proteínas com funções reguladoras da atividade celular. A região reguladora contém a origem da replicação e o controle dos elementos para transcrição e replicação (DOORBAR *et al.*, 2005).

FIGURA 2 - Esquema do genoma do HPV



O genoma viral codifica duas proteínas (L1 e L2) que compõem o envoltório viral e seis (E1, E2, E4, E5, E6 e E7) que são responsáveis pela replicação viral e formação de novas partículas virais. O genoma do HPV contém ainda uma região não codificadora (*Long Control Region* LCR), responsável pela regulação do ciclo de replicação viral (DOORBAR, 2005; SCHEURER; TORTOLERO-LUNA; ADLER-STORTHZ, 2005).

Fonte: Munoz *et al.* (2006).

O potencial carcinogênico do HPV é relacionado a duas proteínas virais, E6 e E7, as quais são capazes de interagir com proteínas que regulam o ciclo celular e que atuam como supressoras de tumores, como a proteína 53 (p53) e proteína do retinoblastoma (pRb) (proteína supressora dos tumores do retinoblastoma). O ciclo celular pode ser conceituado como uma cadeia de eventos que leva à proliferação celular por mitose (Doobar, 2006)

A divisão celular nos seres eucariontes compreende quatro fases: G1, S, G2 e M. Células quiescentes encontram-se em uma condição denominada G0. A fase G1 é considerada pré-sintética, na qual a célula inicia a ativação de uma série de genes, incluindo proto-oncogenes e genes necessários à síntese de ribossomos e tradução de proteínas. A fase S compreende o período da duplicação do DNA. O período G2 é o intervalo entre o final da síntese e o início da mitose propriamente

dita da célula em questão, sendo, por essa razão, denominada fase pré-mitótica. Na fase M ocorre a divisão do núcleo seguida de citocinese (Munoz et al 2006).

O Rb foi o primeiro gene supressor de tumor a ser descoberto. Esse gene expressa a proteína pRb, que exerce efeitos antiproliferativos ao controlar a transcrição da fase G1 para a fase S do ciclo celular. A proteína na forma ativa (hipofosforilada) encontra-se ligada ao fator de transcrição E2F (proteína de regulação gênica). O fator de transcrição E2F coordena a expressão temporal de genes necessários para proliferação celular (FROLOV *et al.*, 2004). Ligada à pRb, a ação de E2F permanece bloqueada e a célula estaciona na fase G1. Este é um dos pontos de checagem do ciclo de divisão celular. A oncoproteína E7 se liga à pRb, impedindo a formação do complexo E2F-pRb, fazendo com que a célula entre na fase S e volte a se replicar, replicando também as proteínas virais (DOORBAR, 2005) sem passar pelo ponto de checagem celular (GHITTONI *et al.*, 2010). Ocorrendo a fosforilação da pRb, ela se torna inativa, liberando E2F (fator de transcrição E2). Se a E2F permanecer ativada, faz com que haja crescimento desordenado das células (ISAKA *et al.*, 2004; RAPP *et al.*, 1998; WIELAND; PFISTER, 1997).

Essa interação provoca a degradação e inativação das proteínas celulares, o que conduziria à transformação, à imortalização celular e, posteriormente, à formação de neoplasias. Em condições normais, o aparecimento de danos ao DNA celular promove a ativação da p53, que por sua vez induz a expressão de altos níveis de p21, a qual ativa uma cascata de eventos, resultando na interrupção do ciclo celular na fase G1, para que haja tempo de reparar tais danos antes que a molécula de DNA entre na fase de duplicação. A função reparadora do p53 lhe confere o título de “guardião do genoma”. Caso esse mecanismo de reparo não obtenha êxito, a p53 promove um mecanismo que leva à morte celular por apoptose (ISAKA *et al.*, 2004; WIELAND; PFISTER, 1997).

A proteína E6 se liga ao supressor de tumor p53, impedindo a apoptose celular, e desempenha importante papel nos processos que levam à transformação celular neoplásica, pelo fato dessa proteína interagir de maneira a acelerar os mecanismos de degradação fisiológica da proteína supressora do crescimento



tumoral p53, fenômeno que interfere profundamente nos mecanismos de apoptose e reparo do DNA. A ativação do p53 também ocorre quando há estimulação inadequada da síntese de DNA celular, como nas infecções pelo HPV. O principal mecanismo pelo qual o E6 inativa o p53 é por sua degradação, inibindo sua ligação com o DNA celular e bloqueando sua função (LI; COFFINO, 1996).

Outra ação da proteína E6 é a ativação da telomerase, enzima que produz o alongamento do telômero celular nas células epiteliais. Com sucessivas divisões celulares, a região do telômero é encurtada e isso sinaliza à célula para entrar em senescência (HAYFLICK, 1965). A proteína E6 ativa a telomerase nas células epiteliais, perpetuando, desse modo, a divisão celular que seria naturalmente interrompida, imortalizando a célula (KLINGELHUTZ; FOSTER; McDOUGALL, 1996).

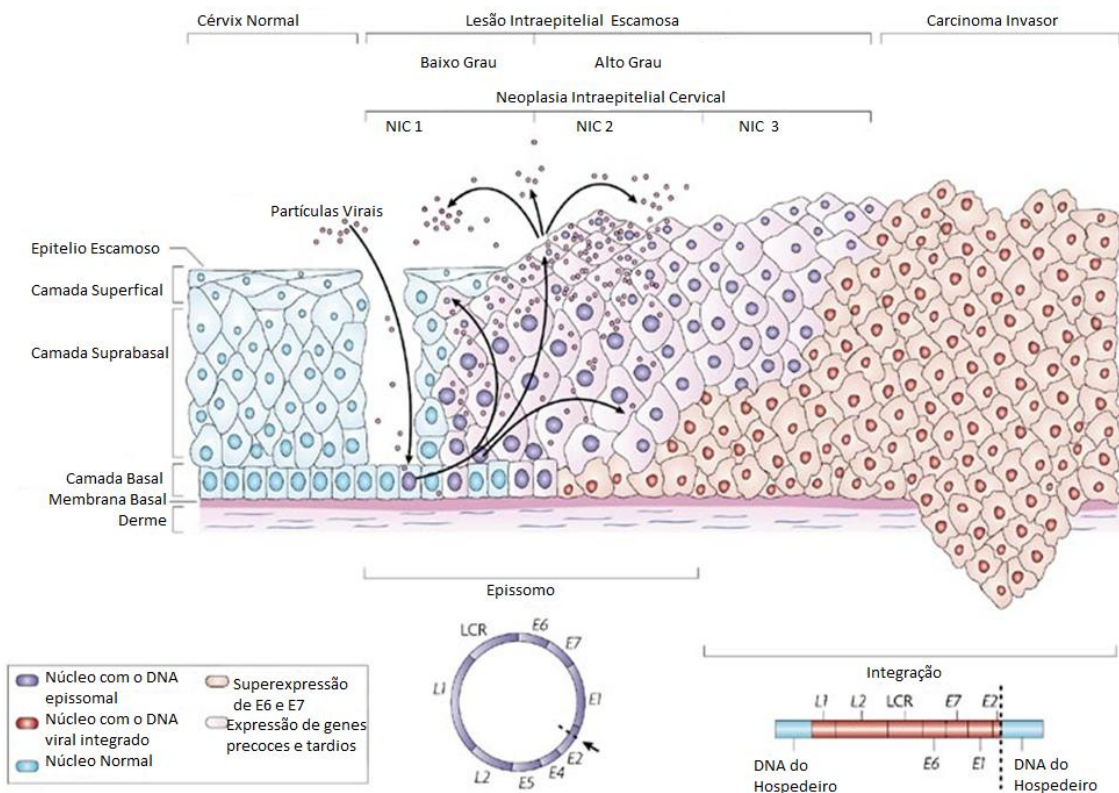
Os dois genes tardios L1 e L2 codificam para as duas proteínas do cápsideo viral. O genoma do HPV, por razões ainda não esclarecidas, pode interagir no genoma humano. Durante o processo de integração, parece haver preferência por áreas próximas do oncogenes, sendo etapa importante para transformação neoplásica. Quanto ao genoma viral, este é rompido nas regiões E1 e E2, as quais controlam a transcrição dos genes E6 e E7. Portanto o E6 e E7 estarão livres de controle transcrito e poderão interferir nos mecanismos de controle do ciclo celular (Stanley.,2010)

QUADRO 1 – Relação entre os genes do papilomavírus humano e suas requeridas funções

Expressão Gênica	Genes	Função
Precoce	E1	Replicação do DNA viral
	E2	Controle da transcrição e replicação
	E4	Maturação do vírus e alteração da matriz intracelular
	E5, E6, E7	Estímulo da proliferação e transformação celular
Tardia	L1	Codifica proteína principal do capsídeo
	L2	Codifica proteína secundária do capsídeo

Fonte: Souto (2005).

FIGURA 3 - Progressão de lesões induzidas por HPV a câncer cervical



Adaptado de: Nature Reviews | Cancer

As células da camada basal do epitélio ectocervical se localizam sobre a membrana basal, que é sustentada pela lamina própria. Os HPVs acessam as células basais por meio de micro lesões no epitélio. Após a infecção, os genes precoces E1, E2, E4, E5, E6, e E7 são expressos e o DNA viral

se replica como DNA epissomal (núcleo roxo). Nas camadas intermediárias e superiores do epitélio o genoma viral é replicado em maior escala e os genes E4, L1 e L2 são expressos. L1 e L2 promovem a encapsidação dos genomas virais no núcleo. Os vírions podem então iniciar uma nova infecção. Nas lesões epiteliais de baixo grau há replicação viral produtiva. Parte das infecções pelo HPV de alto risco progride para neoplasia intraepitelial de alto grau (NICIII). A progressão de lesões não tratadas a câncer invasivo está associada à integração do genoma viral ao cromossomo do hospedeiro (núcleo vermelho), com perda ou rompimento de E2 e subsequente superexpressão dos oncogenes E6 e E7.

Fonte: modificado de Woodman, Collins e Young (2007).

Quando ocorre a migração das células da camada basal para a camada suprabasal, as células da camada suprabasal infectadas pelo HPV ficam em fase S incompleta para replicar em altas taxas o genoma do HPV. Inicia-se a expressão gênica viral tardia (L1e L2), o genoma circular viral é replicado e as proteínas estruturais são formadas. Quando as células atingem a camada superficial da mucosa ou da pele, partículas virais completas são formadas, verificando-se o empacotamento, e liberadas (McMURRAY *et al.*, 2001). A falha na expressão do gene E1 faz com que o vírus perca sua forma epissomal, integrando o genoma do hospedeiro. E isso acontece quando há a progressão da doença (CARMO; FIORINI, 2007; ZUR HAUSEN, 2002).

O período mínimo entre a infecção e a liberação das partículas de HPV é, em média, de três semanas. Durante esse período grande parte das lesões é eliminada pelo sistema imune espontaneamente, mas em alguns casos pode escapar dos mecanismos de defesa do hospedeiro, resultando em uma infecção persistente (STANLEY, 1998).

A infecção pelo HPV inicia-se nas células da camada basal parabasal do epitélio escamoso cervical e metaplásicas, pela penetração do vírus por microlesões da mucosa ou pele. A infecção pelo HPV somente ocorre nas células epiteliais que mantêm sua capacidade de proliferação. O vírus infecta as células próximas da membrana basal do epitélio escamoso cervical e divide-se em duas filhas: uma delas inicia o processo de diferenciação e maturação, levando à amplificação do DNA viral e expressão dos genes tardios; a outra permanece indiferenciada na camada basal, servindo de reservatório do DNA viral, e mantém seu genoma por meio de baixo número de cópias na forma epissomal a partir da expressão dos genes E1e E2 (DOORBAR, 2005).

Nas células basais, a maior parte da expressão viral é suprimida, apesar de ter expressão limitada de alguns genes iniciais (E5, E6 e E7), resultando no aumento da proliferação das células infectadas e sua expansão lateral. Nas transformações malignas há a integração do DNA viral com o genoma do hospedeiro (PARK; FUJIWARA; WRIGHT, 1995), levando à quebra da região, onde encontram os genes E1 e E2. A perda do gene E2 responsável pela codificação das proteínas inibidoras da transcrição das oncoproteínas E6 e E7 leva à suspensão da inibição, com aumento descontrolado da expressão das oncoproteínas E6 e E7. As oncoproteínas E6 e E7 impedem o ciclo celular e a diferenciação celular normal é retardada, evento necessário para a replicação viral (STANLEY, 2010). Essa expressão descontrolada leva à transformação maligna das células do hospedeiro (PHELPS *et al.*, 1988).

Os oncogenes E6 e E7 interagem com o gene supressor de tumor do hospedeiro p53 e pRb, respectivamente, impedindo os processos de reparação do DNA, levando à inibição da apoptose celular e consequente aumento da replicação das células transformadas, acúmulo de mutações, resultando na imortalização celular e transformação para câncer (MOTOYAMA *et al.*, 2004; SZOSTEK *et al.*, 2006; KANODIA *et al.*, 2007).

### **2.3.1 Métodos de detecção tipagem do HPV**

Estudos demonstram que o teste molecular para detecção de DNA do HPV pode ser associado a significativa redução do número de casos de câncer cervical avançado e mortes em decorrência dessa neoplasia, se forem adequadamente implantados (SANKARANARAYAMA *et al.*, 2009). O resultado negativo está associado a baixas taxas de desenvolvimento de NIC3 nos seis anos seguintes à realização do teste (DILLNER *et al.*, 2008).

A pesquisa para DNA viral é mais sensível que a citologia para detecção de lesões intraepiteliais de alto grau. Alguns estudos revelam que a sensibilidade do teste para DNA-HPV para detecção de NIC2 foi de 96% e da citologia foi de 53%,

enquanto a especificidade do teste foi de 92% e da citologia de 97% (CUZIK *et al.*, 2006). Além de identificar mulheres com doença cervical, o teste pode identificar aquelas com risco de desenvolvê-las no período de três a 10 anos (BHATLA; MODA, 2009; KITCHENER *et al.*, 2009).

Várias técnicas foram desenvolvidas baseadas nas propriedades de hibridização dos ácidos nucleicos visando à triagem e ao isolamento de sequências específicas do DNA e ácido ribonucleico (RNA). A maioria das técnicas trabalha com uma réplica do DNA de interesse, imobilizado num suporte sólido tal como uma membrana de náilon ou de nitrocelulose (SOUTHERN, 1975).

Sondas de ácidos nucleicos (DNA ou RNA marcados radioativamente) podem ser utilizadas para hibridizar com DNA fixado na membrana. E a posição na qual a ligação específica ocorre pode ser detectada por autorradiografia da membrana (SOUTHERN, 1975). Esse método tem elevado custo e é muito trabalhoso, por isso não é usado rotineiramente.

As técnicas de biologia molecular para detectar o DNA viral podem ser divididas em:

- a) Hibridização *in situ* (ISH), hibridização *in situ* com fluorescência (FISH).
- b) Amplificação de sinal [captura híbrida (HC2bDNA)] usada para triagem em massa de pacientes com alterações citológicas, porém não determina o tipo viral.
- c) Reação em cadeia da polimerase, que varia desde a PCR-alelo específica, passando pelo tipo Nested e a PCR multiplex, e a mais nova técnica baseada na tecnologia de *microarray*. Pode ser usada para detecção, genotipagem, quantificação da carga viral e sequenciamento (HUBBARD, 2003; MOLIJN *et al.*, 2005; RITARI *et al.*, 2012).

### 2.3.2 Captura híbrida

A captura híbrida é um teste sensível capaz de detectar diversos agentes infecciosos. O exame é realizado com material coletado na área suspeita, utilizando um *kit* fornecido pelo laboratório. O *kit* contém uma escova e um tubo de ensaio com solução ácida que digere qualquer outra estrutura (células, proteínas, gorduras, etc.) que não seja DNA ou RNA e fragmenta a molécula de DNA em curtas sequências de bases nitrogenadas para facilitar a hibridização (PEYTON *et al.*, 1998).

A *Food and Drug Administration* (FDA), em 2003, aprovou o teste de captura híbrida (CH) II, associado ou não ao teste de Papanicolau, para rastreamento primário em mulheres acima de 30 anos (BASEMAN *et al.*, 2008). O método é aprovado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). A captura híbrida demonstra sensibilidade de 91,7% e especificidade de 95,4% comparada ao método de reação em cadeia da polimerase (TULIO *et al.*, 2007).

Clinicamente, o teste molecular para detecção do HPV mais utilizado é o de CH II (*Digene Diagnostics*, Gaithersburg, MD, Estados Unidos da América - EUA). Esse teste é baseado em sondas de RNA específicas para 13 tipos de HPV de alto risco e cinco tipos de baixo risco. O resultado não especifica o tipo de HPV, apenas indica se a amostra é positiva ou negativa e, se positiva, indica se o vírus é de baixo ou alto risco (DAVIES; KOMEYAY; IFNER, 2001; VIDAL *et al.*, 2012).

### 2.3.3 Reação em cadeia da polimerase

A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi concebida por Kary Mullis, em 1985, e é um método que utiliza síntese enzimática de DNA, determinando amplificação específica e exponencial de determinado fragmento desse ácido nucleico, milhões de vezes. A PCR é uma reação enzimática que resulta na amplificação de material genético “*in vitro*” (MULLIS; FALLOONA, 1987).

A reação consiste de uma etapa de aquecimento em temperaturas elevadas, provocando a desnaturação do DNA. Em seguida, procede-se a uma etapa de

resfriamento, levando ao pareamento específico de dois segmentos pequenos de DNA (*primers*) ao gene de interesse, permitindo que uma enzima (DNA polimerase) sintetize novos fragmentos de DNA. Quantidades muito pequenas de DNA podem ser amplificadas de forma sensível e específica a partir de incubação na presença de reagentes até obter o produto final amplificado. A visualização do material amplificado é feita por eletroforese em gel de agarose e a comparação com controles adequados e marcadores de tamanho permite sua identificação precisa (MULLIS; FALOONA, 1987).

A realização dessa reação diante de *primers* ou sequências iniciadoras específicas para determinado tipo viral permite a amplificação do DNA desejado mesmo quando presente em pequenas quantidades (GIULIANO et al 2001)

A técnica de PCR é a mais utilizada para detecção do DNA do HPV e é considerado o método mais sensível para a detecção do DNA viral em espécimes clínicos (GIULIANO *et al.*, 2001). Em comparação ao método de captura híbrida, estudos demonstram especificidade que varia de 78,3 a 93% para CH e 92,8 a 100% para a PCR14-17. A PCR permite a replicação *in vitro* do DNA viral, para que sejam geradas cópias suficientes para detecção e análise (DAVIES; KOMEKAY; IFNER, 2001).

Os *primers* (iniciadores genéricos para amplificar fragmentos de DNA de diferentes regiões do genoma viral) mais utilizados nos exames clínicos e epidemiológicos são os pares MY09/11 (MANOS *et al.*, 1989) e GP+5/+6 (SNIJDERS *et al.*, 2001). Todos esses *primers* são comuns para a maioria dos tipos de HPV, pois é derivada do gene da proteína L1 viral, uma proteína encontrada no capsídeo dos vírus. Os *primers* MY09/11 e PGMY09/11 possuem 450 pb e o *primer* GP+5/+6, 190 pb (VIDAL *et al.*, 2012).

Grandes empresas, como a Roche, comercializam *kits* prontos para detecção de HPV baseados na técnica de PCR e *array*, como os *kits* AMPLICOLOR HPV *Test.* e *LinearArray HPV Genotyping Test.* A principal diferença entre os dois *kits* é que o primeiro detecta 13 tipos de HPV de alto risco, enquanto o segundo detecta tanto os tipos de alto risco detectados pelo primeiro como também alguns de

baixo risco, totalizando 37 tipos de HPV que podem ser detectados (FARSHADPOUR, 2011).

O teste Covas 4800 da Roche é um ensaio multiplex qualitativo, que fornece informações específicas para a genotipagem do HPV tipos 16 e 18, ao mesmo tempo em que detecta os outros 12 tipos de HPV de alto risco. Esse ensaio é integralmente automatizado no sistema Cobas® 4800. O sistema utiliza um método de isolamento de ácido nucleico total de preparação de amostras com PCR em tempo real para amplificação e detecção (ROCHE;2012).

No estudo de referência ATHENA é mostrado que o Teste **cobas**® 4800 HPV descobre a doença que não é encontrada por citologia - uma em 10 mulheres que tiveram resultados positivos para qualquer um dos genótipos 16 ou 18 do HPV pelo Teste **cobas**® 4800 HPV da Roche já tinham provas de pré-câncer cervical, apesar de seus exames de Papanicolau estarem normais (COX et al 2013)

O Teste **cobas**® 4800 HPV é clinicamente validado e aprovado pela FDA, tem um processo de fluxo de preparação de amostra totalmente automatizado e características de eficiência exclusivas que permitem maior capacidade de transferência, o que o torna bem adequado para programas de triagem de alto volume. (ROCHE;2012).

*Aptima HPV Assay* é um ensaio da *Hologic* que detecta RNAm amplificado superexpresso dos E6 e E7 oncogenes virais em 14 tipos de HPV de alto risco associados ao câncer de colo uterino e lesões pré-cancerosas. O teste *Aptima* foi aprovado pela FDA para mulheres acima de 21 anos com resultado na citologia cervical de células atípicas de significado indeterminado (ASC-US) para avaliar a necessidade de encaminhamento para colposcopia e para mulheres acima de 30 anos associado à citologia cervical para avaliar a presença ou ausência de tipos de HPV de alto risco(DOCKTER,J. et al.2009) .

O teste de HPV *Aptima* é realizada com ThinPrep líquido citologia espécime da *Hologic* e pode ser testado antes e depois de ter sido processado para o teste citológico no sistema ThinPrep 2000(DOCKTER,J. et al.2009) .



## **2.4 Fatores de risco sociodemográficos associados às lesões intraepiteliais cervicais**

Alguns tipos de HPV são admitidos como fator causal necessário, porém não suficiente na etiopatogenia da lesão neoplásica (FRANCO; DUARTE-FRANCO; FERENCY, 2001) Os fatores de risco relacionados à NIC incluem: infecção pelo HIV e imunossupressão, idade, início precoce da atividade sexual, maior número de parceiros sexuais, tabagismo, multiparidade, uso de anticoncepcional oral, não utilização de métodos de barreira e infecção por outras doenças sexualmente transmissível (DSTs), além de fatores genéticos (BOSCH *et al.*, 1995; FRANCO; DUARTE-FRANCO; FERENCY, 2001; MOSCICKI *et al.*, 1989; SHEW *et al.*, 1994).

### **2.4.1 Idade**

A maior incidência do câncer de colo de útero acomete mulheres com idades entre 40 e 60 anos, sendo menos frequente antes dos 30 anos. Isso se deve ao longo período da evolução da infecção inicial pelo HPV no início das atividades sexuais, na adolescência ou até por volta dos 20 anos, até o aparecimento do câncer. Porém, esse quadro vem se modificando aos poucos e o aparecimento de lesões precursora está ocorrendo cada vez mais precocemente, devido à iniciação cada vez mais antecipada das atividades sexuais associada aos demais fatores de risco (BEZERRA *et al.*, 2005).

Mulheres com mais de 40 anos e infectadas com HPV apresentam risco 30 vezes mais alto de desenvolver câncer do que mulheres mais jovens (POWELL *et al.*, 2011).

A maioria das infecções por HPV em mulheres com menos de 30 anos regride espontaneamente, ao passo que acima dessa idade a persistência é mais frequente (IARC, 2007).

### **2.4.2 Tabagismo**

O uso do tabaco aumenta a incidência de HPV e de lesões cervicais (DERCHAIN *et al.*, 2005; MURTA *et al.*, 1999). O tabagismo está relacionado às lesões intraepiteliais conforme o tempo de exposição, início e frequência de consumo de cigarro. Apresenta risco relativo três a sete vezes mais alto em tabagista quando comparada às não tabagistas (PINTO; TULIO; CRUZ, 2002). O tabagismo reduz a quantidade e as funções das células de Langhans, responsáveis pela ativação da imunidade celular local contra o HPV. Os metabólitos da nicotina podem ser encontrados no muco cervical (BURD, 2003).

A nicotina inibe a apoptose celular e o benzopireno (encontrado na fumaça do cigarro) é uma substância cancerígena. Além disso, o fumo está associado à instabilidade microssatélite do DNA, que por sua vez pode estar relacionado à metilação genômica e/ou mutações. A fumaça do cigarro pode promover a angiogênese e reduzir as células de Langerhans locais (NORDENVALL *et al.*, 2011) .

Na persistência da infecção associada ao hábito de fumar constata-se que há aumento do risco de falha no tratamento das neoplasias intraepiteliais (ACLADIOUS *et al.*, 2002).

### **2.4.3 Início precoce da atividade sexual**

A iniciação da vida sexual antes dos 18 anos é considerada precoce, porque a cérvix ainda não está completamente formada e os níveis hormonais não estabilizados. As mulheres que iniciam sua vida sexual entre 15 e 19 anos, manifestam ligeira tendência a apresentarem lesões por HPV (GOMES, 2003). Com o início da atividade sexual antes dos 16 anos, dobra-se o risco de desenvolvimento das lesões precursoras e do câncer do colo uterino comparado àquelas que iniciaram depois dos 20 anos (MUNOZ *et al.*, 2003). Há aumento no

risco para HPVs oncogênicos com a diminuição da idade do primeiro coito (ROUSSEAU *et al.*, 2001)

#### **2.4.4 Número de parceiros sexuais**

Há aumento da incidência de lesões cervicais por HPV em mulheres cujo número de parceiro foi superior a dois (BEZERRA *et al.*, 2005). Detectou-se tendência à associação mais intensa entre número de parceiros sexuais e positividade para o HPV quando se tratava de infecção por múltiplos tipos virais ou por HPV de alto risc (HO *et al.*, 1998; VACCARELLA *et al.*, 2006; WINER *et al.*, 2001). Há risco cinco vezes mais alto em mulheres com dois parceiros ou mais antes de completar 20 anos. O risco da aquisição do HPV aumenta paralelamente ao número de parceiros sexuais, variando de 17% em mulheres com um parceiro até 83% em mulheres com cinco parceiros (KJELLBERG; HALLMANS, 2000). O fato de o homem apresentar mais de uma parceira foi suficiente para aumentar três a quatro vezes as chances de diagnóstico de HPV, independentemente do número de parceiras relatadas (TEIXEIRA *et al.*, 2002).

#### **2.4.5 Uso de anticoncepcionais orais**

Os anticoncepcionais orais, apesar de favorecerem a formação da ectopia, tornando a zona de transformação mais susceptível à infecção, não parecem exercer papel direto na exposição ao HPV. Por outro lado, o uso de método hormonal está associado ao comportamento sexual, que poderia resultar em mais exposição e mais probabilidade de infecção pelo HPV (SAUNDERS, 2009).

Os dados da literatura são contraditórios. Em um trabalho de revisão não foi encontrada associação entre a infecção por HPV e o uso prolongado de anticoncepcionais hormonais (SOUZA, 2001).

Pesquisas demonstraram que a contracepção oral prolongada está associada ao desenvolvimento da lesão intra-epitelial escamosa de alto-grau (HSIL) (KRUGER-

KJAER *et al.*, 1998). Presume-se que os anticoncepcionais orais induzem a uma deficiência local de ácido fólico, que interfere na síntese do DNA, aumentando a suscetibilidade das células ao vírus oncogênico ou agentes químicos carcinogênicos, resultando em um fator de risco para lesão intraepitelial cervical (CASTELLSAGUE; MUNOZ *et al.*, 2003; KJELLBERG; HALLMANS, 2000).

Estudo de coorte em mulheres brasileiras e argentinas não evidenciou associação entre o uso de anticoncepcionais orais e o aumento de risco de infecção ou HSIL (LONGATTO-FILHO, 2011). Por outro lado, outros autores observaram a presença mais frequente de HPV entre as usuárias de anticoncepcionais orais, mesmo quando faziam ajustes com a faixa etária (GHAENEM *et al.*, 2011)

Mulheres que usaram anticoncepcional oral por menos de cinco anos não tiveram risco aumentado de desenvolvimento da neoplasia cervical maligna, porém o uso prolongado (10 anos ou mais) pode ser um cofator que aumenta quatro vezes esse risco quando positivas para HPV (MORENO *et al.*, 2002).

#### **2.4.6 Uso de preservativo**

O uso do preservativo é eficaz em prevenir a disseminação de muitos agentes sexualmente transmissíveis, porém pode não proteger adequadamente os indivíduos em exposição ao HPV, tendo em vista que esse vírus pode ser transmitido pelo contato labial, escrotal, anal ou pelo contato com tecidos infectados que não são protegidos pelo preservativo (BURD, 2003).

O uso do preservativo é recomendado principalmente para os indivíduos que nunca tiveram contato com o HPV. Seu uso exerceu efeito protetor contra o aparecimento de novas lesões sugestivas de infecção por HPV em parceiros de mulheres com essa infecção e que no início do atendimento pareciam sadios (HIPPELAIMEN *et al.*, 1994).

O uso mais frequente do condom associou-se à eliminação mais rápida do vírus (SHEW *et al.*, 2006). E estudo longitudinal com mulheres que iniciaram sua vida

sexual recentemente ressaltou associação do uso de condom masculino com a diminuição do risco de infecção pelo HPV (WINER *et al.*, 2001).

#### **2.4.7 Multiparidade**

O mecanismo pelo qual o número elevado de partos aumenta o risco de desenvolvimento de carcinomas cervicais é a manutenção da zona de transformação na ectocérvice por muitos anos, aumentando a exposição ao HPV. A multiparidade é um dos fatores de risco para a existência das lesões precursoras. O risco dobra nas mulheres que tiveram quatro filhos, quando comparado com as que tiveram um ou nenhum filho. Mulheres com sete ou mais gestações apresentam risco 3,9 vezes mais alto quando comparadas com mulheres nulíparas (BURD, 2003; MUNOZ *et al.*, 2003).

#### **2.4.8 Imunossuprimidas**

O estado imunológico das pacientes é considerado um fator de risco. A imunocompetência do hospedeiro pode desempenhar algum papel na evolução das lesões cervicais ao vírus HPV, que pode ser detectada entre quatro meses e cinco anos pós-infecção natural (CARTER *et al.*, 2000), porém apenas 60% das pacientes soroconvertem (CARTER *et al.*, 1996). O processo de soroconversão é lento e guiado por exposição antigênica, podendo ser associado a cargas virais altas e à infecção persistente (HO *et al.*, 2004). O desenvolvimento de lesões e tumores relacionados ao HPV-16 foi associado à resposta imune celular deficiente contra as proteínas E6 e E7 (DE JONG *et al.*, 2004).

A resposta imune do hospedeiro elimina a maioria das infecções por HPV e em lesões induzidas pelo vírus pode ser detectada resposta imune humoral e celular contra antígenos de HPV (JENSON; KURMAN; LANCASTER, 1991).

Mulheres que possuem o sistema imune debilitado, como as HIV-positivo, têm mais probabilidade de desenvolver NIC, comparada à população em geral, devido

à sua baixa imunidade, com estimativa de terem até 10 vezes mais chances de desenvolver NIC do que aquelas não portadoras do HIV (ZIMMERMANN; NELO; CASTRO, 2006).

Alguns fatores de risco diretamente relacionados à resposta imunológica têm sido associados à maior chance de desenvolvimento de NIC. Mulheres infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), mulheres imunossuprimidas por transplante de órgãos sólidos, em tratamentos de câncer e usuárias crônicas de corticosteroides constituem os principais exemplos desse grupo. A prevalência da infecção pelo HPV e a persistência viral, assim como a infecção múltipla (por mais de um tipo de HPV), são mais frequentes nesse grupo de mulheres. Em mulheres infectadas pelo HIV, o desaparecimento do HPV parece ser dependente da contagem de células CD4+ e lesões precursoras tendem a progredir mais rapidamente e a recorrer mais frequentemente do que em mulheres não infectadas pelo HIV. Entretanto, mulheres infectadas pelo HIV imunocompetentes, tratadas adequadamente com terapia antirretroviral de alta atividade (HAART) possuem história natural semelhante à das demais mulheres (AUSTRALIAN GOVERNMENT/NATIONAL HEALTH AND MEDICAL RESEARCH COUNCIL, 2005).

#### 2.4.8.1 Síndrome da imunodeficiência humana

O HIV é um retrovírus com genoma RNA, da família *Retroviridae* e subfamília *Lentivirinae*. Pertence ao grupo dos retrovírus citopáticos e não oncogênicos que necessitam multiplicar-se a partir de uma enzima denominada transcriptase reversa, responsável pela transcrição do RNA viral para uma cópia DNA, que pode, então, integrar-se ao genoma humano (ABBAS et al ,2005).

O vírus da imunodeficiência humana tem 100 nm de diâmetro, sua estrutura é formada por um núcleo proteico contendo duas cópias idênticas de 9,2 kb. É constituído externamente por um envelope formado por uma bicamada lipídica derivada da célula do hospedeiro e as glicoproteínas gp120 e gp41, responsáveis pela entrada do vírus na célula do hospedeiro. Internamente, uma matriz proteica

(p17) envolve o capsídeo viral (p24). Dentro do capsídeo viral está o genoma viral, que consiste de duas fitas simples de RNA associadas a três enzimas virais, denominadas transcriptase reversa, integrase e protease (BARRE-SINOUSI, 1996).

O ciclo replicativo viral do HIV na célula humana inicia-se a partir da ligação de glicoproteínas superficiais virais gp120 e gp41, estabelecendo interações com as moléculas receptoras das células-alvo, ao receptor específico da superfície celular (principalmente linfócitos T-CD4), com a fusão do envelope do vírus com a membrana da célula hospedeira e liberação do “core” do vírus para o citoplasma da célula hospedeira (ABBAS et al2005).

Ocorre a transcrição do RNA viral em DNA complementar, dependente da enzima transcriptase reversa. Verifica-se o transporte do DNA complementar para o núcleo da célula, onde pode haver integração no genoma celular (provírus), dependente da enzima integrase, ou a permanência em forma circular. O provírus é reativado e produz RNA-m viral, indo para o citoplasma da célula. As proteínas virais produzidas regulam a síntese de novos genomas virais e formam a estrutura externa de outros vírus que são liberados pela célula hospedeira. O vírion recém-formado é liberado para o meio circundante da célula hospedeira, podendo permanecer no fluído extracelular ou infectar novas células (GREENBLATT, 2001; RACHID; SCHECHTER, 2001).

## **2.5 A resposta imunológica**

O sistema imune é parcialmente derivado dos componentes do sistema hematopoiético, sendo dividida em imunidade inata e adaptativa (ABBAS et al 2005)

### **2.5.1 Imunidade inata**

A maioria dos casos de transmissão do HIV-1 acontece por meio da exposição de mucosas ricas em células de Langherans e macrófagos. Apesar da conhecida ação antiviral dos peptídeos antimicrobianos secretados pelas células epiteliais, é pouco provável que esses fatores antivirais possam realizar uma barreira completa à infecção (ALTFELD ., et al 2011).

Durante a fase aguda da infecção pelo HIV-1, a resposta imune natural seria conduzida pelas células dendríticas que, uma vez ativadas, secretariam interleucina 12, interleucina 15, interleucina 18 e interferon tipo I, que estimulariam as células *natural killer*. Estas células ativadas secretariam interferon- $\gamma$ , o que promoveria a maturação das células dendríticas. Porém, essa resposta imunológica parece estar prejudicada durante a infecção pelo HIV-1 (ALTFELD *et al.*, 2011).

### **2.5.2 Imunidade adaptativa**

Existem dois tipos principais de imunidade adaptativa: a imunidade celular, responsável pela defesa contra micróbios intracelulares, e a imunidade humoral, que protege contra micróbios extracelulares e suas toxinas. A imunidade celular é mediada por linfócitos T e a imunidade humoral é mediada por linfócitos B e por seus produtos secretados, os anticorpos (ELLERBROCK *et al* 2000).

### **2.5.3 Imunidade celular**

Ao vencer a barreira natural, o HIV-1 infecta as células CD4+. A eficiência da replicação viral nas células CD4+ é dependente do estado de ativação dessas células. Enquanto as células CD4 + ativadas são permissivas à replicação viral, as células T quiescentes não sustentam a retrotranscrição, integração e expressão do genoma viral (COIRAS *et al.*, 2009). No entanto, o HIV-1 possui



mecanismos que promovem a imunomodulação dos linfócitos T CD4+, mantendo a replicação e a infectividade viral (NERI *et al.*, 2011).

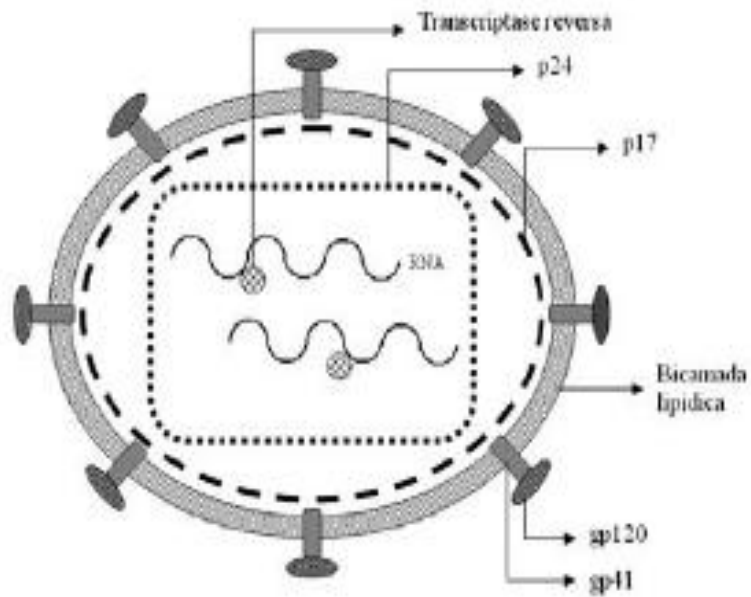
Durante as primeiras semanas de infecção, a resposta imune adaptativa surge dando origem à resposta inicial mediada pelos linfócitos T CD8+ específicos (CTLs). A associação temporal entre uma resposta dos CTLs HIV-1 específicos e a diminuição da carga viral na fase aguda da infecção pelo HIV-1 salienta os CTLs como o principal fator responsável pelo controle inicial da replicação viral. Além disso, os linfócitos T CD8+ de memória mantêm a capacidade citolítica, que pode ser reestimulada e, com isso, aumentar a capacidade citotóxica dos CTLs na fase crônica da doença (Abbas *et al.*, 2005).

#### **2.5.4 Imunidade humoral**

Os linfócitos B compreendem a classe dos linfócitos residentes em tecidos linfoides associados às mucosas e órgãos linfoides secundários. A infecção pelo HIV-1 provoca mudanças estruturais nos folículos de células B, incluindo a hiperplasia folicular associada a um dos sinais clínicos da infecção pelo HIV-1, que é a linfadenopatia (TENNER-RACZ *et al.*, 1989). Alguns autores relatam a presença de plasmócitos (células B maduras) na circulação de pacientes recém-infectados pelo HIV-1 (LEVESQUE *et al.*, 2009) e acredita-se que as altas concentrações de citocinas produzidas durante a fase aguda da infecção sejam as responsáveis por esse aumento (WRAMMERT; AHMED, 2008).

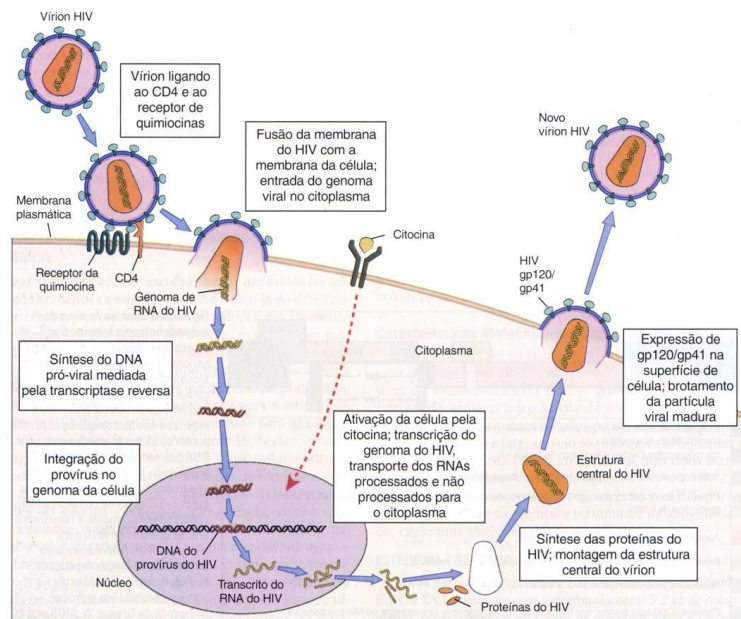
Essa integração da imunidade inata e adaptativa por células dendríticas e moléculas de imunoglobulina sugere que a associação sinérgica entre os efetores do sistema imune antígeno-específico e o inato certamente resulte na efetiva resposta de rejeição às neoplasias (Abbas *et al.*, 2005).

FIGURA 4 – Estrutura do HIV



Fonte: disponível em: [www.aids.gov.br/final/biblioteca\\_bol](http://www.aids.gov.br/final/biblioteca_bol), dezembro 2002 boletim.

FIGURA 5 – Ciclo Vital do HIV



As etapas sequenciais no ciclo vital do HIV, desde a infecção inicial de uma célula hospedeira até a replicação viral e a liberação de um novo vírion

Fonte: Abbas, Abul K. Imunologia Celular e Molecular, 2005

## 2.6 Testes de amplificação do genoma do vírus

Análise quantitativa direta da carga viral por meio de técnicas baseadas na amplificação de ácidos nucleicos, tais como a PCR quantitativa, amplificação de DNA em cadeia ramificada (*branched-chain* DNA ou bDNA) e amplificação sequencial de ácidos nucleicos (*nucleic acid sequence-based amplification* - NASBA). Sugere-se sua monitorização a cada 3-4 meses. Em caso de início ou mudança de terapia antirretroviral, alguns autores recomendam uma dosagem da carga viral com um a dois meses de tratamento para avaliação da resposta ao esquema. Os resultados devem ser interpretados da seguinte maneira:

- a) Carga viral abaixo de 10.000 cópias de RNA por mL: baixo risco de progressão ou de piora da doença.
- b) Carga viral entre 10.000 e 100.000 cópias de RNA por mL: risco moderado de progressão ou de piora da doença.
- c) Carga viral acima de 100.000 cópias de RNA por mL: alto risco de progressão ou de piora da doença ( GOTTSLIEB *et al.*, 2002).

### 2.6.1 Contagem de células CD4+ em sangue periférico

A contagem de células T CD4+ em sangue periférico tem implicações prognósticas na evolução da infecção pelo HIV, pois é a medida de imunocompetência celular; é mais útil no acompanhamento de pacientes infectados pelo HIV. De maneira didática, pode-se dividir a contagem de células T CD4+ em sangue periférico em quatro faixas:

- a) Mais de 500 células/mm<sup>3</sup>: estágio da infecção pelo HIV com baixo risco de doença.
- b) Entre 200 e 500 células/mm<sup>3</sup>: estágio caracterizado por surgimento de sinais e sintomas menores ou alterações constitucionais. Risco moderado de desenvolvimento de doenças oportunistas.
- c) Entre 50 e 200 células/mm<sup>3</sup>: estágio com alta probabilidade de surgimento de doenças oportunistas.

- d) Menos de 50 células/mm<sup>3</sup>: estágio com grave comprometimento de resposta imunitária. Alto risco de surgimento de doenças oportunistas. Alto risco de vida com baixa sobrevida (GREENBLATT.,2001; RACHID; SCHECHTER, 2001).

## 2.7 Coinfecção HPV e HIV

A coinfecção HIV e HPV é uma ocorrência entre mulheres sexualmente ativas, tendo os fatores de risco bastante similares, como múltiplos parceiros, idade precoce para primeira relação, prática sexual sem proteção, entre outros (LIMA et al., 2009).

Vários estudos indicam que o HPV é um vírus com mais prevalência em indivíduos HIV-positivo, por causa da imunossupressão caracterizada pela diminuição de CD4, podendo apresentar risco cinco a oito vezes mais alto de desenvolvimento de NIC nas mulheres infectadas pelo HIV (ELLERBROCK *et al.*, 2000). Estas estão sujeitas às lesões mais agressivas, com evolução mais rápida, de difícil tratamento e com alta taxa de recorrência (CLIFFORD *et al.*, 2006; ELLERBROCK *et al.*, 2000; LEVI *et al.*, 2004; STANLEY, 2001).

A prevalência da infecção pelo HPV em mulheres portadoras do HIV já foi documentada na literatura, com estimativas que variam de 56% (SUN *et al.*, 1997) a 98% (LEVI *et al.*, 2002).

A alta prevalência de lesões intraepiteliais escamosas associada ao HPV em mulheres infectadas pelo HIV sugere que a resposta imune do hospedeiro desempenha importante papel no desenvolvimento do câncer cervical (SUN *et al.*, 1997). O DNA do HPV pode ser detectado em amostras cervicais de mulheres infectadas pelo HIV com frequência duas a cinco vezes maiores quando comparadas às amostras cervicais de mulheres HIV-negativo (FIFE *et al.*, 2009; ROWHANI *et al.*, 2007). Mulheres infectadas pelo HIV, com ou sem anormalidades citológicas, são infectadas com múltiplos tipos de HPV, comparadas às mulheres HIV-negativo (TORNESELLO *et al.*, 2008).

Estudos mostram a possibilidade de o HIV influenciar diretamente na expressão do HPV a partir das interações moleculares entre os genes virais. A proteína reguladora do HIV-1, a (*gene tat-1*), pode atuar sobre a E2 do HPV 16, levando ao aumento da expressão do HPV em pacientes coinfectados. A *tat-1* interage com a região reguladora não codificadora do HPV16 e reverte repressão mediada pelo E2 (VERMON, 1999). Isso proporciona um mecanismo potencial para explicar a expressão genética intensificada do HPV em mulheres infectadas pelo HIV. A resposta imune específica no HPV exerce importante papel no controle das lesões intraepiteliais precursoras do câncer cervical. A imunossupressão observada em pacientes HIV-positivo parece levar à eliminação menos eficiente dos queratinócitos infectados pelo HPV e, conseqüentemente, à progressão da doença. A replicação aumentada do DNA do HPV pode ser uma consequência direta ou indireta dos efeitos do HIV, dos efeitos sinérgicos resultantes de infecções com múltiplos genótipos do HPV ou de coinfeções com outros agentes transmitidos sexualmente, como o herpes simples (WIELAND *et al.*, 2000).

Mulheres soropositivas têm alta prevalência e incidência tanto para infecção por HPV quanto NIC3, quando comparadas às mulheres soronegativas. A prevalência do HPV nas mulheres infectadas pelo HIV está fortemente associada à contagem de células CD4 e à carga viral. Mulheres soropositivas com a contagem de CD4 abaixo de 200 células por  $\mu$ L têm risco três vezes mais alto de infecção pelo HPV do que as soronegativas. Da mesma maneira, quando a carga viral é superior a 10.000 cópias por mililitro, o risco de infecção por HPV aumenta três vezes (LEITÃO; LANTE; CRACCILO, 2008),

Entretanto, a infecção crônica do HPV pode potencializar a patogênese do HIV, a partir da produção de citocinas inflamatórias (GAGE *et al.*, 2000).

Além de elevada incidência, a persistência da infecção é maior entre as pacientes HIV-positivo, quando comparadas com mulheres não infectadas pelo HIV (FRISCH; BIGGAR; GOEDERT, 2000; LEFEVRE *et al.*, 2004). Múltiplos genótipos do HPV em pacientes HIV-positivo também foram encontrados em vários estudos, notificando que os tipos oncogênicos 16 e 18 são os mais prevalentes (DAMES *et*

*al.*, 2009; ELLERBROCK *et al.*, 2000; HEARD *et al.*, 2000; WEISSENBORN *et al.*, 2003; FIRNHABER *et al.*, 2010).

## **2.8 Tratamento da lesão intraepitelial cervical**

O tratamento tem por objetivo reduzir ou eliminar as lesões causadas pela infecção. A escolha do tratamento depende de critérios que devem ser avaliados pelo examinador, como idade da paciente, paridade, desejo reprodutivo, risco de perda de seguimento, a gravidade, a extensão e localização das lesões, concomitância com outras doenças ou gestação.

No tratamento das lesões precursoras são utilizados tanto os métodos ablativos quanto os excisionais. Os métodos ablativos incluem a crioterapia, ablação a *Light amplification by stimulated emission of radiation* (LASER), a eletrofulguração e a cauterização química. Os métodos excisionais, que permitem avaliação anatomopatológica, são: a conização realizada com bisturi a frio, a conização eletrocirúrgica (conização por cirurgia de alta frequência) e a conização a laser (WRIGHT *et al.*, 2007).

Atualmente, a cirurgia de alta frequência (CAF) utilizando o eletrodo em alça vem sendo cada vez mais utilizada para a excisão de toda a zona de transformação. A conização por CAF apresenta resultados terapêuticos similares aos da conização por bisturi a frio e é um método rápido, mais econômico, que pode ser realizado ambulatorialmente e com menos complicações (FIGUEIREDO *et al.*, 2002). Possui taxa de sucesso de 98% (LINDEQUE, 2005).

A conização por bisturi a frio é o procedimento cirúrgico tradicional e também o método “padrão-ouro”, porém está associada à significativa morbidade, principalmente hemorragia e estenose cervical (WRIGHT *et al.*, 2007).

A NIC1 é considerada lesão precursora do câncer cervical, porém apresenta elevados índices de regressão espontânea. Em seguimento de dois anos aproximadamente 25% dos casos podem evoluir para NIC2 (SOLOMON *et al.*,

2002). A conduta recomendada seria o controle semestral com citologia e colposcopia e, se for possível, captura híbrida ou DNA-HPV anual, desde que a citologia seja lesão intraepitelial de baixo grau (LSIL), a colposcopia seja satisfatória e a biópsia confirme NIC1. Em acompanhamento por 24 meses, se as lesões não regredirem devem ser tratadas. Os tratamentos destrutivos locais ou excisionais são aceitáveis.

As neoplasias intraepitelial cervical de grau 2 e 3, histologicamente confirmadas, devem ser excisionais, retirando-se toda a região comprometida do colo uterino. As pacientes com diagnóstico de HSIL sem confirmação diagnóstica por ausência de alteração colposcópica também devem ser submetidas à conização (WRIGHT *et al.*, 2007).

As NICs 2 são bastante frequentes na vida reprodutiva e, na maioria das vezes, ocupam tão somente a porção externa e visível do colo, ao contrário das NICs 3, que com mais frequência adentram parcial ou totalmente o canal endocervical, nem sempre acessível à colposcopia (MOSCICKI *et al.*, 2006) .

As neoplasias de alto grau (NIC2 e NIC3) devem ser bem caracterizadas anatomopatologicamente, devido às suas características evolutivas; a possibilidade de progressão de NIC3 para carcinoma invasor é de 20% e no NIC2 não é superior a 5% (OSTOR, 1993). Em alguns casos podem-se ter tratamentos diferenciados para neoplasia de grau 2 e 3. Assim, para lesão de grau 2 em pacientes abaixo de 20 anos, é possível o acompanhamento citológico e colposcópico de seis em seis meses por dois anos, desde que a paciente seja assídua nas consultas. Nas pacientes acima de 20 anos ou HIV-positivo ou naquelas em que a lesão penetre o canal endocervical, a excisão da zona de transformação é o tratamento de escolha (MOSCICKI *et al.*, 2006).

A conização clássica é reservada para alguns casos especiais em regime hospitalar quando há suspeita de microinvasão ou de adenocarcinoma pelos métodos diagnósticos ou persistência de lesões grau 2 e 3 após CAF. O seguimento deve ser feito com retornos de seis em seis meses com citologia e

colposcopia por dois anos e, se for possível, o uso do teste DNA-HPV realizado seis meses após a CAF (KITCHENER et al.,2009).

## **2.9 Recidiva da neoplasia intraepitelial cervical**

O monitoramento da resposta ao tratamento do câncer cervical necessita ser melhorado. Torna-se fundamental desenvolver estratégias que sejam capazes de identificar com precisão as mulheres com risco de persistência e recidiva da doença. Pacientes com NIC apresentam taxa de recidiva em torno de 50%% no primeiro ano após término do tratamento; 85% das recidivas são detectadas com dois anos. Em cinco anos detectam-se 95% das recidivas (BORDURKA-BEVERS *et al.*, 2000).

Alguns fatores estão relacionados ao risco de recorrência das neoplasias após o tratamento por CAF: envolvimento das margens cirúrgicas, grau da lesão tratada, envolvimento de glândulas, idade da paciente, persistência ou não do HPV e presença ou não do HIV (KITCHENER et al.,2009)..

Após a conização, o comprometimento das margens cirúrgicas de ressecção por NIC ou carcinoma pode ocorrer em 10 a 45% das vezes. Essa variabilidade se deve à experiência do cirurgião e à não visualização da margem endocervical de ressecção, sendo esta última de importância para o seguimento da paciente (SALUM *et al.*, 1995).

O estado das margens cirúrgicas de ressecção, se livres ou comprometidas por lesão residual, deve ser acompanhado com citologia após seis meses. Porém, as margens cirúrgicas da conização, estando comprometidas nas pacientes com testes de detecção viral negativos, realizados após a cirurgia, não exibiu lesões residuais (JOHNSON *et al.*, 2003).

Lima *et al.* (2009) descreveram alto percentual de recidiva para margens comprometidas (RR2,04) e ocupação glandular (RR3,46). A ocorrência simultânea de ocupação glandular e margens comprometidas apresentou



recidivas mais frequentes e em menos tempo. A pesquisa do HPV passou a ser de fundamental importância para o acompanhamento das mulheres que, após tratamento por CAF de uma lesão de alto grau, estariam em risco para persistência ou recorrência das lesões (CHAO, 2004; KITCHENER, 2009; PARASKEVAIDIS *et al.*, 2004).

Após o tratamento da lesão de alto grau, a detecção viral, mesmo com citologia normal, indica falha de tratamento de forma precoce e acurada (CHAO, 2004; PARASKEVAIDIS *et al.*, 2004). E a ausência do HPV após a CAF elimina o risco de recorrência da doença (HERNARDI *et al.*, 2005).

A observação da existência ou não do HPV tem elevado valor preditivo negativo e alta sensibilidade, tanto como um teste de triagem ou como uma triagem de alterações citológicas leves. Em termos de acompanhamento, esse valor preditivo negativo é de extrema utilidade clínica (CUZIK *et al.* 2006) .

Isso significa que as mulheres que são HPV-negativo após o tratamento estão em risco muito baixo de ter doença residual ou desenvolver NIC recorrente dentro de 3-5 anos (KITCHENER *et al.*, 2009).

## **2.10 Seguimento das neoplasias intraepiteliais cervicais**

As diretrizes de seguimento do câncer cervical pelo Colégio Americano de Obstetras e Ginecologistas (ACOG), *American Cancer Society* (ACS) e Sociedade Americana de Colposcopia e Patologia Cervical (ASCCP) são: citologia a cada três anos para mulheres entre 21 e 29 anos. Para mulheres com idade entre 30 e 65 anos, deve-se realizar o teste Papanicolau e o DNA-HPV a cada cinco anos. Outra opção é o teste Papanicolau a cada três anos, exceto para mulheres com história de câncer do colo uterino, mulheres expostas intraútero a dietil-etilbestrol, imunossupressão ou mulheres infectadas pelo HIV (SASLOW *et al.*, 2004).

### **3 OBJETIVOS**

- a) Identificar a frequência de recidivas de neoplasia intraepitelial cervical após conização do colo uterino com cirurgia de alta frequência.
- b) Descrever os fatores que se associam à recidiva da neoplasia intraepitelial cervical.

## **4 PACIENTES E MÉTODOS**

### **4.1 Considerações éticas**

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte (SMSA-BH) (ANEXO B).

Todas as pacientes assinaram termo de consentimento informado, redigido obedecendo às recomendações da Resolução nº 196 de 10 de outubro de 1996 do Conselho Nacional de Saúde (APÊNDICE A). O convite para participação do estudo e a aplicação do consentimento foram feitos pelo médico pesquisador.

### **4.2 Desenho do estudo**

Trata-se de um estudo coorte retrospectivo realizado no Serviço Patologia do Colo do Posto de Atendimento Médico (PAM) Sagrada Família da Prefeitura de Belo Horizonte, em pacientes que foram submetidas à conização do colo por CAF. As pacientes foram encaminhadas para propedêutica do colo de acordo com os critérios do protocolo da Secretaria Municipal de Belo Horizonte (BELO HORIZONTE, 2009).

As pacientes foram convidadas a participar do estudo durante as consultas de seguimento ou atendendo à convocação para o retorno. Foram realizadas entrevista, coleta do teste de tipagem para HPV, citologia oncótica, colposcopia e biópsia dirigida. Quando necessário, procedeu-se a teste de tipagem para HIV, caso as pacientes não tivessem exame recente. Foram analisados os exames anteriores em prontuário, como citologia, colposcopia, biópsia e exame anatomopatológico da neoplasia cervical do colo uterino que resultou em CAF.

O evento de interesse foi a recidiva da lesão intraepitelial cervical em qualquer grau e seus fatores de risco. Definiu-se como recidiva de lesão o aparecimento ou a persistência de lesão intraepitelial cervical (NIC) diagnosticada por alteração citológica e/ou colposcópica com confirmação por biópsia. A histologia é considerada o padrão-ouro para confirmação diagnóstica.

### **4.3 Pacientes**

A amostra deste estudo foi constituída de 426 pacientes, sendo excluídas 132 por não apresentarem informação sobre o tempo de acompanhamento. A análise foi realizada com 287 pacientes.

Todas as pacientes foram submetidas à CAF no período de agosto 1999 a novembro 2011, por apresentarem algum grau de lesão intraepitelial cervical. O período médio de acompanhamento das pacientes foi em torno de dois anos. Algumas contribuíram com tempos diferentes de seguimento.

As pacientes infectadas pelo HIV, em sua maioria, são oriundas do Setor de Ginecologia do Centro de Treinamento e Referências de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital das Clínicas (CTR-DIP Orestes Diniz).

### **4.4 Métodos**

#### **4.4.1 Entrevista**

As pacientes selecionadas foram todas as pacientes submetidas à CAF e que fazem seu acompanhamento no PAM Sagrada Família da Prefeitura de Belo Horizonte.

Elas foram entrevistadas em local apropriado, que permitia privacidade. As entrevistas foram realizadas pessoalmente, utilizando-se questionário estruturado que incluía informações sobre as características sociodemográficas, hábitos,

história sexual e reprodutiva e pesquisa no prontuário de ocorrência ou não de lesões cervicais anteriores e procedimentos cirúrgicos para tratamento (APÊNDICE B). As mesmas foram solicitadas a assinar o Termo de Consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE A).

Os dados obtidos foram inseridos no *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) 20.0, no qual foram analisados.

- a) Critérios de inclusão: pacientes portadoras de NIC submetidas à conização do colo que concordarem em participar do estudo, e que assinarem o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE).
- b) Critérios de exclusão: foram excluídas pacientes cujo resultado histopatológico da conização não identificou NIC; as pacientes grávidas, hysterectomizadas ou com incapacidade de compreensão do estudo; e as que não foram encontradas ou que não concordaram em assinar o termo de consentimento livre e esclarecido.

Após a entrevista foram realizados anamnese, exame pélvico de rotina, coleta para pesquisa do DNA-HPV pela PCR, coleta de material para citologia oncótica, colposcopia e biópsia dirigida, se fosse o caso.

#### **4.4.2 Detecção do HPV e seus genótipos**

As amostras foram coletadas por meio de raspado cuidadoso na mucosa do colo uterino, com o auxílio de uma espátula de Ayre. O material obtido foi colocado em um tubo vacutimer de 10 cm, contendo aproximadamente 2 mL de solução salina fisiológica (cloreto de sódio - NaCl 0,9%). Os tubos foram rotulados com os dados da paciente e entregues no Laboratório de Genética e Biologia Molecular do Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico (NUPAD) da Faculdade de Medicina da UFMG, para detecção molecular do HPV pela PCR e/ou sequenciamento.

#### **4.4.3 Citologia oncótica cervical**

A amostra de células esfoliativas da cérvix foram obtidas com escova cervical (*Citobrush*) e espátulas de Ayre. As lâminas foram fixadas com álcool absoluto e coradas pelo método de Papanicolau. Os resultados citológicos foram classificados com base no Sistema de Bethesda (SOLOMON *et al.*, 2002).

#### **4.4.4 Colposcopia**

Todas as pacientes foram submetidas à colposcopia. O colposcópico empregado foi da marca Vasconcelos, modelo padrão com cinco aumentos. Durante a colposcopia é possível detectar lesões sugestivas de HPV e realizar biópsia da lesão para elucidar o diagnóstico. Na realização da colposcopia utiliza-se ácido acético e solução de Lugol para identificar as áreas a serem biopsiadas. O ácido acético, além dissolver o muco cervical melhorando a visibilidade, coagula as proteínas citoplasmáticas e nucleares das células escamosas cervicais de maneira transitória. Com isso, as áreas afetadas pelo HPV adquirem aspecto branco opaco quando comparado ao epitélio rosa pálido normal (ARBYN *et al.*, 2004; CASADO, 2011).

A solução de Lugol é composta de iodo e serve para identificar o glicogênio produzido pelas células maduras da camada intermediária do epitélio escamoso. As células infectadas pelo HPV não produzem glicogênio, portanto, não se coram com a solução de Lugol (PALO; DEXEUS, 2002).

A classificação colposcópica utilizada foi a nomenclatura proposta pelo Comitê da Federação Internacional de Patologia Cervical e Colposcopia em Roma 1990 (ANEXO C).

#### **4.4.5 Biópsia do colo uterino**

A biópsia foi dirigida pela colposcopia utilizando-se a pinça Gaylor-Medina.

O material biopsiado foi fixado em formol a 10% e enviado para o Serviço de Anatomia Patológica do PAM Sagrada Família.

A classificação histopatológica foi proposta por Richart em 1973, denominando-as de neoplasia intraepitelial cervical (NIC) e dividindo-as em três grupos:

NIC 1: lesões correspondentes à displasia leve

Acometimento de 1/3 da espessura do tecido normal

NIC2: lesões correspondentes à displasia moderada

Acometimento de 2/3 da espessura do tecido normal.

NIC3: lesões correspondentes à displasia acentuada ou carcinoma *in situ*.

Acometimento do tecido cervical em toda a sua espessura sem comprometimento da membrana basal celular.

#### **4.4.6 Procedimento cirúrgico**

As pacientes foram submetidas ao tratamento da lesão intraepitelial cervical utilizando-se a CAF. O aparelho utilizado foi o modelo Wavetronic 2000.

Os procedimentos foram realizados no ambulatório de Patologia do Trato Genital Inferior pelo mesmo médico assistente.

Com a paciente em posição ginecológica, o colo uterino foi identificado com o uso de espéculo vaginal descartável. Um segundo espéculo vaginal foi colocado em posição transversa para proteção das paredes vaginais. Foi realizada a anestesia local cervical com 2 mL de lidocaína a 1% às duas, quatro, sete e 11 horas do colo uterino. O sistema de eletrocautério foi utilizado na função "CUT" na potência seis (variação da potência entre zero e 10). A alça de metal para excisão utilizada era acessório do aparelho Wavetronic 2000 e foi escolhida conforme o tamanho da lesão a ser excisada.

Primeiro, foi excisada a zona de transformação com margem de 2 mm da lesão e, a seguir, o canal cervical. Caso não houvesse lesão visível na zona de transformação cervical da paciente, apenas o canal seria retirado. Após a excisão

da peça cirúrgica, o eletrocautério foi alterado para a função “BLEND”, na potência seis para a realização da hemostasia do leito cirúrgico (MARTIN-HIRCH *et al.*, 2010; PRENDIVILLE; CULLIMORE; NORMAN, 1989).

A seguir foi colocado tampão vaginal e a paciente foi orientada a retirá-lo em casa após 12 horas.

Após o procedimento cirúrgico, as pacientes retornaram ao ambulatório de Patologia do Colo no intervalo de sete a 10 dias para reavaliação pós-cirúrgica precoce e depois de 30 dias para avaliação tardia. O seguimento posterior foi realizado aproximadamente a cada seis meses.

#### **4.4.7 Reação em cadeia da polimerase (PCR)**

As amostras entregues ao NUPAD foram conservadas em geladeira a 4°C até seu processamento (CARVALHO *et al.*, 2010). O DNA das amostras foi extraído segundo o método descrito por Walsh *et al.* (1991).

Procedeu-se à homogeneização do tubo da amostra em vórtex e transferiram-se todas as amostras para tubos de microcentrífuga de 1,5 mL (*Eppendorf*) para que se processasse a centrifugação por um minuto, a 14.000 rotações por minuto (rpm), para a formação de depósito no fundo do tubo (*pellet*). O sobrenadante foi desprezado e ao *pellet* foram adicionados 200 µL de resina quelante (*Chelex-100* a 20%). A mistura foi colocada em banho seco a 100°C por 20 minutos e guardada em geladeira até a preparação do *mix*, para o qual foram empregados os seguintes reagentes:

##### **A) Mix para PCR - Sistema MY09/11**

Tampão 10X (100 mM Tris-HCl [pH 8,8], 500 mM KCl)	5 µL
MgCl <sub>2</sub>	3 µL
dNTPs [200 µM]	1 µL
Iniciador A [25 pmol/µL]	2,5 µL



Iniciador B [25 pmol/ $\mu$ L]	2,5 $\mu$ L
Taq DNA polimerase (2,5 UI)	0,25 $\mu$ L
ddH <sub>2</sub> O	25,75 $\mu$ L
Total	40 $\mu$ L

### **B) *Mix* para PCR - Sistema GP5+/GP6+**

Tampão 10X (100 mM Tris-HCl [pH 8,8], 500 mM KCl)	5 $\mu$ L
MgCl <sub>2</sub>	3 $\mu$ L
dNTPs [200 $\mu$ M]	1 $\mu$ L
Iniciador A [10 pmol/ $\mu$ L]	1 $\mu$ L
Iniciador B [10 pmol/ $\mu$ L]	1 $\mu$ L
Taq DNA polimerase (2,5 UI)	0,25 $\mu$ L
ddH <sub>2</sub> O	37,75 $\mu$ L
Total	49 $\mu$ L

### **C) *Mix* para PCR tipo-específica**

Tampão 10X (100 mM Tris-HCl [pH 8,8], 500 mM KCl)	5 $\mu$ L
MgCl <sub>2</sub>	3 $\mu$ L
dNTPs [10 mM]	1 $\mu$ L
Iniciador A [10 pmol/ $\mu$ L]	2,5 $\mu$ L
Iniciador B [10 pmol/ $\mu$ L]	2,5 $\mu$ L
Taq DNA polimerase (2,5 UI)	0,25 $\mu$ L
ddH <sub>2</sub> O	30,75 $\mu$ L
Total	45 $\mu$ L

No *mix* da PCR com os *primers* genéricos para o HPV (geral) foram acrescentados 10  $\mu$ L do DNA extraído; e no *mix* da *Nested* PCR foi adicionado 1  $\mu$ L do produto da PCR realizada com os *primers* genéricos; no *mix* da PCR com os *primers* tipo-específicos foram acrescentados 5  $\mu$ L do DNA extraído, completando o volume final de 50  $\mu$ L. Após a adição do DNA, as amostras foram levadas ao termociclador por duas horas e 40 minutos, onde foi acionado o Programa de Amplificação composto das três etapas seguintes (cada reação de

PCR possui um programa de amplificação específico no qual o tempo e as temperaturas são variáveis):

- a) Desnaturação: o DNA de dupla-fita é separado em fitas únicas mediante brusca elevação da temperatura para 95°C.
- b) Anelamento: ocorre entre a cadeia original do DNA (agora já desnaturado) e a sequência de nucleotídeos dos *primers*, que se ligarão à região inicial gênica a ser amplificada.
- c) Extensão: a extensão é desempenhada pela enzima *Taq* DNA polimerase, de modo que ambas as fitas de DNA sejam convertidas em quatro fitas. A PCR é concluída, geralmente, após 40 ciclos de reação.

Depois de amplificados no termociclador, os produtos da PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose 2% corado com brometo de etídio, a partir da comparação visual com os fragmentos de DNA constituintes de um padrão de peso molecular conhecido, sendo adotados dois procedimentos de PCR. Primeiramente, foi feito o *mix* de detecção para o diagnóstico qualitativo. Quando o resultado foi positivo, procedeu-se à tipagem. A reação de detecção foi realizada a partir de PCR com um par de *primers* genéricos, seguida da reação de *Nested* PCR com um par de *primers* interno.

#### **D) Amplificação do gene da globina e detecção do HPV**

O DNA de todas as amostras foi submetido primeiramente à amplificação para o gene da globina, que é utilizado para avaliar a qualidade do DNA extraído. As amostras que não obtiveram amplificação para o gene da globina foram excluídas.

#### **E) Programas usados para amplificação**

1. Programa HPV A (usado para amplificar o gene da globina e para o sistema MY09/11):

1- 94°C.....1'

- 2- 90°C.....30''
- 3- 54°C.....2'
- 4- 72°C .....1'
- 5- repetir o passo 2 por 30 vezes
- 6-72°C .....10'
- 7- 4°C .....infinito.

2. Programa HPV *nested* (usado para o sistema GP5+/GP6+):

- 1- 94°C.....4'
- 2- 94°C.....30''
- 3- 45°C.....1'
- 4- 72°C .....1'30''
- 5- repetir o passo 2 por 40 vezes
- 6- 72°C .....10'
- 8- 4°C .....infinito.

## F) Eletroforese em gel de agarose

Depois de amplificados no termociclador, os produtos da PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose 2%, corados com brometo de etídio. Aos tubos foram adicionados 5 µL de corante azul de bromofenol (*Sigma*). Em cada canaleta do gel foram aplicados 20 µL do produto amplificado, padrão de peso molecular e controles (positivo e negativo) da reação de PCR. O resultado foi visualizado sob transluminador de luz UV e analisado a partir da comparação visual dos fragmentos de DNA obtidos com o padrão de peso molecular (500 pb- *Invitrogen*). Todos os géis foram fotografados pelo sistema de captura de imagem digital, gravados eletronicamente e impressos para arquivo.

Para evitar a contaminação do DNA estranho, foram utilizadas salas independentes para cada uma das seguintes etapas: extração do DNA, preparação do *mix*, procedimentos da PCR e eletroforese.

### **G) Genotipagem por sequenciamento**

Para sequenciamento, foram utilizados 30 uL do produto da *nested* PCR (restante do produto da PCR que foi anteriormente utilizado na detecção do HPV). O produto foi purificado seguindo-se um protocolo de precipitação por purificação alcoólica adaptado de *Automated DNA Sequencing – Chemistry Guide (Applied Biosystems)* desenvolvido no laboratório NUPAD e sequenciado usando-se o *kit BigDye Terminator versão 3.1 (Applied Biosystems)* e o iniciador GP6+ (4 pmol/ $\mu$ L), segundo instruções do fabricante. Após a reação de sequenciamento, foi realizada nova precipitação por purificação alcoólica. Adicionaram-se 12 uL de formamida Hi-Di (*Applied Biosystems*) em cada tubo; o volume total foi aplicado em placa e colocado no sequenciador automático (*Applied Biosystems*, modelo ABI Prism 3100-*Avant Genetic Analyser*).

### **H) Análise das sequências**

A escolha da região a ser analisada foi baseada nos polimorfismos encontrados na região amplificada (L1), mediante alinhamento da sequência nucleotídica dos principais tipos virais identificados até o momento, cujas sequências estão disponíveis no *site ICTVdB* (<http://www.ictvdb.rothamsted.ac.uk/>).

As sequências obtidas foram analisadas por meio do *software sequencing analysis*. Cada sequência foi editada, sendo selecionada a região de interesse, correspondente a 30 bases de nucleotídeos (LEE *et al.*, 2007), por meio do programa de alinhamento *Bioedit*. A sequência de interesse foi alinhada com sequências de referência disponíveis e comparadas por consulta ao *GeneBank*, banco de dados do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>), possibilitando a identificação do genótipo viral. Todos os dados foram gravados eletronicamente.

## 4.5 Análise estatística

Todas as características avaliadas foram descritas. Os resultados foram alcançados utilizando-se frequências e porcentagens para as características categóricas e a obtenção de medidas de tendência central (média e mediana) e medidas de dispersão (desvio-padrão) para as quantitativas.

### 4.5.1 Análise univariada e multivariada

Para as características qualitativas, a análise univariada foi realizada pelo método de Kaplan-Meier (KAPLAN; MEIER, 1958) associado aos resultados do teste *log-rank*, cujo objetivo é avaliar se as curvas de sobrevivência diferem. Para as características quantitativas, foram ajustados modelos de Cox com apenas uma variável.

A análise multivariada foi feita a partir do ajuste do modelo de Cox. Participaram do processo de seleção de covariáveis para ajuste do modelo final as características que, na análise univariada, apresentaram valores-p inferiores a 0,25. Elas foram inseridas e retiradas do modelo até que restassem apenas aquelas com significância estatística (valor- $p \leq 0,10$ ). A adequação do modelo foi avaliada a partir da análise dos testes de proporcionalidade dos riscos (COLOSIMO; GIOLO, 2006).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Descrição do estudo

O nome e as características da variável resposta são apresentados no QUADRO 2.

QUADRO 2 - Nome e forma da variável resposta

<b>Nome</b>	<b>Forma</b>	<b>Observação</b>	<b>Forma no banco</b>
Recidiva da NIC	Qualitativa	0, não se recidivou; 1, recidivou-se	recidivou

As covariáveis são apresentadas no QUADRO 2. Essas características foram avaliadas em relação às características apresentadas no QUADRO 2.

QUADRO 3 - Covariáveis de interesse

Nome	Forma	Observação	Forma no banco
Idade	Quantitativa/ Qualitativa	0, se > 35; 1, se ≤ 35	idade
Início da vida sexual	Quantitativa/ Qualitativa	0, se ≤ 17; 1, se > 17	Início da atividade sexual
Número de parceiros	Quantitativa/ Qualitativa	0, se < 3; 1, se ≥ 3.	nparceiros
PCR	Qualitativa	0, se negativo, 1, se positivo; 2, se inibidora; 9 sem informação	PCR
HPV	Qualitativa	0, se baixo; 1, se alto; 2 se	HPV
HIV	Qualitativa	0, se negativo; 1, se positivo.	HIV
Tabagismo	Qualitativa	0, se tabagista; 1, se não	Tabagismo
Paridade	Quantitativa/ Qualitativa	0, se 0 a 2 partos; 1 se 3 partos ou mais.	Paridade
Citologia	Qualitativa	0, se normal; 1 se alterada.	Citologia
Anatomia Patológica da CAF	Qualitativa	0 se cervicite, NIC1; se NIC2++; 9 missing.	AP CAF
Margem ectocervical	Qualitativa	0, se livre; 1 se comprometida; 9 se não avaliada.	Margemcaf
HPV (à anatomia patológica)	Qualitativa	0, se ausente; 1 se presente; 9 sem informação.	HPVcaf
Comprometimento glandular	Qualitativa	0, ausência; 1 presença; 9 sem informação.	Ocupgland
Anatomia patológica da recidiva	Qualitativa	0 se cervicite ou NIC1; 1 se NIC2++; 9 missing.	APCAF rec
HPV na recidiva	Qualitativa	0, se negativo; 1, se positivo.	HPVCAF rec
Mudança de Tempo	Qualitativa Quantitativa	1, se sim; 2, se não; 9, se Para os casos com recidiva: (recidivada – datacaf) Para os casos sem recidiva: (datapcr – datacaf)	Mudparc Recidivada, datacaf e datapcr

PCR: reação em cadeia da polimerase; HPV: papilomavírus humano; HIV: vírus da imunodeficiência humana; CAF: cirurgia de alta freqüência; Anatomia Patológica; AP

As análises foram realizadas nos *softwares* R versão 3.0.3 e Epi Info versão 6.04, ambos de domínio público. Foi considerado nível de significância: 5%.

## 5.2 Etapas das análises estatísticas

### 5.2.1 Análise preliminar

Todas as características avaliadas foram descritas. Os resultados foram obtidos utilizando-se frequências e porcentagens para as características categóricas e da obtenção de medidas de tendência central (média e mediana) e medidas de dispersão (desvio-padrão) para as quantitativas.

### 5.2.2 Análise univariada e multivariada

Para as características qualitativas, foi realizada análise univariada por meio de Kaplan-Meier (KAPLAN; MEIER, 1958) associado aos resultados do teste *log-rank*, cujo objetivo é avaliar se as curvas de sobrevivência diferem. Para as características quantitativas, foram ajustados modelos de Cox com apenas uma variável.

A análise multivariada foi realizada a partir do ajuste do modelo de Cox. Participaram do processo de seleção de covariáveis para ajuste do modelo final as características que, na análise univariada, apresentaram valores-p inferiores a 0,25. Elas foram inseridas e retiradas do modelo até que restassem apenas aquelas com significância estatística (valor-p  $\leq 0,05$ ). A adequação do modelo foi avaliada a partir da análise dos testes de proporcionalidade dos riscos (COLOSIMO; GIOLO, 2006).

As características idade, início da atividade sexual, número de parceiros, PCR, anatomia patológica da CAF, margem ectocervical, comprometimento glandular, HPV e HIV que tiveram valor-p na análise univariada inferior a 0,25 tiveram prioridade na análise multivariada, devido à associação clínica.

Foram avaliadas as informações de 426 pacientes avaliadas no período de estudo: 1998 a 2011. As informações de 132 pacientes foram excluídas por não



abordarem o tempo de acompanhamento. Assim, restaram 287 pacientes na análise.

#### 5.2.2.1 Análise descritiva

A TAB. 1 apresenta a descrição da população em estudo segundo a idade, início da vida sexual, número de parceiros, mudança de parceiros, paridade, recidiva, tabagismo, HPV e HIV, das 287 pacientes avaliados. Observa-se que 146 (50,9%) pacientes tinham idade inferior a 35 anos e 141 (49,1%) 35 anos ou mais. O início da atividade sexual com 17 anos ou menos ocorreu em 156 (54,4%) pacientes, enquanto 131 (45,6%) tinham mais de 17 anos. Relataram ter tido três ou mais parceiros sexuais durante toda sua vida 93 (71,5%) pacientes, enquanto 77 (28,5%) tiveram menos de três parceiros. Não houve informações para 17 pacientes. Mudaram de parceiros 39 (15,9%) pacientes e 207 (84,1%) não. Não se conseguiram informações para 41 pacientes. As pacientes que tiveram 2 partos foram em número de 178(62,2%) e as pacientes com 3 partos ou mais foram 108 (37,8%). O número de tabagistas era de 191 (66,5%) e 96 (33,5%) não fumavam. Pacientes portadoras do vírus HPV de baixo risco foram 34(12,9%),de HPV de alto risco foram 85 (32,2%).Apresentaram o teste DNA-HPV negativo 145 (54,9%) pacientes e não foram avaliadas 23 pacientes. As pacientes HIV-positivo eram 63 (22,0%) e o grupo HIV-negativo, 223 (78,0%). Recidivaram da NIC 65 (22,6%) das pacientes e não apresentaram recidiva 222 (77,4%).

TABELA 1 - Características demográficas, comportamentais e clínicas das 287 pacientes do estudo

Características	Frequência	
	N	%
Idade (anos)		
< 35 anos	146	50,9
≥ 35 anos	141	49,1
Início da vida sexual		
≤ 17 anos	156	54,4
> 17 anos	131	45,6
Número de parceiros		
≥ 3 parceiros	193	71,5
< 3 parceiros	77	28,5
Sem informação	17	-
Mudança de parceiros		
Sim	39	15,9
Não	207	84,1
Sem informação	41	-
Paridade		
< 3 partos	178	62,2
≥ 3 partos	108	37,8
Sem informação	1	-
Recidiva da NIC		
Recidivou	65	22,6
Não recidivou	222	77,4
Tabagismo		
Sim	191	66,5
Não	96	33,5
HPV		
Baixo risco	34	12,9
Alto risco	85	32,2
Negativo	145	54,9
Não avaliado	23	-
HIV		
Negativo	223	78,0
Positivo	63	22,0

A TAB. 2 apresenta a descrição da população em estudo, da idade, com base nas variáveis quantitativas (idade, início da vida sexual e paridade). Observa-se que a idade foi, em média, de 36,6 anos (desvio-padrão de 11,1 e mediana de 34). O início da vida sexual foi, em média, com 17,9 anos (desvio-padrão de 3,8 e mediana de 17). Nota-se também que o número de partos foi, em média, de dois partos (desvio-padrão 2 e mediana 2).

TABELA 2 - Característica da população do estudo, forma quantitativa

<b>Características</b>	<b>n</b>	<b>n*</b>	<b>Média</b>	<b>DP</b>	<b>Mínimo</b>	<b>1ºQ</b>	<b>Mediana</b>	<b>3ºQ</b>	<b>Máximo</b>
Idade (anos)	287	0	36,6	11,1	16,0	29,0	34,0	43,0	79,0
Início da vida Sexual	287	0	17,9	3,8	11,0	15,0	17,0	19,0	42,0
Paridade	286	1	2,3	2,0	0,0	1,0	2,0	3,0	12,0

n: nº de observações; n\*: sem informação; DP: desvio-padrão; 1º Q: 1º Quartil; 3º Q: 3º Quartil.

Na TAB. 3 descrevem-se os resultados da PCR e da citologia. Observa-se que 122 (46%) pacientes tinham PCR positiva para o DNA-HPV, em 99 (37,4%) ela era negativa, em 44 (16,6%) inibidora e não houve informação para 22 pacientes. Nota-se que 240 (83,6%) pacientes apresentaram citologia alterada e em 47 (16,4%) a citologia era normal

TABELA 3 - Descrição dos resultados da PCR e da citologia

<b>Características</b>	<b>Frequência</b>	
	<b>n</b>	<b>%</b>
PCR		
Positivo	122	46,0
Negativo	99	37,4
Inibidora	44	16,6
Sem informação	22	-
Citologia		
Alterada	240	83,6
Normal	47	16,4

A TAB. 4 mostra a frequência dos achados histopatológicos da peça cirúrgica e avaliação das margens. O resultado da anatomia patológica da CAF mostrou que 233 (81,2%) pacientes foram diagnosticadas com NIC2+ e 54 (18,8%) tinham cervicite ou NIC1. O resultado da anatomia patológica das 65 pacientes que recidivaram foi de NIC2+ para 34 (54%) pacientes e cervicite ou NIC1 para 29 (46%) e não houve informação para dois pacientes. A presença de HPV (à anatomia patológica) da CAF com resultado positivo foi de 268 (99,3%) pacientes e com resultado negativo, dois (0,7%). Não se obtiveram informações para 17 pacientes. Na recidiva, o resultado positivo para HPV foi de 59 (100%) pacientes, não havendo informação para seis pacientes. As margens ectocervicais estavam comprometidas em 70 (25,1%) pacientes e em 209 (74,9%) estavam livres, sem

informação para oito pacientes. O comprometimento glandular estava presente em 84 (30,9%); e 188 (69,1%) não apresentaram comprometimento glandular. Não houve informação para 15 pacientes.

TABELA 4 - Frequência dos achados histopatológicos da peça cirúrgica e avaliação das margens cirúrgicas

Características	Frequência	
	n	%
Anatomia patológica da CAF		
NIC2+	233	81,2
Cervicite NIC1	54	18,8
Anatomia patológica da recidiva		
NIC2+	34	54,0
Normal, NIC1	29	46,0
Não se aplica	222	-
Sem informação	2	-
HPV (na anatomia patológica)		
Presente	268	99,3
Ausente	2	0,7
Sem informação	17	-
HPV na recidiva (na AP)		
Ausente	0	0,0
Presente	59	100,0
Não se aplica	222	-
Sem informação	6	-
Margem ectocervical		
Comprometida	70	25,1
Livre	209	74,9
Sem informação	8	-
Comprometimento glandular		
Presença	84	30,9
Ausência	188	69,1
Sem informação	15	-

A descrição do tempo de acompanhamento é feita na TAB. 5. O tempo foi, em média, de 25,1 meses (desvio-padrão de 21,5 e mediana de 18,2), com tempo mínimo de zero e máximo de 129,2 meses.

TABELA 5 - Descrição do tempo de acompanhamento (meses)

<b>Característica</b>	<b>n</b>	<b>Média</b>	<b>DP</b>	<b>Mínimo</b>	<b>1ºQ</b>	<b>Mediana</b>	<b>3ºQ</b>	<b>Máximo</b>
Tempo de acompanhamento (meses)	287	25,1	21,5	0,0	8,4	18,2	32,1	129,2

n: nº de observações; DP: desvio-padrão; 1º Q: 1º Quartil; 3º Q: 3º Quartil.

#### 5.2.2.2 Análise univariada e multivariada

A TAB. 6 aborda a análise descritiva da variável resposta recidiva e o teste de *log-rank*. A fim de comparar se havia diferença entre as funções de sobrevivência de algumas características do estudo, foi realizado o teste de *log-rank*. Segundo Colosimo e Giolo (2006), esse é particularmente apropriado quando a razão das funções taxas de falha dos grupos a serem comparados é aproximadamente constante.

TABELA 6 - Descrição da variável resposta (recidiva) em relação às características sociodemográficas e clínicas e teste de log-rank

Variável	Recidiva		Total n	Teste log-rank
	Não n (%)	Sim		Valor-p
Idade				
< 35 anos	113(77,3)	33(22,6)	146	0,267
≥ 35 anos	109(77,2)	32(22,6)	141	
Número de parceiros				
< 3	67(87,0)	10(13,0)	77	0,064
≥ 3	151(78,2)	42(21,8)	193	
Mudança de parceiros				
Sim	28(71,8)	11(28,2)	39	<b>0,025</b>
Não	182(87,9)	25(12,1)	207	
Tabagismo				
Não	153(79,0)	38(21,0)	191	0,053
Sim	69(71,9)	27(28,1)	96	
HPV				
Baixo	26(76,4)	8(23,4)	34	0,191 <sup>1</sup>
Alto	67(78,8)	18(21,8)	85	
Negativo	128(88,3)	17(11,7)	145	
PCR				
Negativo	85(85,8)	14(14,2)	99	0,084 <sup>1</sup>
Positivo	95(77,9)	27(22,1)	122	
Inibidor	42(95,5)	2(4,5)	44	
Citologia				
Normal	28(59,5)	19(40,5)	47	<b>0,002</b>
Alterada	194(80,8)	46(19,8)	240	
Margem ectocervical				
Livre	172(82,2)	37(17,8)	209	<b>&lt;0,001</b>
Comprometida	44(62,8)	26(37,8)	70	
Comprometimento glandular				
Ausência	155(82,4)	33(17,2)	188	<b>&lt;0,001</b>
Presença	53(63,0)	31(37,0)	84	
HPV (anatomia patológica)				
Ausente	2(100,0)	0(100,0)	2	0,367
Presente	205(76,5)	63(23,5)	268	
HIV				
Negativo	194(86,6)	30(13,4)	224	<b>&lt;0,001</b>
Positivo	28(44,5)	35(55,5)	63	

<sup>1</sup> Teste de Wilcoxon.

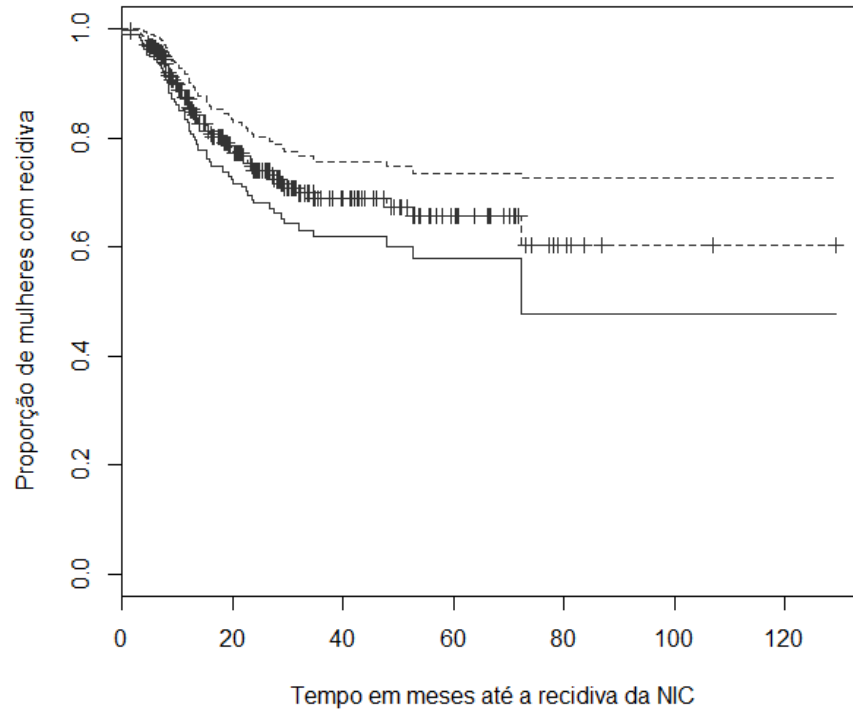
No que diz respeito à idade, os dois grupos foram muito semelhantes, não tendo apresentado diferenças significantes na recidiva de lesões, comparando-se pacientes com idade menor de 35 anos e igual ou maior de 35 anos. Outras variáveis que também não exibiram diferenças significantes destacaram-se: número de parceiros sexuais ( $p=0,064$ ); tabagismo ( $p=0,053$ ); DNA-HPV ( $p=0,084$ ); tipo viral do HPV ( $p=0,191$ ); e HPV no resultado da anatomia patológica ( $p=0,367$ ). Entre as variáveis com diferenças significantes ressaltaram-se: mudança de parceiro ( $p=0,025$ ); citologia ( $p=0,002$ ); margem ectocervical ( $p<0,001$ ); comprometimento glandular ( $p<0,001$ ); e *status* do HIV ( $p<0,001$ ).

#### 5.2.2.3 Análise de recidiva de doença cervical pré-invasiva ao longo do tempo

A probabilidade de recidiva de NIC após conização ao longo dos meses de seguimento foi estimada pela análise de sobrevivência pelo método de Kaplan-Meier. A curva do tempo de acompanhamento até a recidiva é apresentada no GRÁF. 1. A linha pontilhada no centro indica a curva, as duas linhas acima e abaixo são os respectivos limites do intervalo de 95% de confiança e os traços perpendiculares à linha pontilhada são as censuras (pacientes sem recidiva no tempo acompanhado).

Observa-se que 20% dos pacientes não tiveram recidiva até, aproximadamente, 16 meses.

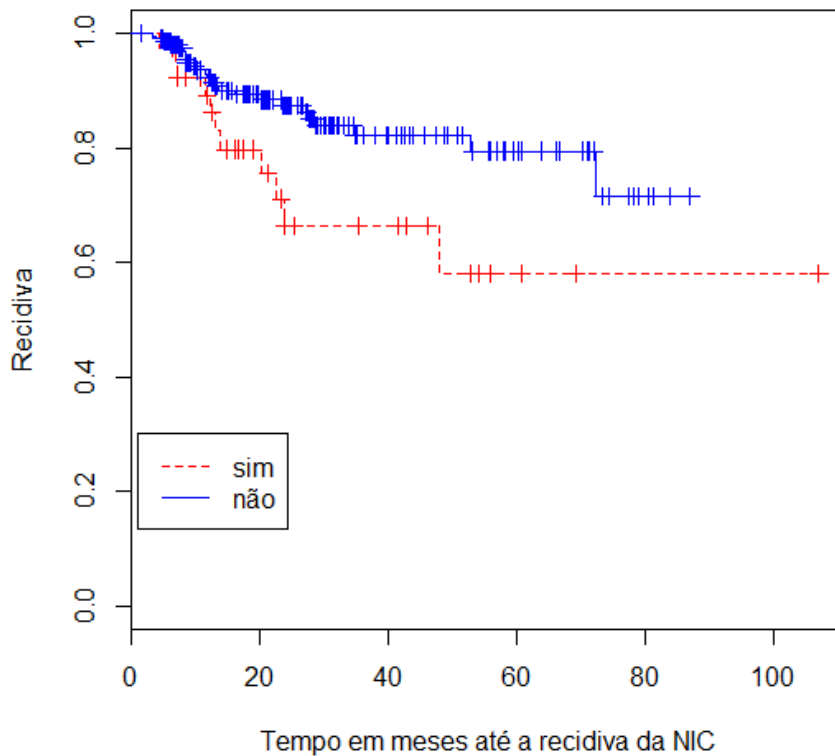
GRÁFICO 1 – Curva representativa do tempo até a recidiva da NIC



O GRÁF. 2 demonstra a curva de sobrevivência para a recidiva de NIC nas pacientes que tiveram mudança de parceiros, podendo-se constatar que as curvas se cruzam apenas no início e depois possuem comportamento independente. Tendo valor  $p=0,025$ , foi selecionada para o modelo de Cox. As pacientes que tiveram mudança de parceiros apresentaram maior taxa de recidiva

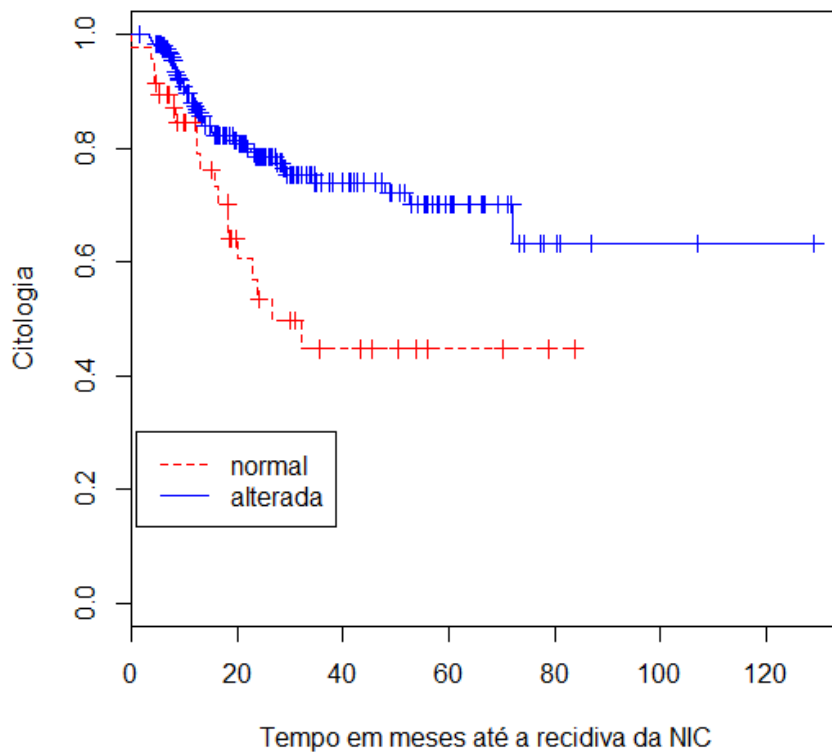


GRÁFICO 2 - Curva representativa do tempo até a recidiva estimada para a covariável mudança de parceiros (p=0,025)



No GRÁF. 3 representa-se o resultado de citologia normal e alterada, tendo resultado estatisticamente significativo, com valor  $p=0,002$ . As pacientes com citologia normal tiveram maior número de recidivas em torno de 20 meses. Os grupos, entretanto, não são homogêneos. Um grupo de 47 pacientes com citologia normal foi diagnosticado com NIC, por meio da biópsia dirigida pela colposcopia, e foi submetido à conização. Apresentaram citologia alterada 240 pacientes.

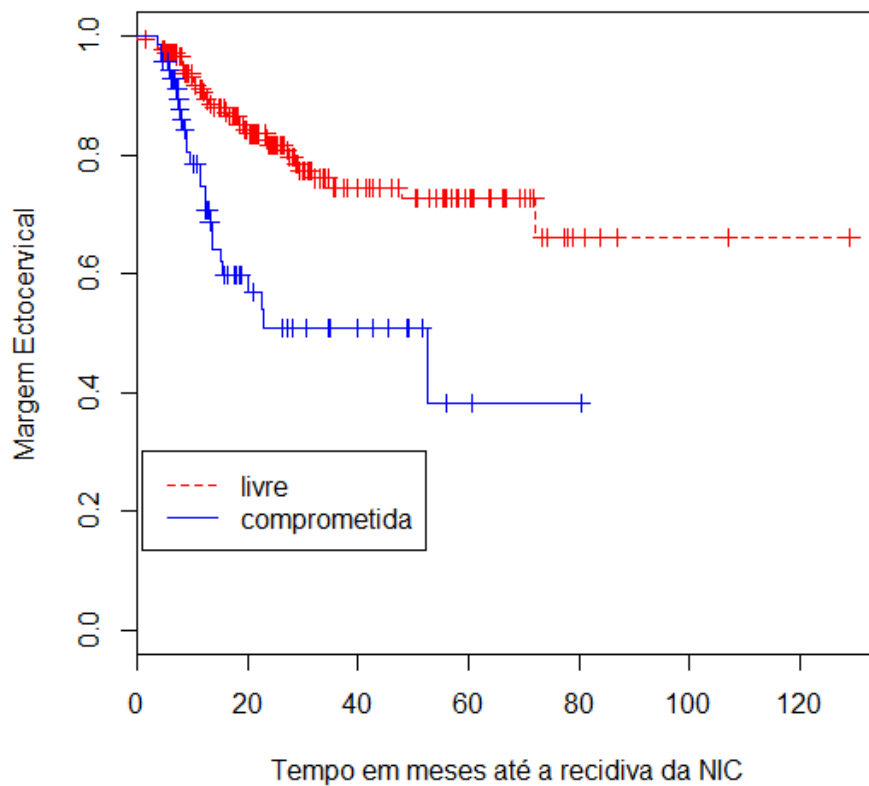
GRÁFICO 3 - Curva de sobrevivência estimada para a variável citologia



( $p=0,002$ ).

O GRÁF. 4 refere-se à característica das margens ectocervical comprometidas segundo o tempo de recidiva da lesão. Entre as pacientes com margens comprometidas, 40% apresentaram recidiva no período de 16 meses, enquanto entre as pacientes com margens livre a recidiva ocorreu em 20% delas no período de 80 meses.

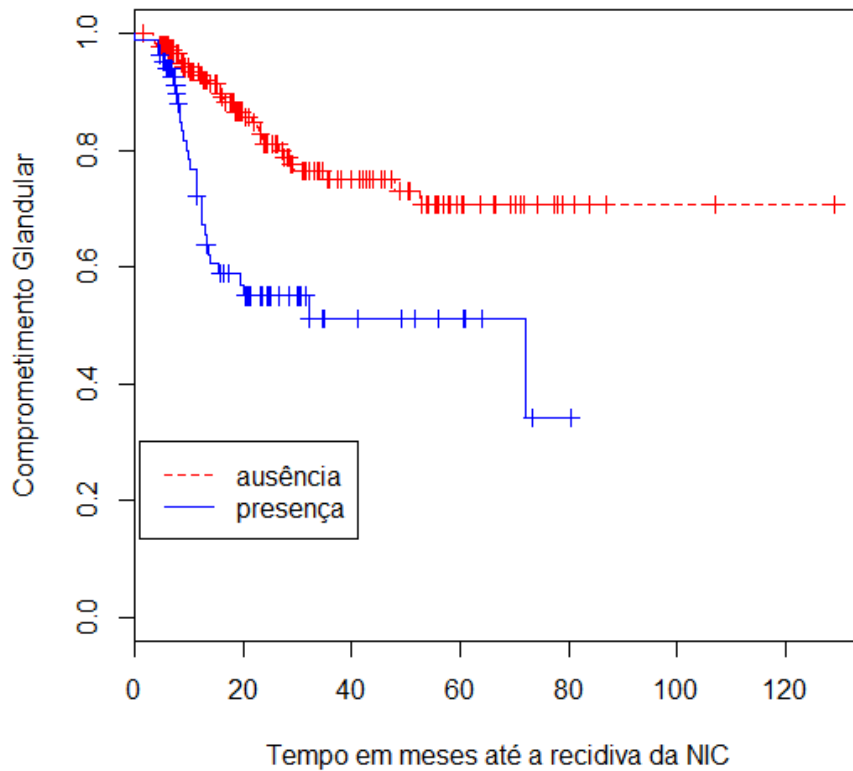
GRÁFICO 4 - Curva de sobrevivência estimada para a variável margem ectocervical



( $p < 0,001$ ).

A curva de sobrevivência segundo o comprometimento glandular encontra-se no GRAF. 5. No período de 20 meses foram diagnosticadas com recidiva da NIC quase 50% das pacientes com comprometimento glandular. Entre as pacientes livres de comprometimento glandular, apenas 20% tiveram recidiva no período de 60 meses.

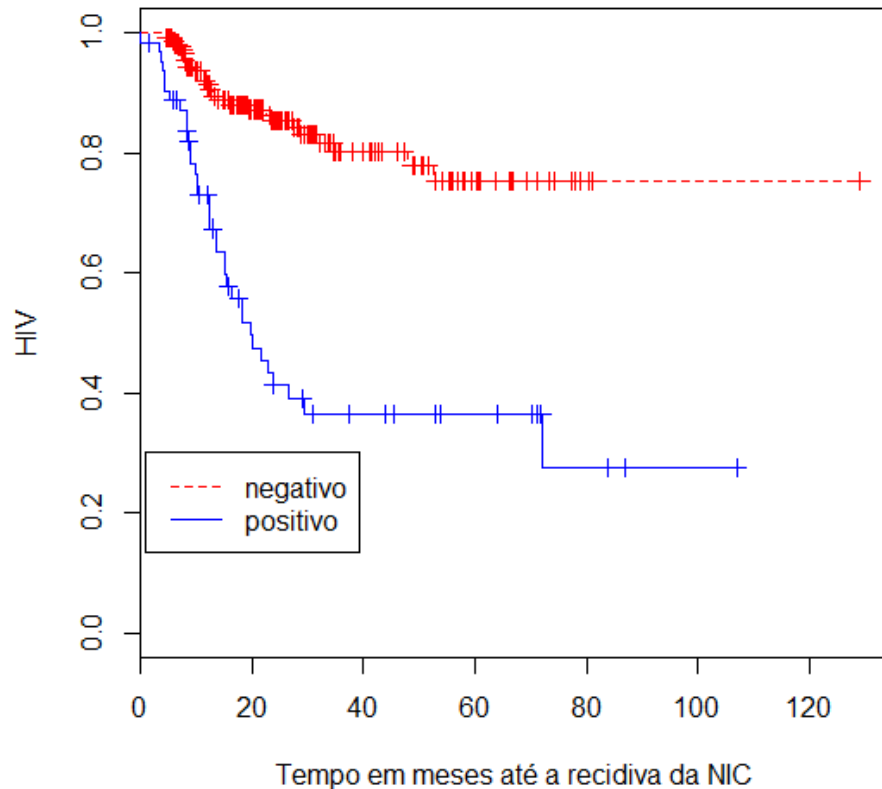
GRÁFICO 5 - Curva de sobrevivência estimada para a variável comprometimento glandular



( $p < 0,001$ ).

Nota-se, no GRÁF. 6, o tempo de recidiva da NIC em pacientes portadoras do HIV. Entre as pacientes portadoras do vírus, 60% tiveram recidiva em torno de 30 meses; 20% das pacientes soronegativas tiveram recidivas num período de até 80 meses.

GRÁFICO 6 - Curva de sobrevivência estimada para a variável HIV



( $p < 0,001$ )

#### 5.2.2.4 Análise univariada

Para a realização da análise univariada, foram consideradas todas as variáveis qualitativas que tiveram  $p\text{-valor} < 0,20$  no teste de *log-rank*. Vale ressaltar que, apesar da variável HPV na anatomia patológica também não ter apresentado significância estatística, por ter importância clínica foi selecionada para entrar na análise univariada. Já para as variáveis quantitativas, foram consideradas na análise: idade, início da vida sexual e paridade. Na TAB. 7 encontra-se o resultado da análise univariada.

TABELA 7 - Análise univariada das características sociodemográficas e clínicas avaliadas para os dois grupos estudados: modelo de Cox

Variável	Recidiva		RR	IC	Valor-p
	Não n(%)	Sim n(%)			
Número de parceiros					
< 3	67(87,0)	10(13,0)	-		
≥ 3	151(78,2)	42(21,8)	1,99	(0,95-3,78)	0,069
Mudança de parceiros					
Sim	28(71,8)	11(28,2)	-		
Não	182(87,9)	25(12,1)	0,45	(0,22-0,92)	0,029
Tabagismo					
Não	153(79,0)	38(21,0)	-		
Sim	69(71,9)	27(28,1)	1,62	(0,98-2,65)	0,056
HPV					
Baixo	26(76,4)	8(23,4)	-		
Alto	67(78,8)	18(21,8)	0,93	(0,40-2,15)	0,868
Negativo	128(88,3)	17(11,7)	0,54	(0,23-1,26)	0,154
PCR					
Negativo	85(85,8)	14(14,2)	-		
Positivo	95(77,9)	27(22,1)	1,59	(0,83-3,04)	0,160
Inibidor	42(95,5%)	2(4,5%)	0,42	(0,10-1,87)	0,257
Citologia					
Normal	28(59,5)	19(40,5)	-		
Alterada	194(80,8)	46(19,8)	0,45	(0,26-0,76)	0,762
Margem ectocervical					
Livre	172(82,2)	37(17,8)	-		
Comprometida	44(62,8)	26(37,8)	<b>2,81</b>	<b>(1,69-4,65)</b>	<b>&lt;0,001</b>
Comprometimento glandular					
Ausência	155(82,4)	33(17,2)	-		
Presença	53(63,0)	31(37,0)	<b>2,82</b>	<b>(1,73-4,62)</b>	<b>&lt;0,001</b>
HPV (anatomia patológica)					
Ausente	2(100,0)	0(100,0)	-		
Presente	205(76,5)	63(23,5)	∞	--	0,996*
HIV					
Negativo	194(86,6)	30(13,4)	-		
Positivo	28(44,5)	35(55,5)	<b>4,45</b>	<b>(2,73-7,25)</b>	<b>&lt;0,001</b>
Idade	222(77,3)	65(22,6)	0,99	(0,96-1,01)	0,267
Paridade	222(77,3)	65(22,6)	0,97	(0,86-1,09)	0,616
Início vida sexual	222(77,3)	65(22,6)	0,98	(0,92-1,05)	0,606

RR – risco relativo; IC- Intervalo de Confiança 95%.

\* para essa variável, dos 268 pacientes apenas 2 tiveram ausência. Em decorrência desse fato, a estimativa da RR se tornou infinita.

Todas as variáveis com valor- $p < 0,10$  foram selecionadas para etapa de análise multivariada cujo objetivo é chegar a um modelo final que ajude a explicar o tempo até a recidiva da NIC. A TAB. 8 apresenta o modelo final de Cox para tempo até a recidiva.

TABELA 8 - Modelo final de Cox para o tempo até a recidiva da NIC

Variável	$\hat{\beta}$	HR	IC <sub>95%</sub>	Valor-p
Número de parceiros				
< 3	-	-		
≥ 3	0,664	1,943	(0,725-5,204)	0,186
Mudança de parceiros				
Sim	-	-		
Não	-0,561	0,571	(0,263-1,236)	0,155
Tabagismo				
Não	-	-		
Sim	0,413	1,512	(0,720-3,174)	0,274
Margem Ectocervical				
Livre	-	-		
Comprometida	0,879	<b>2,410</b>	<b>(1,099-5,284)</b>	<b>0,028</b>
Comprometimento glandular				
Ausência	-	-		
Presença	0,638	1,892	(0,898-3,987)	0,093
HIV				
Ausente	-	-		
Presente	1,354	<b>3,874</b>	<b>(1,856-8,082)</b>	<b>&lt;0,001</b>

HR – razão das proporções ( $\exp(\beta)$ )

### 5.2.3 Avaliação da proporcionalidade das taxas de falha

Para avaliar a suposição de que as taxas de falha do modelo de Cox são proporcionais, foi realizado o teste de proporcionalidade individual para cada variável do modelo final, bem como o teste global. Além do teste, também foi feita análise gráfica a partir dos resíduos padronizados de Schoenfeld. Os testes realizados confirmaram o modelo final de Cox (APÊNDICE C).

## 6 DISCUSSÃO

O tratamento das lesões cervicais intraepiteliais de alto risco é a oportunidade para a redução da incidência do câncer cervical. Realizar o diagnóstico e o tratamento nessa fase possibilita muito menos morbidade se comparado ao tratamento da doença invasiva. Mesmo se sabendo da eficácia do tratamento usado (neste estudo foi a CAF), o seguimento das mulheres tratadas deve ser realizado de maneira rigorosa e sistemática, pois há possibilidade de recidiva.

Tendo como meta o acompanhamento mais eficiente das mulheres com elevado risco de recidiva da doença e com o intuito de diminuir com isso o ônus econômico de consultas desnecessárias e o estresse psicológico das pacientes com baixo risco de recorrência, foram avaliados os fatores sociodemográficos, grau da lesão cervical e DNA viral.

### 6.1 Tempo de acompanhamento

Trata-se de coorte com longo tempo de acompanhamento (1998 a 2011), porém o tempo médio em que cada mulher foi avaliada do período da CAF ao momento da consulta foi, em média, de 25,1 meses; 50% das pacientes possuem tempo inferior a 18,2 meses (mediana) de acompanhamento.

O tempo de acompanhamento até a recidiva revelou que 80% das pacientes não tiveram recidiva até aproximadamente 16 meses.

O tempo de seguimento das pacientes após CAF com surgimento de recidiva foi encontrado em estudos como o de Aeliryu *et al.* (2012), com tempo médio de seguimento de 25,3 meses. O critério de definição de recidiva foi a existência de NIC em peça de biópsia ou CAF após alteração citológica ou colposcópica no



seguimento rotineiro. Verguts *et al.* (2006) relataram 24 meses de acompanhamento semestral, com diagnóstico confirmado histologicamente. Em pesquisa de Murta *et al.* (1999) o acompanhamento foi de 32 meses, anormalidade na citologia ou biópsia ou peça cirúrgica.

Neste estudo avaliou-se o risco de recidiva para NIC baseando-se nas condições sociodemográficas, HPV, gravidade das lesões de NIC e HIV.

## 6.2 População

As 287 pacientes arroladas neste trabalho foram diagnosticadas com lesão intraepitelial cervical por meio de exame citológico, colposcópico ou histopatológico do colo uterino, submetidas à CAF e mantidas sob acompanhamento ambulatorial. Foram avaliadas 426 pacientes e inseridas no banco de dados confeccionado no SPSS. As informações de 132 pacientes foram excluídas por não apresentarem informação sobre o tempo de acompanhamento. Assim, restaram 287 na análise. Na literatura foram registradas outras coortes de acompanhamento das pacientes, como a de Kim *et al.* (2011), com 287 pacientes; de Kitchener *et al.* (2009), com 917 mulheres; e a de Chan *et al.* (2009) em estudo multicêntrico.

## 6.3 Características sociodemográficas

Foram descritos as características da população em estudo, os grupos por idade, início da vida sexual, número de parceiros, mudança de parceiros e paridade, tabagismo, portadoras do HIV.

Na amostra estudada a idade média foi de 36,6 anos, com desvio-padrão de 11,1 anos, não evidenciando diferença significativa entre os grupos no que se refere ao risco de recidiva, mostrando os dois grupos bem homogêneos. As pacientes que tinham menos de 35 anos e as que tinham 35 ou mais tiveram, ambas, 22,6% de recidivas. Resultado similar foi encontrado em estudos observacionais

longitudinais retrospectivos e prospectivos. A média etária de 36 anos que foi enfatizada por Hughes (2002), em Cambridge, e Gerber (2001). Para Costa *et al.* (2002), a média de idade foi de 33 anos; Aeliryu *et al.* (2012) encontraram 39,3; Murta *et al.* (1999) acusaram média de idade de 37,4 anos e Brismar *et al.* (2009) de 35,4 anos.

A observação da presente investigação para idade média da primeira relação foi de 17,9 anos, com mediana de 17 anos, sendo similar à encontrada por Silva e Rodrigues (2010) no Rio de Janeiro, de 17,5 anos; 18 anos encontrada por Bezerra *et al.* (2005); e 16,8 anos encontrada por Cox *et al.* (1999) na Califórnia.

Na análise do estudo, não houve diferença quanto à idade do início da atividade sexual entre as pacientes que iniciaram com idade menor ou igual a 17 anos - 156 pacientes (54,4%); maiores de 17 anos - 131 pacientes (45,6%), não havendo associação estatística. Este resultado também foi encontrado por outros autores (ELLERBROCK *et al.*, 2000).

O início precoce da atividade sexual está relacionado à infecção pelo HPV e é considerado fator de risco de câncer de colo uterino (MURTA *et al.*, 1999).

A proporção de mulheres tabagistas nesta pesquisa foi de 191 (66,5%) pacientes e 96 (33,5%) não tabagistas, sendo a prevalência estimada de tabagismo para mulheres no Brasil de 24,4% pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (COSTA *et al.*, 2002). **O risco relativo de ser fumante para ter recidiva é de 1,62, com valor-p=0,056 e intervalo de confiança de 0,98-2,65.** Apesar da importância clínica, não houve significância estatística.

O fumo é um fator de carcinogênese do colo uterino. Mulheres fumantes têm mais probabilidade de desenvolver câncer de colo uterino e lesões intraepiteliais, com elevadas taxas de recidivas após tratamento. As substâncias carcinogênicas existentes no fumo atuam na cérvix, diminuindo a resposta imunológica celular.

O tabagismo diminui significativamente a quantidade e função das células de Langhans, células apresentadoras de antígenos e que são responsáveis pela

ativação da imunidade celular local do HPV. Carcinogênicos químicos conhecidos como cotinina, nicotina, fenóis, hidrocarbonetos e alcatrões, encontrados em níveis altamente concentrados no muco cervical de mulheres tabagistas, são um dos possíveis mecanismos de carcinogênese cervical.

O risco relativo para desenvolver neoplasia intraepitelial cervical grau 3 ou câncer cervical foi de 3,33 a 4,3, respectivamente, para ex-fumantes e fumantes comparado com as não fumantes (CASTLE *et al.*, 2009). Porém, a associação entre infecção por HPV e tabagismo foi observada em alguns estudos, mas não corroborada por outros (HERRERO *et al.*, 2008; GIULIANO *et al.*, 2001).

#### **6.4 Características ginecológicas e obstétricas**

A paridade média encontrada em nosso estudo foi de dois partos, sem associação entre a paridade e a recidiva. Estudos realizados em mulheres com HPV observaram maior risco de lesão associado ao número de gestações a termo ou de nascidos vivos. Mulheres com sete gestações ou mais tiveram risco aproximadamente quatro vezes mais alto quando comparadas com nulíparas (MUNOZ *et al.*, 2003). Em outras publicações foi apurado número médio de partos variando entre 1,1 e 2,4 (GERBER *et al.*, 2001; LAMBERT *et al.*, 1999; SILVA; RODRIGUES, 2002). Alguns autores associam o número de partos transpélvicos e a neoplasia cervical, nos quais poderia existir traumatismo do colo uterino facilitando o processo de carcinogênese. Assim, o número de gestações associa-se, como cofatores do HPV, ao desenvolvimento de lesões intraepiteliais, devido às alterações imunológicas ocorridas no organismo materno, tornando-as menos resistentes às infecções, ou devido à ação dos hormônios sexuais, que se encontram aumentados durante a gravidez.

#### **6.5 Achados citológicos, histológicos e PCR**

As 287 pacientes deste trabalho foram diagnosticadas com lesão cervical por meio do exame citológico ou triadas pelo teste de Schiller e submetidas à biópsia guiada por colposcopia; o diagnóstico de NIC foi confirmado histologicamente. No serviço, a principal indicação de conização cervical é o diagnóstico de NIC2 ou mais. Neste estudo obtivemos 233 pacientes (81,2%) com resultado da anatomia patológica com NIC2 ou mais e 54 (18,8%) com NIC1. Outra indicação para a realização da conização cervical é a discordância entre o exame citológico e o exame histológico quando a citologia persiste de HSIL. Há consenso na literatura (MANTHEWS *et al.*, 2007) de que, sendo a citologia cervical um exame altamente específico (ARBYN *et al.*, 2004), mesmo que o exame histológico cervical não confirme o diagnóstico citológico ou que a biópsia cervical não seja realizada por ausência de alterações ao exame colposcópico, realizou-se a conização cervical da paciente como forma de elucidação diagnóstica, além de terapêutica. O mesmo ocorreu em pacientes com alterações colposcópicas maiores com citologia normal, sendo feita a biópsia cervical; se confirmada neoplasia intraepitelial de alto grau, indica-se conização (GOLBANG *et al.*, 1997; MANTHEWS *et al.*, 2007).

Outra situação de indicação de conização foi NIC1 persistente e NIC1 em pacientes HIV-positivo, considerando-se que no início desta coorte, em 1999, a indicação era de conização.

Revisão sistemática da acurácia do teste de Papanicolau feita por Cuzik *et al.* (2006), incluindo mais de 60.000 mulheres que foram testadas para ambos, HPV e citologia, fornece comparação direta da sensibilidade desses dois testes. A sensibilidade da citologia foi significativamente menor do que o teste HPV para LSIL; NIC1 variou de 17 a 99% e a especificidade variou de 9 a 100%. Para HSIL e NIC2 ou 3, a sensibilidade da citologia era mais alta - 53% (variação de 44 a 99%) - e a especificidade mais baixa, variando de 91 a 98%.

Na presente casuística, 47 pacientes (16,4%) exibiram citologia normal e em 240 (83,6%) a citologia estava alterada, isto é, o diagnóstico era de lesão intraepitelial cervical.

Na avaliação das peças cirúrgicas, o exame anatomopatológico da CAF realçou que 233 (81,2%) pacientes tiveram o resultado de NIC2 ou + e 54 (18,8%) pacientes tinham cervicite com HPV ou NIC1.

A classificação utilizada atualmente inclui a denominação lesão intraepitelial escamosa (LIE) para as alterações citológicas e neoplasia intraepitelial cervical (NIC) para as alterações histológicas. Estas últimas estão divididas em três graus de intensidade: NIC 1, 2 e 3. As NIC 2 e 3 são consideradas lesões de alto grau e possuem maior potencial de evolução para carcinoma invasivo do colo uterino (RICHART, 1973).

### **6.6 Recidiva da neoplasia intraepitelial cervical**

Das 287 pacientes acompanhadas, 65 apresentaram recidiva (22,6%). Quando separadas pelo grau de NIC, das 233 com NIC2 ou +, 183 (78,5%) não recidivaram e 50 (21,5%) recidivaram. Entre as 54 pacientes com cervicite ou NIC1, 39 (72,2%) não recidivaram e 10 (18,5%) recidivaram.

As 65 pacientes que tiveram recidivas foram submetidas a novo procedimento cirúrgico (CAF). Das que recidivaram, 34 (54%) tiveram o resultado da anatomia patológica NIC2 ou + e 29 (46%) tinham o resultado de cervicite ou NIC1. A curva de sobrevivência da variável anatomia patológica dos dois grupos se cruza. Portanto, foi realizado o teste de Wilcoxon, que não demonstrou significância estatística com valor-p=**0,723**.

As lesões intraepiteliais podem ser vistas como um contínuo da mesma doença, sendo que 43 a 58% das lesões irão regredir se não forem tratadas, enquanto apenas reduzida porcentagem de 2% irá progredir para NIC3 e 5% irão progredir para câncer invasivo (MELNIKOW *et al.*, 2009; OSTOR, 1993). Para os casos de NIC3, a progressão espontânea estimada é de 32 a 47%, enquanto 12 a 36% poderão evoluir para carcinoma invasivo se não forem tratadas. As NIC 2 e 3 são agrupadas sob a denominação de alto grau e são tratadas da mesma maneira,

pois ambas possuem elevadas taxas de progressão para câncer e sua distinção histológica é pequena (MELNIKOW *et al.*, 2009; OSTOR, 1993).

Nesta coorte, apenas uma paciente em seguimento evoluiu para carcinoma invasor. Outras tiveram a segunda recidiva e nova abordagem, o que demonstra que o seguimento e manuseio da neoplasia intraepitelial é importante e eficiente para prevenir o câncer de colo uterino.

Considerando ser o comprometimento de margens cirúrgicas fator importante de prognóstico para persistência ou recidiva de neoplasia intraepiteliais, sua análise é fundamental. No nosso estudo verificou-se que 70 (25,1%) pacientes apresentaram margens ectocervicais comprometidas, em consonância com vários estudos da literatura.

Metanálise realizada por Ghaem-Maghami *et al.* acusou índice de excisão incompleta, por procedimentos eletrocirúrgicos, variando de 9-53%.

Pesquisas mostram que excisões incompletas podem estar associadas a risco aumentado de doença residual. Posteriormente (durante o seguimento), 7 a 85% das pacientes com margens comprometidas exibiram lesão residual, recorrente ou invasiva (BAGOLU *et al.*, 2010). Há também a possibilidade (embora menor) de recidiva quando as margens são livres. A recorrência após completa excisão da lesão pode ser devida a lesão multifocal, imunossupressão, comprometimento glandular, investigação cirúrgica inadequada ou persistência do HPV (BAGOLU *et al.*, 2010).

Alguns autores consideraram as margens o principal determinante de risco para recidiva (JULIATO *et al.*, 2000). Kitchener encontrou risco relativo de 5,5 vezes para incisão incompleta da lesão. Apesar disso, alguns autores verificaram que dois terços das recidivas ocorreram quando as margens estavam livres (HANAU; BIBBO, 1997).

Todavia, as margens livres não garantiram ausência de recidiva da doença: 16,5% das mulheres sem acometimento marginal apresentaram lesão residual no acompanhamento citológico (DIETRICH *et al.*, 2002).

Maluf *et al.* (2004), em estudo prospectivo com 63 pacientes submetidas à CAF e seguimento médio de três anos e meio, encontraram recidiva da lesão em 53,8% dos casos com margens comprometidas e em 12,9% dos casos com margens livres, mostrando haver relação significativa entre as margens cirúrgicas e a evolução das pacientes.

Alto percentual de recidiva para margens comprometidas (RR2, 04) e comprometimento glandular (RR3, 46) foi descrito por Lima *et al.* (2006). A ocorrência simultânea de comprometimento glandular e margens ectocervicais comprometidas apresentou recidivas mais frequentes e em menos tempo. Constatou-se que os fatores de risco significativamente associados à recidiva das lesões no colo uterino foram: soropositividade para HIV, comprometimento glandular e margens ectocervicais comprometidas.

No presente estudo verifica-se que das 70 (25,1%) pacientes que apresentaram margens ectocervicais comprometidas, 26 (37,1%) tiveram recidivas e 44 (62,9%) não tiveram. Das 209 (74,9%) com margens livres, 37 (17,7%) vieram a ter recidiva e 172 (82,2%) não tiveram. As margens ectocervicais comprometidas tiveram recidivas em 40% no período de 16 meses e nas pacientes com margens livres a recidiva ocorreu em 20% delas no período de 80 meses. Portanto, foi realizado o teste de *log-rank* para análise univariada, no modelo de Cox, mostrando que margem ectocervical comprometida apresentou **valor  $p < 0,001$** , com **IC95% de 1, 69-4, 65**, estatisticamente significativo, com associação consistente de acordo com Lubrano *et al.* (2012). O risco de uma paciente com margem ectocervical comprometida ter recidiva da lesão intraepitelial cervical é **2,81** vezes mais alto.

O comprometimento glandular foi avaliado nas peças cirúrgicas, com resultado de recidiva em 31 (37%) das 84 pacientes com margem comprometida glandular. Das 188 pacientes sem comprometimento glandular, 155 (82,4%) não tiveram

recidivas e 33 (17,2%) a tiveram. Quase 50% das pacientes com comprometimento glandular tiveram recidiva no período de 20 meses. Apenas 20% das pacientes com ausência de comprometimento glandular tiveram recidiva em 60 meses.

Na análise univariada no modelo de Cox, **o valor p foi de <0,001, com IC de 1,73-4,62**. Portanto, o risco das pacientes com comprometimento glandular terem recidiva da **doença foi de 2,82**.

Outros estudos tiveram porcentagem semelhante, como o de Juliato *et al.* (2000), com 26% das pacientes com margens comprometidas apresentando recidiva.

Aeliryu *et al.* (2012) acusaram que 27% das margens comprometidas evoluíram para recidiva. Segundo Murta *et al.* (1999), esse percentual foi de 26,4%; para Verguts *et al.* (2006), de 19,4%; Brismar *et al.* (2009) encontraram que 27% das pacientes com recidiva apresentaram margens comprometidas.

Em 2011, Kim *et al.* avaliaram 287 pacientes com lesões intraepiteliais de alto grau que foram submetidas à CAF. Todas mostravam espécime cirúrgico indicando margens livres de comprometimento neoplásico e o tempo de seguimento foi de 24 meses. Foi realizada captura híbrida II durante o seguimento dessas mulheres nos meses 3, 6, 9, 12, 18 e 24 após a realização da CAF. Foi detectada infecção persistente por HPV de alto risco, nos respectivos meses, em 45,6%, 14,3%, 6,3%, 2,2%, 1,5% e 1,1% das mulheres. Após dois anos de seguimento, 24 mulheres do grupo com infecção persistente por HPV alto risco apresentaram recidiva da lesão detectada por biópsia, o que indicou que a infecção persistente pelo HPV alto risco pode ser considerada fator de persistência e recidiva maior que o *status* das margens cirúrgicas.

Dessa maneira, tais resultados permitem concluir que as pacientes com margens ectocervical e envolvimento glandular positivos não necessitariam de novo procedimento excisional de imediato, podendo ser acompanhadas rigorosamente com citologia e colposcopia e tratadas caso apresentem novo sinal de doença.



A negatificação da maioria das pacientes com margens positivas poderia ser explicada nos casos de CAF, em parte pela cauterização da área cruenta após a retirada do espécime cirúrgico. Também deve ser lembrada a intensa reação inflamatória que ocorre no sítio de tratamento, com liberação de inúmeros mediadores imunológicos e atração de linfócitos e outras células da imunidade, os quais poderiam destruir o processo residual (MUNK *et al.*, 2007). Porém, metanálise de Ghaem Maghami sugere que mulheres com mais de 50 anos ou prole constituída sejam submetidas a nova CAF.

O HPV detectado na anatomia patológica das 287 pacientes submetidas à eletrocirurgia foi encontrado em 268 (93,3%); duas pacientes eram HPV-negativo; e 17 estavam sem informação. As 59 pacientes que recidivaram, entre as 65 do estudo, tiveram HPV no resultado da anatomia patológica da peça cirúrgica e seis estavam sem informação.

Em nosso estudo foi realizado o teste de PCR para DNA do HPV em um período de seis meses a 24 meses após o procedimento cirúrgico, para avaliar a persistência do HPV. Nosso intuito era verificar se a persistência do HPV pós-CAF relacionava-se à recidiva, baseado em Kitchener *et al.* (2009), que visavam realizar o teste da PCR para identificar as pacientes com risco de desenvolver NIC em um período de três a 10 anos. Hoje já existe uma indicação de DNA-HPV no seguimento da paciente pós-conização do colo uterino. A presença ou persistência do HPV é um importante fator de risco para recidiva (CHAO, 2004; KITCHENER *et al.*, 2009; PARASKEVAIDIS *et al.*, 2004). Não se constatando o HPV, a paciente poderia voltar ao controle clínico de rotina, eliminando o risco de recorrência da doença (HERNARDI *et al.*, 2005).

As 287 pacientes submetidas à CAF tiveram os seguintes resultados: PCR negativa em 99 (34,4%) pacientes; positiva em 122 (42,5%); inibidora em 44 (15,1%). Esse resultado não foi estatisticamente significativo com o **valor-p=0,160 e IC de 0,83-3,04. O risco relativo para PCR positivo foi de 1,59 para recidiva de NIC.** Nosso resultado é discordante da literatura, como Bhatla e Moda (2009) e Franco *et al.* (2003), que encontraram forte associação do DNA-HPV e recidiva da NIC.

A possibilidade da detecção viral no pós-operatório tardio pode representar também uma nova infecção e não falha do tratamento (PARASKEVAIDIS *et al.*, 2000).

Dados conclusivos da importância da detecção viral foram apresentados por Ylitalo *et al.* (2000), ao analisarem, a partir de metodologia de PCR, esfregaços antigos de citologia oncológica de Papanicolaou de mulheres que apresentaram carcinoma *in situ*. Analisaram esfregaços citológicos obtidos até 26 anos antes do diagnóstico de NIC3. Mulheres com alta carga viral para o HPV tipo 16 apresentavam, já uma década antes, risco relativo de carcinoma *in situ* do colo uterino 30 vezes maior quando comparadas com as HPV-negativo. No grupo de mulheres com alta carga viral antes dos 25 anos, 25% desenvolveram carcinoma *in situ* no período de 15 anos. Os dados demonstram que a infecção viral persistente é um dos pré-requisitos mais significativos para o desenvolvimento da doença e provavelmente a carga viral elevada seja um dos principais fatores envolvidos na perpetuação viral.

A identificação de HPV de alto risco é um marcador importante não apenas de infecção, mas também de doença e prognóstico de recidiva. Pode-se determinar o seguimento das pacientes submetidas a tratamento por lesões graves do colo uterino.

Estudo sobre a prevalência do papilomavírus humano no câncer cervical detectou o HPV-DNA em 93% dos tumores. O HPV 16 estava presente em 50% dos espécimes; o HPV 18 em 14%; o HPV 45 em 8%; e o HPV 31 em 5% (BOSCH *et al.*, 1995).

Na análise do estudo foi encontrado resultado para HPV de alto risco, com **risco relativo de 0,93, IC 0,40-2,15 e valor-p=0,868**. A associação clínica existe, porém não foi estatisticamente significativa, diferindo dos dados da literatura. Porém, o nosso estudo avaliou os fatores prognósticos da recidiva da NIC, sendo o teste DNA-HPV realizado no seguimento das pacientes.

## 6.7 HIV e HPV

Pacientes HIV-positivo, principalmente os com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), têm elevada taxa de risco para desenvolver lesões precursoras no colo uterino, associado ao HPV.

A coinfeção pelo HPV é situação clínica de maior incidência em mulheres infectadas pelo HIV. Sabe-se que a persistência da infecção pelo HPV de alto risco é um fator importante e determinante de câncer invasor e que mecanismos imunológicos são necessários para controlar a infecção (CLIFFORD *et al.*, 2006)

As taxas de sobrevivência ao HIV estão melhorando no Brasil e em outros países. Isso se deve a uma melhor gestão clínica, à profilaxia contra infecções comuns e ao uso de HAART. As lesões precursoras do colo do útero são mais prevalentes entre os pacientes HIV-positivo e têm mais chances de progredir para um grau mais elevado da doença e mais rápido, com pior resposta aos tratamentos e elevado índice de recidivas (ELLERBROCK *et al.*, 2000; PALESFKY; HOLLY, 2003; SUN *et al.*, 1997).

Wright *et al.* (2007), Frutcher *et al.* (1996) e Russomano (2001) observaram taxa de recorrência maior em paciente HIV-positivo.

Em metanálise de cinco estudos epidemiológicos publicados entre 1986 e 1990, verificou-se que o risco de desenvolver NIC era cinco vezes mais alto em mulheres HIV-positivo comparada com as HIV-negativo, com os mesmos fatores de risco (MANDELBLATT *et al.*, 1992).

No nosso estudo 63 (22%) pacientes são HIV-positivo e 224 (78%) não são portadoras do HIV. Destas 224 pacientes HIV-negativo, 194 (86,6%) não apresentaram recidiva da doença e 30 (13,4%) recidivaram. Das 63 pacientes HIV-positivo, 28 (44,5%) não recidivaram e 35 (55,5%) tiveram recidiva da NIC. Portanto, 55,5% das pacientes HIV-positivo apresentaram recidiva da doença *versus* 13,4% das pacientes HIV-negativo que tiveram recidiva.

As pacientes portadoras do HIV (60%) tiveram recidiva da NIC em torno de 20 meses, enquanto as soronegativas (20%) tiveram recidiva no período até de 80 meses.

No teste de *log-rank*, a variável HIV teve significância estatística, **com valor- $p < 0,001$** . Na análise univariada no modelo de Cox, **o risco relativo foi 4,45** vezes mais alto de uma paciente apresentar recidiva de NIC se a mesma for portadora do HIV. **O intervalo de confiança foi de 2,73-7,25**.

A conclusão é que um seguimento mais intensivo e rigoroso deveria ser oferecido a pacientes com margens comprometidas e soropositivas com contagem de CD4 inferior a 500, conforme Adam *et al.* (2008). Na presente pesquisa não foi realizada análise do CD4, por não ser um dos objetivos, apesar de ser descrita na literatura a sua importância (LIMA *et al.*, 2006).

## 6.8 Comentários finais

Pacientes que tenham sido submetidas à CAF por NIC e que apresentarem comprometimento de margens cirúrgicas e/ou comprometimento glandular são mais susceptíveis à recidiva, devendo ser seguidas com mais atenção. Também precisam de seguimento mais rigoroso as pacientes infectadas pelo HIV, quando comparadas às não infectadas, devido a mais chance de recidiva de NIC.

A principal estratégia na prevenção e no controle do câncer cervical é a detecção precoce das lesões pré-cancerosas, permitindo que intervenções e terapias efetivas possam contribuir para a redução da sua mortalidade e morbidade.

## 7 CONCLUSÕES

- a) A frequência de recidiva de neoplasia intraepitelial cervical após a cirurgia de alta frequência foi dentro do esperado. O risco de recidiva em mulheres portadoras do HIV no decorrer do seguimento foi significativamente mais alto, comparado com as mulheres não infectadas pelo HIV.
- b) Os fatores de risco que se associaram significativamente à recidiva de neoplasia intraepitelial cervical após a cirurgia de alta frequência foram; HIV; margem cirúrgica comprometida; e comprometimento glandular.

## REFERÊNCIAS

ABBAS, LICHTMAN & PILLAI, **Imunologia Celular e Molecular**, Ed. Elsevier, 6ª, Rio de Janeiro, 2005.

ACLADIOUS, N.N. *et al.* Persistent human papillomavirus infection and smoking increase risk of failure of treatment of cervical intraepithelial neoplasia (CIN). **Int J Cancer**, v. 98, p. 435-9, 2002.

ADAM, Y. *et al.* Predictors of persistent cytologic abnormalities after treatment of cervical intraepithelial neoplasia in Soweto, South Africa: a cohort study in a HIV high prevalence population. **BMC Cancer**, v. 8, p. 211, 2008.

AELIRYU, A. *et al.* Early human papillomavirus testing predicts residual recurrent disease after LEEP. **J Gynecol Oncol**, v. 23, n. 4, p. 217-225, 2012.

ALTFELD, M. *et al.* DCs and NK cells: critical effectors in the immune response to HIV-1. **Nat Rev Immunol**, v. 11, p. 176-186, 2011.

ARBYN, M. *et al.* Virologia versus cytologia triage of women with equivocal Pap. smears: a meta-analysis of the accuracy to detect high-grade intraepithelial neoplasia. **J Nat Cancer Institute** (Meta-analysis Research Support, Non-US Gov't), v. 96, n. 4, p. 250-93, Feb. 2004.

AUSTRALIAN GOVERNMENT/NATIONAL HEALTH AND MEDICAL RESEARCH COUNCIL, 2005.

BAGOLU, A. *et al.* Residual and recurrent disease rates following LEEP treatment in high-grade cervical intraepithelial lesions. **Arch Gynecol Obstetric**, v. 82, n. 2, p. 69-73, Nov. 2010.

BARRE-SINOUSSE, F., J. C. CHERMANN, F. REY, M. T. NUGEYRE, S. CHAMARET, J. GRUEST, C. DAUGUET, C. AXLER-BLIN, F. VEZINET-BRUN, C. ROUZIUUZ, W. ROZENBAUM, AND L. MONTAGNIER. ISOLATION OF A T-LYMPHOTROPIC retrovirus from a patient at risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). **Science**. **220**:868-871, 1983.

BASEMAN, J.G. *et al.* Evaluation of primary cervical cancer screening with an oncogenic human papillomavirus DNA test and cervical cytologic findings among women who attended family planning clinics in the United States. **Am J Obstet Gynecol**, v. 99, n. 1, p. 26.e1-8, 2008.

BASEMAN, J.G.; KOUTSKY, L.A. The epidemiology of human papillomavirus infections. **J Clin Virol**, v. 32 (Suppl.1), p. S16-S24, 2005. Suppl 1.

BELO HORIZONTE. Secretaria Municipal de Saúde. **Prevenção e controle do câncer de colo de útero**. Belo Horizonte: Secretaria Municipal de Saúde, 2009.

BEZERRA, S.J.S. *et al.* Perfil de mulheres portadoras de lesões cervicais por HPV quanto aos fatores de risco para câncer de colo uterino. **J Bras Doenças Sex Transm**, v. 17, n. 2, p. 143-148, 2005.

BHATLA, N.; MODA, N. The cervical utility of HPV-DNA testing in cervical câncer screening strategies. **Indian J Med Res**, v. 130, n. 3, p. 261-5, Sept. 2009.

BIBBO, M.; MORAES FILHO, A. Lesões relacionadas à infecção por HPV no trato anogenital. Rio de Janeiro, **Revinter**, 1998. 60-64 p.

BOSCH, F.X. Epidemiology of human papillomavirus infections: new options for cervical câncer prevention. **Salud Publica Mex**, v. 45 (Suppl. 3), p. S326-S339, 2003.

BOSCH, F.X. *et al.* International Biological Study on Cervical Cancer (IBSCC) Study group prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. **J Natl Cancer Inst**, v. 87, p. 796-802, 1995.

BOSCH, F.X. *et al.* The casual relation between human papillomavirus and cervical câncer. **J Clin Pathol**, v. 55, p. 244-265, 2002.

BRISMAR, S. *et al.* Follow-up after treatment of cervical intraepithelial neoplasia by human papillomavirus genotyping. **Am J Obstet Gynecol**, v. 201, n. 17, p. 1-8, 2009.

BURD, E.M. Human papillomavirus and cervical cancer. **Clin Microbiol Rev**, v. 16, n. 1, p. 1-17, 2003.

CARESTIATO, F.N. *et al.* Analysis of molecular biology techniques for the diagnosis of human papillomavirus infection and cervical cancer prevention. **Rev Soc Bras Méd Trop**, v. 39, n. 5, p. 428-432, 2006.

CARMO, E.F.S.; FIORINI, A. Principais técnicas moleculares para detecção do papilomavirus humano. **Sábios – Rev Saúde Biol**, v. 2, n. 1, p. 29-31, 2007.

CARTER, J.J. *et al.* Comparison of human papillomavirus types 16, 18 and 6 capsid antibody responses following incident infection. **J Infect Dis**, v. 181, p. 911-919, 2000.

CARTER, J.J. *et al.* The natural history of human papillomavirus papillomavirus types 16 capsid antibodies among a cohort of university women. **J Infect Dis**, v. 174, p. 927-936, 1996.

CARVALHO, N.O. *et al.* Comparison of HPV genotyping by type-specific PCR and sequencing. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 1, p. 73-8, 2010.

CASADO, L. (ed.). **Diretrizes brasileiras para rastreamento do câncer do colo uterino**. Rio de Janeiro: v. 1, 2011.

CASTELLSAGUE, X.; MUNOZ, N. Cofactors in human papillomavirus Carcinogenesis-role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking. Chapter 3. **J Natl Cancer Inst Monogr**, v. 31, p. 20-28, 2003.

CASTLE PE, SCHIFFMAN M, WHEELER CM, SOLOMON D. Evidence for frequent regression of cervical intraepithelial neoplasia-grade 2. **Obstet Gynecol** 2009; 113(1):18-25.

CHAN,P.K.,T.H.CHEUNG,A.O.TAM,K.W.LO,S.F.YIM,M.M.YU,K.F.TO,Y.F.WONG, J.L.CHEUNG D.P.CHANG,M.HUI Em.ip.Biases inhuman papillomavirus genotype prevalence assessment associated with commonly used consensus primers.**Int J Cancer**. 2006,118(1):243-5

CHANG, A.R.; KENG, L.W. Human papillomavirus (HPV) infection is sexually transmitted disease (STD). **I Hsueh Tsa Chih**, [s.l.], v. 22, p. 409-15, 1999.

CHAO, A. *et al.* Usefulness of human papillomavirus testing in the follow-up of patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia after conization. **Am J Obstet Gynecol**, Saint Louis, v. 190, n. 4, p.1046-1051, 2004.

CLIFFORD, G. *et al.* Human papillomavirus types among infected with HIV: a meta-analysis. **AIDS**, v. 20, p. 2337-2344, 2006.

CLIFFORD, G.M.; HOWELL-JONES, R.; FRANCESCHI, S. Judging the carcinogenicity of human papillomavirus types by single multiple infections ratio in cervical cancer. **Int J Cancer**, v. 129, p. 1792-1794.1, 2011.

COIRAS, M. *et al.* Understanding HIV-1latency provides clues for the eradication of long-term reservoirs. **Nat Rev Microbiol**, v. 7, p. 798-812, 2009.

COLOSIMO, E.A.; GIOLO, S.R. **Análise de sobrevivência aplicada**. São Paulo: Blücher, 2006. 369 p.

COSTA, S. *et al.* Disease persistence in patients with cervical intraepithelial neoplasia undergoing eletrosurgical conization. **Gynecol Oncol**, v. 85, p. 119-124, Sep. 2002.

COX,J.T.Management of cervical intraepithelial neoplasia.The Lancet.1999;353(9156):857-9.

COX JT, CASTLE PE, BEHRENS CM, et al. Comparison of cervical cancer screening strategies incorporating different combinations of cytology, HPV testing, and genotyping for HPV 16/18: results from the ATHENA HPV study. **Am J Obstet Gynecol** ;208:184.e1-11,2013.

CUZIK, J. *et al.* Overview of the European and North American Studies on HPV testing in primary cervical câncer screeming. **Int J Cancer** (Meta-analysis Reseach Support,Non-US Gov't), v. 119, n. 5, p. 1095-101, Sep. 2006.



DAMES, D.N. *et al.* The prevalence of cervical cytology abnormalities and human papillomavirus in women infected with the human immunodeficiency virus. **Infect Agent Cancer**, v. 4 (Suppl. 1), p. S8, 2009.

DAVIES, P.; KOMEYAY, J.; IFNER, T. Current methods of testing for human papillomavirus. **Best Pract Res Clin Obstet Gynaecolgy**, v. 15, n. 5, p. 677-700, 2001.

DE JONG, A. *et al.* Human papillomavirus papillomavirus types 16-positive cervical câncer is associated with imparied CD 4 + T cell immunity against early antigens E2 and E6. **Cancer Res**, v. 64, p. 5449-5455, 2004.

DE VILLIERS, E.M. *et al.* Classification of papillomaviruses. **Virology**, v. 324, p. 17-27, 2004.

DERCHAIN, S.F.M.; LONGATTO FILHO, A.; SYRJANEN, K.J. Neoplasia intraepitelial cervical: diagnóstico e tratamento. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, V. 27, p. 425-433, 2005.

DIETRICH, C.S. *et al.* Risk factors for early cytologic abnormalities after loop electrosurgicalexcision procedure. **Obstet Gynecol**, v. 99, n. 2, p. 188-92, Feb. 2002.

DILLNER, J. *et al.* Long term predictive values of cytology and human papillomavirus testing in cervical cancer screening joint European cohort study. **BMJ**, p. 377, 2008.

DOCKTER, J.SCHROEDER, A. *et al.* Clinical performance of the APTIMA® HPV Assay for the detection of high-risk HPV and high-grade cervical lesions. Jul, 45(1)s55-s61;2009

DOORBAR, J. The papillomavirus life cycle. **J ClinViro** (Research Support, Non-US. Gov't Review, v. 2 (Suppl 1), p. 57-15, Mar. 2005.

ELLERBROCK, T.V. *et al.* Incidence of cervical squamous intraepithelial lesions in HIV-infected women. **JAMA**, v. 283, n. 8, p. 1031-7, 2000.

FARSHADPOUR F, KONINGS S, SPEEL EJ, HORDIJK GJ, KOOLE R, VAN BLOKLAND M, *et al.* Human papillomavirus and oropharyngeal squamous cell carcinoma: a case-control study regarding tobacco and alcohol consumption. **Patholog Res Int.** ;2011:806345,2011.

FERENCZY, A. *et al.* Cervical pap smears advantages, limitations and optimization. *In*: MONSEGO, J.E.; FRANCO, E. (eds). **Eurogin-WHO international joint meeting cervical câncer control**. General Statements and Guidelines, p. 20-3, 1997.

FIFE, K.H. *et al.* Prevalence and persistence of cervical human papillomavirus infection in HIV-positive women initiating highly-active antiretroviral therapy. **J Acquir Immune Defic Syndr**, v. 51, n. 3, p. 274-82, 2009.

FIGO. The new FIGO staging system for cancers of the vulva, cervix, endometrium and sarcomas. **Gynecol Oncol**, v. 115, p. 325-8, 2009.

FIGUEIREDO, P.G. *et al.* Carcinoma microinvasor no cone pós-biópsia dirigida compatível com NIC3. **RBGO**, v. 24, n. 1, p. 37-43, 340-345, Oct. 2002.

FIRNHABER, C. *et al.* Association between cervical dysplasia and human papillomavirus in HIV seropositive women from Johannesburg South Africa. **Cancer Causes Control**, v. 21, n. 3, p. 433-43, 2010.

FRANCO, E.L.; DUARTE-FRANCO, E.; FERENCY, A. Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection **CMAJ**, v. 164, p. 1017-32, 2001.

FRANCO, E.L. Epidemiology of anogenital warts and cancer. *In*: LÖRINCZ, A.; REID, R. **Obstetrics and gynecology clinics of North America**: human papillomavirus I. Philadelphia: W.B. Saunders, p. 597-623, 1996.

FREGA, A. *et al.* Young women, cervical intraepithelial neoplasia and human Papillomavirus: risk factors for persistence and recurrence. **Cancer Letters**, v. 196, p. 127-3-134, 2003.

FRUCHTER, R.G. *et al.* Multiple recurrences of cervical intraepithelial neoplasia in women with the human immunodeficiency virus. **Obstetric Gynecology**, v. 87, p. 338-344, 1996.

FRISCH, M.; BIGGAR, R.J.; GOEDERT, J.J. Human papillomavirus associated cancers in patients with human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome. **J Natl Cancer Inst**, v. 92, n. 18, p. 1500-10, 2000.

FROLOV, M.V. *et al.* Functional antagonism between E2F family members. **Genes Dev** [Research Support, Non-US.Gov'tPHS], v. 117 (Pt11), p. 2173-81, May 2004.

GAGE, J.R. *et al.* Effects of papillomavirus-associated cells on human immunodeficiency virus gene expression. **Obstet Gynecol**, v. 96, p. 879-85, 2000.

GERBER, S.; GRANDI, P. D.; PETIGNAT, P.; MIHAESCU, A.; DELALOYE, J. F. Colposcopic evaluation after a repeat atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS) smear. **Int J Gynaecol Obstet**, v. 75, p. 251-255, 2001.

GHAENEM, K.G., DATTA, S.D., UNGER, E.R., HAGENSEE M, SHLAY, J.C. KEMDT P., *etal* The association of current hormonal contraceptive use with type-specific HPV detection. **Sex Transm Infect**:87(5):385-8, 2011.

GHITTONI, R. *et al.* The biological properties of E6 and E7 oncoproteins from human papillomavirus. **Virus Genes**, v. 40, n. 1, p. 1-13, Feb. 2010.

GIULIANO, A.R. *et al.* Human papillomavirus infection at the United States-Mexico border. **Cancer Epidemiol Biomarkers & Prev**, v. 10, p. 1129-36, 2001.

GOLBANG, P. *et al.* Investigation of 100 consecutive negative cone biopsies. **Br J Obstet Gynaecol** [research Support, Non-U.S.Gov't], v. 104, n. 1, p. 100-4, Já. 1997.

GOMES, T.A.M. Fatores associados à infecção clínica e subclínica do trato feminino pelo HPV DST. **J Bras Doenças Sex Transm**, v. 15, n. 1, p. 16-22, 2003.

GOTTLIEB, G.S. *et al.* Equal plasma viral loads predict a similar rate of CD4+ T cell decline in human immunodeficiency virus (HIV) type 1 –and HIV-2 infected individuals from Senegal, West Africa. Washington: **J Infect Dis** 2002; 905-14.

GREENBLATT, R.M.; N.A. Epidemiology and natural history of HIV infection in women. In: Anderson JR, editor. *Aguide to the Clinical Care of Women with HIV*. 2 ed. Rockville: **Hopkins University**, 2001, p. 1-32.

HANAU, C.A.; BIBBO, M. The case for cytologic follow-up after LEEP. **Acta Cyto**, v. 41, n. 3, p. 731-6, 1997.

HAWS, A.L.F. *et al.* Nested PCR with the PGMY09/11 and GP5+/6+ primer sets improves detection of HPV DNA in cervical samples. **J Virol Methods**, v. 122, p. 87-93, 2004

HAYFLICK, L. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. **Exp Cell Res**, v. 37, p. 614-36, Mar. 1965.

HEARD, I. *et al.* Increased risk of cervical disease among human immunodeficiency virus-infected women with severe immunosuppression and high human papillomavirus load. **Obstet Gynecol**, v. 96, n. 3, p. 403-9, 2000.

HERNARDI, Z. *et al.* Role of human papillomavirus (HPV) testing in the follow-up of patients after treatment for cervical precancerous lesions. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol**, Amsterdam, v. 118, n. 2, p. 229-234, 2005.

HERRERO, R. *et al.* New approaches to cervical cancer screening in Latin America and the Caribbean. **Vaccine**, v. 26, p. 149-58, 2008.

HIPPELAINEN, M.I. *et al.* Clinical course and prognostic factors of human papillomavirus infections in men. **Sex Transm Dis**, v. 21, p. 272-9, 1994.

HO, G.Y.F. *et al.* Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. **New Engl J Med**, v. 338, p. 423-8, 1998.

HO, G.Y. *et al.* Natural history of human papillomavirus type 16 virus-like particle antibodies in young women. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 13, p. 110-116, 2004.

HUBBARD, R.A. Human papillomavirus testing methods. **Arch Pathol & Laboratory Med**, v. 127, p. 940-945, 2003.

HUGHES S.A., SUN D., GIBSON C., BELLEROSE B., RUSHING L., CHEN H., HARLOW B.L., GENEST D.R., SHEETS E.E. & CRUM C.P., 2002. Managing atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS): human papillomavirus testing, ASCUS subtyping, or follow-up cytology? **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, 186:396-403.

IARC. INTERNATIONAL AGENCY OF RESEARCH ON CANCER. IARC monographs: a review of human carcinogens. Part B: biological agents: **Lancet Oncol**, v. 10, p. 321-2, 2009.

IARC. INTERNATIONAL AGENCY OF RESEARCH ON CANCER. **The evolution of carcinogenic risks to human papillomavirus**. Lyon: WHO; IARC, 2007. 636 p.

ICTV. INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES. Virus taxonomy. *In*: IITH REPORT OF THE INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES. **Anais...**, 2005. Disponível em: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>. Acesso em: abril de 2014.

ISAKA, K. *et al.* Establishment of a HPV and p53-mutations-negative human cell line (CA) derived from a squamous carcinoma of the uterine cervix. **Gynecol Oncol**, v. 92, p. 15-21, 2004.

JEMAL, A., BRAY F., CENTER MM, *et al* Global cancer cervical neoplasia implications for clinical care women at risk for both conditions. **CA Cancer J Clin** 2011;64:9

JENSON, A.B.; KURMAN, R.J.; LANCASTER, W.D. Tissue effects and host response to human papillomavirus infection. **Dermatol Clin**, v. 9, p. 203-209, 1991.

JULIATO, C.R.T., TEIXEIRA, J.C., DERCHAIN, S.F.M., BARBOSA, S.B., MARTINEZ, E. Z., PANETTA, K. *et al* Correlação entre o Diagnóstico Histológico da Biópsia e da Conização por Cirurgia de Alta Frequência por Alça (CAF) no Tratamento da Neoplasia Intra-Epitelial Cervical **RBGO**, 2000;22(2):65-70.

JOHNSON, N. *et al.* Predicting residual disease after excision of cervical dysplasia. **Br J Obstet Gynaecol**, Osney, v. 110, p. 952-955, 2003.

KANODIA, S. *et al.* Mechanisms used by human papillomaviruses to escape the host immune response. **Curr Cancer Drug Targets**, v. 7, p. 79-89, 2007.

KAPLAN, E.L.; MEIER, P. Nonparametric estimation from incomplete observations. **J Am Statist Assoc**, v. 53, p. 457-48, 1958.

KIM,M.L.,HAHN H.S.,LIM,K.T.,KIM,H.S.,HONG S.R.,et al. The safety of conization in the management of adenocarcinoma in situ of the uterine cervix. **J Gynecol Oncol**.2011;22(1):25-31.

KITCHENER, H.C.; CASTLE, P.E.; COX, J.T. Achievements and limitations of cervical cytology screening. Chapter 7, **Vaccine**, p. 663-670, 2006.

KITCHENER, H.C. *et al.* HPV testing in combination with liquid-based cytology in primary cervical screening: a randomised controlled Trial. **The Lancet Oncology**, v. 10, Issue 7, p. 672-682, July 2009.

KJELLBERG, L.; HALLMANS, G.; Smoking, diet, pregnancy and oral contraceptive use as risk factors for cervical intraepithelial neoplasia in relation to human papillomavirus infection. **Br J Cancer**, v. 82, n. 7, p. 1332, 2000.

KLINGELHUTZ, A.J.; FOSTER, A.S.; McDOUGALL, J.K. Telomerase activation by the E6 gene product of human papillomavirus type 16. **Nature** [Research Support ,US.Gov't,PHS], v. 380, n. 6569, p. 79-82, Marc. 1996.

KNIFE, D.M.; HOWLEY, P.M. Papillomaviruses. *In: Fields virology*. 5<sup>TM</sup>ed. Lippincott Williams &Wilkins, 2007.

KRUGER-, KJAER, S.; VAN DER BRULE, A.J.;SVARE,E.I. et al. Different risk factor patterns for high-grade and low-grade intraepithelial lesions on the cervix among HPV-positive and HPV-negative Young women. **Int J Cancer**.,76(5),p.613,1998.

LAMBERT B., BOIVIN Y. & LEPAGE Y., 1999. Atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS): clinical-cytological significance. **International Journal of Gynecologic Cancer**, 9:329-332.

LEFEVRE, J. *et al.* Human papillomavirus type 16 viral load is higher in human immunodeficiency virus-seropositive women with high-grade squamous intraepithelial lesions than in those with normal cytology smears. **J Clin Microbiol**, v. 42, n 5, v. 2212-5, 2004.

LEITÃO, M.M.; LANTE, P.; CRACCILOLO, B. Cervical câncer in patients infections with the human imunodeficiency vírus. **Cancer**, v. 112, n. 12, p. 2683-89, 2008.

LEVESQUE, M.C. *et al.* Polyclonal B cell differentiation and loss of gastrointestinal tract germinal centers in the earliest stages of HIV-1 infection. **PLoS.Med**, n. 6, p. e1000107, 2009.

LEVI, J.E. *et al.* High prevalence of human papillomavirus (HPV) infections and high frequency of multiple HPV genotypes in human immunodeficiency vírus-infected women in Brazil. **J Clin Microbiol**, (s.l.), v. 40, n. 9, p. 3341-5, set. 2002.

- LEVI, J.E. *et al.* Presence of multiple human papillomavirus types in cervical samples from HIV-infected women. **Gynecol Oncol**, v. 92, p. 225-31.1, 2004.
- LI, N. *et al.* Human papillomaviruses type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: variation by geographical region, histological type and year of publication. **Int J Cancer**, v. 128, p. 927-35, 2011.
- LI, X.; COFFINO, P. High-risk human papillomavirus E6 protein has two distinct binding sites within p53, of which only one determines degradation. **J Virol** (Research Support, US. Gov't P.H.S), v. 70, n. 7, p. 4509-16, Jul. 1996.
- LIMA, M.I.M. *et al.* Cervical intraepithelial neoplasia recurrence after conization in HIV-positive and HIV-negative women. **International Journal of Gynecology & Obstetrics**, v. 104, p. 100-104, 2009.
- LIMA, M.I.M. *et al.* Fatores de risco de recidiva de lesões intraepiteliais cervicais após conização por cirurgia de alta frequência em mulheres portadoras e não portadoras do vírus da imunodeficiência humana. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 28, n. 9: p. 536-44, 2006.
- LINDEQUE, B.G. Management of cervical premalignant lesions. **Best Pract & Res** (review), v. 19, n. 4, p. 545-61, Aug. 2005.
- LONGATTO-FILHO, A. HAMMES, L.S., SARIAN, L.O., ROTELI-MARTINS, C., DERCHAIN, S.F., ERZEN, M., *et al.* Hormonal contraceptive and length of their use are not independent risk factors for high-risk HPV infections or high-risk CIN. **Gynecol Obstet Invest**.2011;71(2):93-103.
- LUBRANO, A. *et al.* Follow-up for and follow-up of cervical cytology abnormalities: A systematic review. **Eur J of Obstet e Gynecol and Reproductive Biology**, March 161(1),71-74,2012
- MALUF PJ, ADAD SJ, MURTA EF. Outcome after conization for cervical intraepithelial neoplasia grade III: relation with surgical margins, extension to the crypts and mitoses. **Tumori** 2004; 90 (5): 473-7.
- MANDELBLATT, J.S. *et al.* Association between HIV infection and cervical neoplasia: implications for clinical care of women at risk for both conditions;6(2):133-137,1992
- MANOS, M.M. *et al.* Use of polymerase chain reaction amplification for the detection of genital human papillomaviruses. **Cancer Cells**, v. 7, p. 209-214, 1989.
- MANTHEWS; K.S. *et al.* Diagnostic loop electrosurgical excisional procedure for discrepancy: do preoperative factors presence of significant cervical intraepithelial neoplasia. **J Low Genit Tract Dis**, v. 11, n. 2, p. 69-72, Apr. 2007.
- MARTIN-HIRSCH, P.P. *et al.* Surgery for cervical intraepithelial neoplasia **Cochrane Database Syst Rev** [MetaAnalysis Review], n. 6, p. CD001318, 2010.

MAZIAH, A.M.; SHARIFAH, N.A.; YAHYA, A. Comparative study of cytologic and colposcopic findings in preclinical cervical cancer. **Malays J Pathol**, v. 13, p. 105-8, 1991.

MCKENZIE, N.D. *et al.* With are more coomonly infected With non-16 and non-18 hogh-risk HPV types. **Gynecol Oncol**, v.116, n. 3, p. 572-577,Mar. 2010.

McMURRAY, H.R. *et al.* Biology of human papillomaviruses. **Int J Exp Path**, v. 82, p. 15-33, 2001.

MELNIKOW, J. *et al.* Cervical intraepithelial neoplasia outcomes after treatment: long-term follow-up from the British Columbia Cohort Study. **J Natl Cancer Inst**, v. 101, n. 10, p. 721-8, 2009.

MOLIJN, A. *et al.* Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. **J Clin Virol**, v. 32, p. 43-51, 2005.

MONK, B.J.; TEWARI, K.S.; KOH, W.J. Multimodality therapy for locally advanced cervical carcinoma:state of the art and future directions. **J Clin Oncol**, 25(20)p.2952-2965,2007.

MORENO, V. *et al.* Effect of oral contraceptives on risk of cervical cancer in women with human papillomavirus infection: the IARC multicentric case-control study. **Lancet**, v. 359, p. 1085-92, 2002.

MOSCICKI, A.B. *et al.* Differences in biologic maturation,sexual behaviour, and sexually transmitted disease between adolescents with and wi.thout cervical intarepithelial neoplasia. **J Pediatr**, v. 115, p. 487-93, 1989.

MOSCICKI, A.B. *et al.* Updating the natural history of HPV and anogenital câncer. Chapter 5, **Vaccine**,v. 24, p. S42-51, 2006.

MOTOYAMA, S. *et al.* The role of human papiloma vírus in the molecular biology of cervical carcinogenesis. **Kobe J Med Sc**, v. 50, n. 1-20, p. 9-19, Jun. 2004.

MULLIS, K.B.; FALOONA, F.A. Specific synthesis of DNA in vitro via polymerase-catalyzed chain reaction. **Methods Enzimol**, v. 155, p. 335-50, 1987.

MUNK AC, KRUSE AJ, VAN DIERMEN B, JANSSEN EA, SKALAND I, GUDLAUGSSON E, et al Cervical intraepithelial neoplasia grade 3 lesions can regress. **APMIS** ; 115(12):1409-14,2007.

MUNOZ, N. *et al.* Epidemiologic classification of human papillomavirus types asociated with cervical cancer. **N Engl J Med**, v. 348, p. 518-27, 2003.

MUNOZ, N. *et al.* HPV in the etiology of human câncer. **Vaccine**, v. 24, n. 3, C. 1, p. 3-10, 2006.

- MUÑOZ, N. *et al.* The role of HPV in the etiology of cervical cancer. **Mutation Res**, Amsterdam, v. 305, p. 93-301, 1994.
- MUNOZ, N. Human papillomavirus and câncer: the epidemiological evidence. **J Clin Virol**, v. 19, p. 1-5, 2000.
- MURTA, E.F.C. *et al.* R. Importance of surgical margins in conization for cervical intraepithelial neoplasia grade III. **Arch Gynecol Obstet**, v. 263, p. 42-4, 1999.
- NADAL, S.R.; MANZIONE, C.R. Vacinas contra o papilomavírus humano. **Rev Bras Coloproctol**, v. 26, n. 3, p. 337-340, 2006.
- NERI, F. *et al.* CD4 downregulation by the human immunodeficiency virus type 1 Nef protein is dispensable for optimal output and functionality of viral particles in primary T cells. **J Gen Virol**, v. 92, p. 141-150, 2011.
- NORDENVALL, C. *et al.* o uso de snus e o risco de câncer de reto e de cólon, câncer retal e anal do lado esquerdo: um estudo de 37 anos de follow-up. **Int J Cancer**, v. 128, p. 157-165, 2011.
- OSTOR, A.G. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. **Int J Gynecol Pathol**, v. 12, p. 186-92, 1993.
- PALEFSKY, J.M.; HOLLY, E.A. Chapter 6: Immunosuppression and co-infection with HIV. **J Natl Cancer Inst Monogr**, n. 31, p. 41-6, 2003.
- PALO, G.C.W.; DEXEUS, S. **Patologia e tratamento do trato genital inferior**. 1. ed., Rio de Janeiro: Médica e Científica, 2002.
- PARASKEVAIDIS, E. *et al.* The role of HPV-DNA testing in the follow-up period after treatment for CIN: a systematic review of the literature. **Cancer Treat. Rev**, London, v. 30, n. 2, p. 205-211, 2004.
- PARASKEVAIDIS, E. *et al.* Cervical intraepithelial neoplasia outcomes after 90 large loop excision with clear margins. **Obstet. Gynecol**, New York, v. 95, n. 6, p. 828-831, 2000.
- PARHAM, D.M.; WIREDU, E.K.; HUSSEIN, K.A. The cytological prediction of cervical intraepithelial neoplasia in colposcopically directed biopsies. **Cytopathology**, v. 2, p. 285-90, 1991.
- PARKIN, D.M. *et al.* Global câncer statistic. **Cancer J Clin**, v. 55, n. 2, p. 74-108, Mar-Apr. 2005.
- PARK, W.; FUJIWARA, H.; WRIGHT, T.C. Molecular biology of cervical câncer and its precursor. **Cancer**, v. 76 (10Suppl), p. 902-13, Nov. 1995.
- PEYTON, C.L. *et al.* Comparison of PCR and hybrid Capture based human Papillomavirus detection systems using multiple cervical specimen collection strategies. **J Clin Microb**, v. 36, n. 11, p. 3248-3254, Nov. 1998.



PHELPS, W.C. *et al.* The human papillomavirus type 16.E7 incodes transactivation and transformation functions similar to those of adenovirus E1 A. **Cell** (comparative Study Research Support,US.Gov't P.H.S), v. 53, n. 4, p. 539-47, May 1998.

PINTO, A.P.; TULIO, S.; CRUZ, O.R. Cofatores do HPV na oncogênese cervical **Rev Ass Med Bras**, v. 48, n. 1, p. 73-78, 2002.

POWELL, N.G. *et al.* The risk of cervical cancer associated with specific types of human papillomavirus: a case control study in a UK population. **Int.J Cancer**, v. 128, p. 1676-82, 2011.

PRENDIVILLE, W.; CULLIMORE, J.; NORMAN, S. Large loop excision of the transformation zone (LLETZ). A new method of management for women with cervical intraepithelial neoplasia. **Br J Obstet Gynaecol**, v. 96, n. 9, p. 1054-60, Sep. 1989.

RACHID, M.;SCHECHTER, M. Manual de HIV – AIDS.6<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: **Revinter**, 2001 p.1-189.

RAMOZ, N. *et al.* Mutations in two adjacent novel genes are associated with epidermodysplasia verruciform. **Nature Genetics**, v. 32, p. 579-581, 2002.

RAPP, L.; CHEN, J.J. Papillomavirus E6 proteins. **Biochim Biophys Acta**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 8, p. 1-19, Aug. 1999.

RICHART, R.M. Cervical Intraepithelial neoplasia: a review. *In*: SOMMERS, S.C. (ed). **Pathology Annual**, p. 301-28,1973.

RITARI, J. *et al.* Detection of human papillomavirus by polymerase chain reaction and ligation on universal microarray. **PLoS One**, v. 7, n. 3, p. e34211, 2012.

ROUSSEAU,M.C.,J.S.,PEREIRA,J.C.,PRADO,L.L.,VILLA,T.E.,ROHAN e E.L. FRANCO.Cervical coinfection with human papillomavirus (HPV)types as a predictor of acquisition and persistence of HPV infection. **J Infect Dis.**2001,184(12):1508-17.

ROWHANI-RAHBAR, A. *et al.* The impact of HIV status and type on the clearance of human papillomavirus infection among Senegalese women. **J Infect Dis**, v. 196, n. 6, p. 887-94, 2007.

ROCHE.com [Internet]. LINEAR ARRAY<sup>®</sup> HPV Genotyping Test [cited 2012 Nov. 10]. Available from: [http://molecular.roche.com/assays/Pages/LINEARARRAYHPVG enotypingTest.aspx](http://molecular.roche.com/assays/Pages/LINEARARRAYHPVG%20genotypingTest.aspx).

RUSSOMANO, F. *et al.* HIV prevalence in women with cervical intraepithelial neoplasia. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexuais Transmissíveis**, v. 13, n. 2, p. 37-39, 2001.

SALUM, R. *et al.* Neoplasia intraepitelial cervical grau III: diagnóstico e tratamento de 94 casos. **Acta Oncol Bras**, São Paulo, v. 15, n. 2, p. 71-5, mar./abr. 1995.

SANJOSE, S. *et al.* Retrospective International Survey and HPV Time Trends Study Group. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. **Lancet Oncol**, v. 11, p. 1048-56, 2010.

SANKARANARAYANAN, R. *et al.* Screening for cervical cancer in rural India. **N Engl J Med**, v. 360, p. 1385-94, 2009.

SARASRABUDDHE, V.V. *et al.* Prevalence and distribution of HPV genotypes among HIV-infected women in Zambia. **Br J Cancer**, v. 96, p. 1480-1483, 2007.

SASLOW, D. *et al.* American Cancer Society. Sociedade Americana de Colposcopia e Patologia Cervical e Sociedade Americana de diretrizes de rastreamento de patologia clínica para a prevenção e detecção precoce do câncer cervical. **CA Cancer J Clin**, v. 62, p. 147-72.93, 2004.

SAUNDERS, N., ANDERSON D, GILBERT L, SHARP F. Unsatisfactory colposcopy and response to orally administered oestrogen: a randomized double blind placebo controlled trial. **Br J Obstet Gynaecol**. 2009 Aug;97(8):731-3.

SCHEURER, M.E.; TORTOLERO-LUNA, G.; ADLER-STORTHZ, K. Human papilloma virus infection: biology, epidemiology, and prevention. **Int J Gynecol Cancer**, v. 15, p. 727-746, 2005.

SCHIFFMAN BAUER, H.M. *et al.* Epidemiologic evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia. **J Natl Cancer Inst**, Bethesda, v. 85, n. 12, p. 958-964, 1993.

SHEW, M.L. *et al.* Interval between menarche and first sexual intercourse, related to risk of human papilloma virus infection. **J Pediatr**, v. 125, p. 661-6, 1994.

SHEW, M.L. *et al.* Association of condom use, sexual behaviors, and sexually transmitted infections with the duration of genital human papillomavirus infection among adolescent women. **Arch Pediatr Adolesc Med**, v. 160, (S1), n. 2, p. 151-6, 2006.

SILVA, A.G.; RODRIGUES, A.G.A. Prevalência de infecção do colo do útero pelo HPV no Brasil: revisão sistemática. **Rev. Saúde Pública**; v.44(5):p.963-74, 2010

SMITH, J.S. *et al.* Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. **Int J Cancer**, v. 121, n. 3, p. 621-32, Aug. 2007.

SNIJDERS, P.J.F. *et al.* The use of general primers in the polymerase chain reaction permits the detection of a broad spectrum of human papillomavirus genotypes. **J Gen Virol**, v. 71, p. 173-181, 2001.

SOLOMON, D. *et al.* The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. **JAMA**, v. 287, p. 2114-9, 2002.

SOUTHERN, E.M. Detection of specific sequences among DNA fragments separate by gel electrophoresis. **J Mol Biol**, v. 98, n. 3, p. 503-517, Nov. 1975. .

SOUTO,R.M..FALHANI,J.P.B. *et al.* O Papilomavírus Humano:um fator relacionado com a formação de neoplasias.**Revista Brasileira de Cancerologia**;51(2):155-160,2005.

SOUZA,S.S,CASTRO,F.A.,MENDONÇA,H.C.,PALMA,P.V.,MORAIS,F.R.,FERRIA NI,R.A. *et al.*Influence of menstrual cycle on NK activity. **J Reprod Immunol**.2001 May;50(2):151-9.

STANLEY, M.A. Immunobiology of papillomavirus infections. **J Reprod Immunol**, v. 52, p. 45-59, 2001.

STANLEY, M.A. Pathology and epidemiology of HPV infection in females. **Gynecol Oncol**, v. 117 (2Suppl), p. S5-10, May 2010.

STANLEY, M.A. The immunology of genital human papilloma vírus infection. **Eur J Dermatol**, v. 8 (7 Suppl), p. 8-1, 1998.

STOLER, M.H. Human papillomavirus biology and cervical neoplasia. **Arch Pathol & Lab Med**, v. 127, p. 935-939, 2003.

STUBENRAUCH, F.; LAIMINS, L.A. Human papillomavirus life cycle: active and latent phases. **Sem Cancer Biol**, v. 9, n. 6, p. 379-386, Dec. 1999.

SUN, X. *et al.* Human papillomavirus infection in women infected with the human immunodeficiency virus. **N Engl J Med**, v. 337, n. 19, p. 1343-9, 1997.

SZOSTEK, S. *et al.* Detection of human papillomavirus in cervical cell specimens by hybrid capture and PCR with different primers. **Acta Biochim Polon**, v. 53, n. 3, p. 603-607, 2006.

TEIXEIRA, J.C. *et al.* Avaliação do parceiro sexual e risco de recidivas em mulheres tratadas por lesões genitais induzidas por papilomavírus humano (HPV). **Rev Bras Ginecol Obstet**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 5, p. 315-320, 2002.

TENNER-RACZ, K. *et al.* Ultrastructural analysis of germinal centers in lymph nodes of patients with HIV-1-induced persistent generalized lymphadenopathy: evidence for persistence ofinfection. **Prog. AIDS Pathol**, v. 1, p. 29-40, 1989.

TORNESELLO, M.L. *et al.* Human papillomavirus (HPV) genotypes and HPV16 variants in human immunodeficiency virus-positive italian women. **J Gen Virol**, v. 89, n. 6, p. 1380-9.

TULIO, S. *et al.* Relação entre a carga viral de HPV oncogênico determinada pelo método de captura híbrida e o diagnóstico citológico de lesões de alto grau. **J Bras Patol Med Lab**, v. 43, n. 1, p. 31-35, fev. 2007.

VACCARRELLA, S., Herrero R., Dial M., Sniijders P.J., Meijer C.J, Thomas J.O.,*et al.* Reproductive factors, oral contraceptives use, and human papillomavirus infection:pooled analysis of the IARC HPV prevalence surveys. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.**;15(11):2148-53,2006.

VERGUTS, J. *et al.* Prediction of recurrence after treatment for high-grade cervical intraepithelial neoplasia: the role of human papilomavirus testing and age at conisation. **Gen Gynaecology**, v. 113, p. 1303-1307, Sep. 2006.

VERNON,S.D. *et al.* HIV and human papillomavirus as independent risk factors for cervical neoplasia in women with high or low numbers of Sex partners. Saint Louis: **Sex Transm Infect.**,75(4):258-60,1999.

VIDAL, F.C.B. *et al.*Análise crítica dos métodos moleculares para detecção do papilomavírus humano:revisão da literatura. **Femina** v.40(5)p.266-267.2012

WALBOOMERS, J.M.M. *et al.* Human papilomavirus is a necessary cause of invasive cervical câncer worldwide. **J Pathol**, v. 189, p. 12-9, 1999.

WEISSENBORN, S.J. *et al.* Oncogenic human papillomavirus DNA loads in human immunodeficiency virus-positive women with high-grade cervical lesions are strongly elevated. **J Clin Microbiol**, v. 41, n. 6, p. 2763-7, 2003.

WHO/ICO. Information Centre on HPV and Cervical Cancer. HPV and cervical cancer in the 2007 report. **Vaccine**, v. 25 (Suppl 3), p. C1-230, 2007.

WIELAND, U. *et al.* Erythroplasia of queyrat: coinfection with cutaneous carcinogenic human papillomavirus type 8 and genital papillomaviruses in a carcinoma in situ. **J Invest Dermatol**, v. 115, n. 3, p. 396-401, 2000.

WIELAND, U.; PFISTER, H. Papillomaviruses in human pathology: epidemiology, pathogenesis and oncogenic role. *In*: GROSS, G.E.; BARRASSO, R. **Human papillomavirus infection: a clinical atlas**. 1st Ed. Ulstein Mosby. Wiesbaden, p. 1-20, 1997.

WINER, R.L. *et al.*, Genital human papillomavirus infection:incidence and risk factors in a cohort of female university students. **Am J Epidemiol**, v. 357, n. 9271, p. 1831-6, Jun.2001.

WRAMMERT, J.; AHMED, R. Maintenance of serological memory. **Biol Chem**, V. 389, p. 537-539, 2008.

WOODMAN, C.B.; COLLINS ,S.I.; YOUNG, L.S. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. **Nat Rev Cancer**, v. 7, n.1, p.11-22, 2007.

WRIGHT JR., T.C. *et al.* 2006 Consensus guidelines for management of women with abnormal cervical cancer screening test, *Am J Obst Gynecol* [consensus Development Conference, NIH Research Support, N US, Gov't Review]. v. 197, n. 4, p. 346-55, Oct. 2007.

YLITALO, N.A., JOSEFSSON, M., MELBYE, P., SORENSEN, M., FRISCH, P.K., ANDERSEN, P., SPAREN, M., GUSTAFSSON, P., MAGNUSSON, J., PONTEN, U., GYLLENSTEN e H.O. ADAMI. A prospective study showing long-term infection with human papillomavirus 16 before the development of cervical carcinoma in situ. **Cancer Res.**, v. 60(21):p. 6027-32., 2000.

17

ZUR HAUSEN, H. Human papillomaviruses in the pathogenesis of anogenital cancer. **Virology**, San Diego, v. 184, p. 9-13, 1991.

ZUR HAUSEN. Molecular pathogenesis of cancer of the cervix and its causation by specific human papillomavirus types. *In: Human Papilloma Viruses* **Human pathogenic** v.48:p. 427-447. 1994

## **ANEXOS E APÊNDICES**

### **ANEXO A - CLASSIFICAÇÃO CITOLÓGICA DE BETHESDA 2001**

- Adequação das lâminas:

Satisfatória

Insatisfatória

- Dentro dos limites da normalidade

- Alterações celulares benignas (reativas)

- Anormalidades em células epiteliais

- Em células escamosas

1- ASCUS – Atipias celulares de grau indeterminado

2- LSIL – Lesão intraepitelial de baixo grau – condilomas e NIC 1

3- HSIL – Lesão intraepitelial de alto grau – NIC 2 e 3

4- Carcinoma de células escamosas

- Em células glandulares

1- AGUS – Atipias em células glandulares de grau indeterminado

2- Adenocarcinoma

**ANEXO B – PARECER ÉTICO**

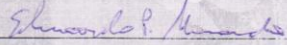
**Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte**  
**Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos**

Parecer: 0007.0.410.000-1 A

Pesquisador: Maria Inês de Miranda Lima

O Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte – CEP/SMSA/BH aprovou em 21 de julho de 2011, o projeto de pesquisa intitulado “AVALIAÇÃO DOS FATORES DE RISCO PARA RECIDIVA DA NEOPLASIA INTRA-EPITELIAL CERVICAL APÓS CIRURGIA DE ALTA FREQUÊNCIA”, bem como seu Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao CEP um ano após início do projeto ou ao final deste, se em prazo inferior a um ano.

  
Eduardo Prates Miranda  
Coordenador Adjunto do CEP/SMSA/BH

17-12-1893 BELO HORIZONTE 12-12-1897

Avenida Afonso Pena, 2336, 9º andar. Funcionários - Belo Horizonte. 30.130-007 - MG.  
[coep@pbh.gov.br](mailto:coep@pbh.gov.br) TEL.: (31) 3277-5309 FAX: (31) 3277-7768



MINISTÉRIO DA SAÚDE  
Conselho Nacional de Saúde  
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS				FR - 413159	
Projeto de Pesquisa Avaliação dos fatores de risco para recidiva da neoplasia intra-epitelial cervical após cirurgia de alta frequência					
Área de Conhecimento 4.00 - Ciências da Saúde - 4.01 - Medicina - Preve.				Grupo Grupo III	Nível Prevenção
Área(s) Temática(s) Especial(s)				Fase Não se Aplica	
Unitermos neoplasia intra-epitelial cervical, cirurgia de alta frequência, recidiva					
<b>Sujeitos na Pesquisa</b>					
Nº de Sujeitos no Centro 160	Total Brasil 160	Nº de Sujeitos Total 160	Grupos Especiais		
Placebo NAO	Medicamentos HIV / AIDS NÃO	Wash-out NÃO	Sem Tratamento Específico NÃO	Banco de Materiais Biológicos NÃO	
<b>Pesquisador Responsável</b>					
Pesquisador Responsável maria ines de miranda lima			CPF 333.634.556-15	Identidade m729999	
Área de Especialização GINECOLOGIA- PATOLOGIA DO COLO			Maior Titulação DOUTORADO	Nacionalidade BRASILEIRA	
Endereço RUA MANOEL TEIXEIRA DE SALES, 35			Bairro MANGABEIRAS	Cidade BELO HORIZONTE - MG	
Código Postal 30210-130	Telefone 32819909 / 3225-4219	Fax 32819828	Email mariaineslima@terra.com.br		
<b>Termo de Compromisso</b>					
Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não.					
Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima.					
Data: ____/____/____			Assinatura		
<b>Instituição Proponente</b>					
Nome PREFEITURA MUNICIPAL DE BELO HORIZONTE		CNPJ 18.715.383/0001-40	Nacional/Internacional Nacional		
Unidade/Órgão Unidade Referencia Secundária Sagrada Família		Participação Estrangeira NÃO	Projeto Multicêntrico NÃO		
Endereço AV AFONSO PENA, Nº 1212		Bairro CENTRO	Cidade Belo Horizonte - MG		
Código Postal 30130003	Telefone 31 32779534	Fax	Email smsa@pbh.gov.br		
<b>Termo de Compromisso</b>					
Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução.					
Nome: <u>Taciana Matheus de Carvalho</u>			Assinatura		
Data: <u>31/05/2011</u>			Assinatura		

O Projeto deverá ser entregue no CEP em até 30 dias a partir de 27/03/2011. Não ocorrendo a entrega nesse prazo esta Folha de Rosto será INVALIDADA.

⊙ Voltar

IMPRIMIR



## **ANEXO C - Terminologia colposcópica aprovada pela *Federation for Cervical Pathology and Colposcopy* (IFCPC)**

Atualmente, utilizamos uma terminologia colposcópica aprovada pela *Federation for Cervical Pathology and Colposcopy* (IFCPC) no XI Congresso Mundial em Barcelona.

### Nomenclatura de Aspectos Colposcópicos – Barcelona 2002

#### I. Achados colposcópicos normais:

Epitélio escamoso original

Epitélio glandular

Zona de Transformação

#### II. Achados colposcópicos anormais:

Epitélio acetobranco plano

Epitélio acetobranco denso

Mosaico fino

Mosaico grosseiro

Pontilhado fino

Pontilhado grosseiro

Iodo parcialmente positivo

Iodo-negativo

Vasos atípicos

#### III. Alterações colposcópicas sugestivas a câncer invasivo

#### IV. Colposcopia insatisfatória:

Junção escamocolunar não visível

Inflamação grave, atrofia grave, trauma, cérvix não visível

#### V. Miscelânea:

Condiloma                      Atrofia

Queratose                      Decidua

Erosão                          Pólipo

Inflamação

Nesta classificação, o termo leucoplasia foi substituído por queratose.

Identificar a junção escamocolunar (JEC) é condição obrigatória para classificar a colposcopia como satisfatória.

A zona de transformação é a região que vai desde o epitélio escamoso original até o glandular e pode variar de acordo com a idade da mulher. É nessa região que ocorre a maioria das lesões HPV induzidas.

Passam a ser definidos três tipos de zona de transformação:

- a) Tipo 1: a zona de transformação é completamente ectocervical e completamente visível, e pode ser pequena ou grande.
- b) Tipo 2: a zona de transformação tem um componente endocervical totalmente visível e pode ter um componente ectocervical que pode ser pequeno ou grande.
- c) Tipo 3: a zona de transformação tem um componente endocervical que não é completamente visível e pode ter um componente ectocervical pequeno ou grande.

## **ANEXO D - Estadiamento para câncer do colo uterino atualizado em 2009**

### **ESTADIAMENTO DO CÂNCER DO COLO UTERINO**

#### **Estádio I – Tumor restrito ao colo sem extensão ao corpo uterino**

IA Tumor invasivo somente diagnosticado por microscopia com invasão < 5 mm e extensão < 7 mm.

IA1 – Invasão estromal < 3 mm e extensão < 7 mm.

IA2 – Invasão estromal entre 3 e 5 mm e extensão < 7 mm.

IB Tumor clinicamente visível limitado ao colo ou tumores pré-clínicos > estágio IA.

IB1 – Tumor clinicamente visível < 4 cm em seu maior diâmetro.

IB2 – Tumor clinicamente visível > 4 cm em seu maior diâmetro.

#### **Estádio II – Tumor invadindo o útero, mas não a parede pélvica ou terço inferior da vagina**

IIA Não há invasão parametrial

IIA1 – Tumor clinicamente visível < 4 cm em seu maior diâmetro

IIA2 – Tumor clinicamente visível > 4 cm em seu maior diâmetro

IIB Tumor com invasão parametrial

#### **Estádio III – Tumor com extensão à parede pélvica e/ou compromete o terço inferior da vagina e/ou causa hidronefrose ou rim não funcionante**

IIIA Tumor invade terço inferior da vagina sem extensão à rede pélvica

IIIB Extensão à parede pélvica e/ou hidronefrose ou rim não funcionante

#### **Estádio IV – Tumor estende-se além da pelve ou invade a mucosavesical ou do reto**

IVA Extensão a órgãos adjacentes

IVB Extensão a órgãos a distância

## **APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Estamos convidando você a participar da investigação no projeto de pesquisa **“Avaliação dos fatores de risco para recidiva da neoplasia intraepitelial cervical após conização com cirurgia de alta frequência”**.

As pacientes que foram submetidas à conização do colo uterino por apresentarem neoplasia intraepitelial cervical necessitam de seguimento criterioso a cada seis meses, seguindo protocolo para identificar recidiva e possibilitar novo tratamento.

Nosso objetivo é verificar a frequência de recidiva e fatores que se relacionam a esse evento, epidemiológicos, imunológicos e da peça cirúrgica.

Essas informações serão usadas para melhorar o acompanhamento e tratamento das lesões do colo do útero, prevenindo o câncer. Caso sua opção seja por não participar deste trabalho, o tratamento será o mesmo, apenas seus dados não serão incluídos.

Se você decidir participar deste estudo, você deverá assinar este documento, autorizando-nos a coletar dados dos exames realizados anteriormente. Será realizada uma avaliação atual do colo, com coleta de citologia, colposcopia e coleta de amostra cervical para detecção e tipagem do HPV. Também poderá ser solicitada uma tipagem de HIV.

### **Quantas mulheres participarão deste estudo?**

Necessitaremos em torno de 160 pacientes para o estudo.

### **Quais são os riscos deste estudo?**

Não há riscos. Você não será submetida a qualquer novo procedimento médico, estará fazendo a rotina de sua doença acrescida da pesquisa do HPV no colo. Um dos objetivos é verificar se ocorreu desaparecimento do vírus após a conização.

**HÁ BENEFÍCIOS AO PARTICIPAR DESTE ESTUDO?**

Sim. As informações obtidas ajudarão os médicos a conhecerem mais sobre o tratamento das lesões pré-malignas do colo do útero. Pretende-se saber se há associação do vírus HPV e o risco de recidiva da neoplasia intraepitelial do colo.

**Confidencialidade**

As informações dos prontuários médicos são confidenciais e só serão utilizadas por profissionais que trabalham neste estudo e os resultados poderão ser publicados em revista médica. Entretanto, você não será identificado em alguma publicação.

Eu li este termo de consentimento (ou alguém o explicou para mim), todas as minhas perguntas foram respondidas e concordo em participar deste estudo. Estou ciente de que posso sair a qualquer momento sem perder o direito de receber os cuidados médicos que meu caso exige.

Nome do paciente

Data ----/----/-----

Pesquisadora

Dr<sup>a</sup>. Helena Rabelo Castro Meira

Orientadora da Pesquisa

Prof. Dr<sup>a</sup>. Maria Ines de Miranda Lima

## APÊNDICE B - FORMULÁRIO DE PESQUISA

### Avaliação dos fatores de risco para recidiva da neoplasia intraepitelial cervical após cirurgia de alta frequência”

- 1- Número de ordem:
- 2- Local de atendimento:
  - 1- Sagrada Família
  - 2- Mário Pena
- 3- Prontuário: \_\_\_\_\_
- 4- Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
- 5- Data da primeira consulta: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
- 6- Nome: \_\_\_\_\_
- 7- Endereço: \_\_\_\_\_
- 8- Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
- 9- Idade primeira consulta: \_\_\_\_
- 10- Estado civil:
  - 1- ( ) solteira/separada/divorciada
  - 2- ( ) casada/união estável
  - 3- ( ) viúva
  - 4- ( ) outro
- 11- Tipo de trabalho
  - 1- ( ) do lar
  - 2- ( ) fora do lar
  - 3- ( ) profissionais do sexo
  - 9- ( ) ignorado
- 12- Tabagismo
  - 1- ( ) sim
  - 2- ( ) não
  - 3- ( ) ex- tabagista
  - 9- ( ) Ignorado
- 13- Início de atividade sexual : \_\_\_\_ anos
- 14- Número de parceiros
  - 1- ( ) Um
  - 2- ( ) Entre dois e 5
  - 3- ( ) > 5 parceiros
- 15- Gesta: \_\_\_\_\_
- 16- Para: \_\_\_\_\_
- 17- Aborto: \_\_\_\_\_
- 18- Portadora do vírus HIV
  - 1- ( ) SIM
  - 2- ( ) NÃO
- 19- Motivo da consulta
  - 1- ( ) alteração citológica
  - 2- ( ) citologia normal e schiller positivo
  - 3- ( ) alteração biópsia
- 20- Data da Citologia: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

- 21- Resultado da citologia
- 1- ( ) Dentro dos limites da normalidade
  - 2- ( ) Mudanças reativas ou reparativas
  - 3- ( ) Alterações citopáticas sugestivas de HPV
  - 4- ( ) ASCUS
  - 5- ( ) LSIL
  - 6- ( ) HSIL
  - 7- ( ) AGC
  - 8- ( ) Carcinoma de células escamosas
  - 9- ( ) Adenocarcinoma
  - 10- ( ) Aguardando resultado
  - 11- ( ) não informado
- 22- Colposcopia
- 1-( ) normal
  - 2-( ) alterada
- 23- Resultado da biópsia
- 1- ( ) Cervicite
  - 2- ( ) NIC1
  - 3- ( ) NIC2
  - 4- ( ) NIC3
  - 5- ( ) Cervicite com HPV
  - 6- ( ) Carcinoma invasor
  - 7- ( ) Adenocarcinoma
  - 8- ( ) Aguarda biópsia
  - 9- ( ) Biópsia não realizada
- 24- Data da CAF: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_
- 25- Anatomopatológico da CAF
- 1-( ) Cervicite
  - 2-( ) NIC1
  - 3-( ) NIC2
  - 4-( ) NIC3
  - 5-( ) Cervicite com HPV
  - 6-( ) Microcarcinoma
  - 7-( ) Adenocarcinoma
  - 8-( ) Carcinoma invasor
- 26- Sinais histopatológicos do HPV
- 1-( ) Sim
  - 2-( ) Não
  - 3-( ) não avaliada
- 27- Margens da CAF
- 1-( ) Livre
  - 2-( ) Comprometida
  - 3-( ) Não avaliada
- 28- Ocupação glandular
- 1- ( ) Sim
  - 2- ( ) Não
  - 3- ( ) não avaliada
- 29- Tipagem de HPV pré- CAF
- 1- ( ) ALTO RISCO
  - 2- ( ) BAIXO RISCO

- 3- ( ) AMBOS
- 4- ( ) não avaliada

**Finalização**

- 30- Número de consultas de retorno: \_\_\_\_
- 31- Data da última consulta: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
- 32- Amostra cervical para HPV-
  - 1- ( ) positivo
  - 2- ( ) negativo
  - 3- ( ) inibidora
  - 9- ( ) ignorado
- 33- HPV 6
  - 1- ( ) sim
  - 2- ( ) não
  - 9- ( ) ignorado
- 34- HPV 11
  - 1- ( ) sim
  - 2- ( ) não
  - 9- ( ) ignorado
- 35- HPV 16
  - 1- ( ) sim
  - 2- ( ) não
  - 9- ( ) ignorado
- 36- HPV 18
  - 1- ( ) sim
  - 2- ( ) não
  - 9- ( ) ignorado
- 37- HPV 31
  - 1- ( ) sim
  - 2- ( ) não
  - 9- ( ) ignorado
- 38- HPV 33
  - 1- ( ) sim
  - 2- ( ) não
  - 9- ( ) ignorado
- 39- HPV 35
  - 1- ( ) sim
  - 2- ( ) não
  - 9- ( ) ignorado
- 40- Outros tipos
  - 1- ( ) sim
  - 2- ( ) não
  - 9- Ignorado (não foi pesquisado)
- 41- Outros tipos: \_\_\_\_\_
- 42- Data da PCR: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
- 43- Risco viral do HPV-
  - 1- ( ) Baixo risco
  - 2- ( ) Alto risco
  - 3- ( ) Ambos
  - 9- ( ) Ignorado



- 44- Multiplicidade do HPV  
 1- ( ) somente um tipo  
 2- ( ) dois tipos  
 3- ( ) três tipos  
 4- ( ) quatro tipos ou mais  
 9- ( ) Ignorado
- 45- Mudança de parceiro após a CAF  
 1- ( ) sim  
 2- ( ) não  
 9- ( ) ignorado
- 46- Ocorrência de recidiva  
 1- ( ) sim  
 2- ( ) não

### QUESTIONÁRIO DA RECIDIVA

#### Primeira recidiva

- 46- Data da recidiva ----/-----/-----
- 47- Citologia da recidiva  
 1- ( ) normal  
 2- ( ) alterada
- 48- Colposcopia  
 1- ( ) normal  
 2- ( ) alterada
- 49- Biópsia  
 1- ( ) cervicite  
 2- ( ) NIC1  
 3- ( ) NIC2  
 4- ( ) NIC3  
 5- ( ) cervicite com HPV  
 6- ( ) carcinoma invasor  
 7- ( ) Adenocarcinoma  
 8- ( ) aguarda biópsia  
 9- ( ) biópsia não realizada
- 50- Data da CAF recidiva ----/-----/---
- 51- Anatomopatológico CAF recidiva  
 1- ( ) cervicite  
 2- ( ) NIC1  
 3- ( ) NIC2  
 4- ( ) NIC3  
 5- ( ) cervicite com HPV  
 6- ( ) microcarcinoma  
 7- ( ) Adenocarcinoma  
 8- ( ) carcinoma invasor
- 52- Sinais histopatológicos do HPV  
 1- ( ) Sim  
 2- ( ) Não

3- ( ) não avaliada

53- Margens da CAF

1- ( ) livre

2- ( ) comprometida

3- ( ) não avaliada

54- Ocupação glandular

1- ( ) sim

2- ( ) não

3- ( ) não avaliada

## SEGUNDA RECIDIVA

55 - Data da recidiva ----/-----/-----

56- Citologia da recidiva

3- ( ) normal

4- ( ) alterada

57- colposcopia

3- ( ) normal

4- ( ) alterada

58- Biópsia

1- ( ) cervicite

2- ( ) NIC1

3- ( ) NIC2

4- ( ) NIC3

5- ( ) cervicite com HPV

6- ( ) carcinoma invasor

7- ( ) adenocarcinoma

8- ( ) aguarda biópsia

9- ( ) biópsia não realizada

59- Data da CAF recidiva ----/----/---

60- Anatomopatológico CAF recidiva

1- ( ) cervicite

2- ( ) NIC1

3- ( ) NIC2

4- ( ) NIC3

5- ( ) cervicite com HPV

6- ( ) microcarcinoma

7- ( ) adenocarcinoma

8- ( ) carcinoma invasor

61- Sinais histopatológicos do HPV

1- ( ) Sim

2- ( ) Não

3- ( ) não avaliada

62- Margens da CAF

1- ( ) livre

2- ( ) comprometida

3- ( ) não avaliada

63- Ocupação glandular

- 1- ( ) sim
  - 2- ( ) não
  - 3- ( ) não avaliada
- 64- Terceira recidiva
- 1- ( ) sim
  - 2- ( ) não

### **PACIENTES HIV-POSITIVO**

#### **Avaliação dos fatores de risco para recidiva da neoplasia intra-epitelial cervical após cirurgia de alta frequência”**

- 65- Uso de medicamentos anti-retrovirais :
- 1- ( ) Sim
  - 2- ( ) não
  - 3- ( ) uso temporário
  - 4- ( ) ignorado
- 65- Sorologia positiva:
- 1- ( ) menos de 1 ano
  - 2- ( ) entre 2 e 5 anos
  - 3- ( ) acima de 5 anos
- 66- Forma de contágio:
- 1- ( ) sexual
  - 2- ( ) sangue
  - 3- ( ) transmissão vertical
  - 4- ( ) usuária de drogas
  - 9- ( ) ignorado
- 67- Data da dosagem de CD4 ----/----/----
- 68- Resultado numérico de CD4 -----
- 69- Contagem de células T CD4<sup>+</sup>-
- 1- ( ) < 200
  - 2- ( ) entre 200 e 500
  - 3- ( ) > 500
- 70- Doença indicadora de AIDS
- 1- ( ) sim
  - 2- ( ) não
  - 3- ( ) ignorado
- 71- Data da dosagem da carga viral ----/--/---
- 72 - Resultado numérico da carga viral -----
- 73- Classificação da carga viral
- 1- ( ) < 50 cópias /mL,
  - 2- ( ) < 400 cópias/mL ou 2,6 log
  - 3- ( ) de 401 a 50.000 cópias/mL ou 4,7 log
  - 4- ( ) > 50.000 cópias/mL ou > 4,70 log

### **PRIMEIRA RECIDIVA**

- 74 - Data dosagem do CD4 --- /---- /----
- 75 - CD4 próximo até 4 meses da CAF da recidiva -----
- 76- CD4
- 1- ( ) < que 200
  - 2- ( ) entre 200 e 500
  - 3- ( ) > que 500

77 - Data da carga viral --- / ---- /-----

78 - Valor da carga viral -----

79 - Classificação da carga viral

1- ( ) < 50 copias /mL

2- ( ) < 400 cópias/mL ou 2,6 log

3- ( ) de 401 a 50.000 cópias/mL ou 4,7 log

4- ( ) > 50.000 cópias/mL ou > 4,70 log

80 - Evolução clínica da paciente -----

### **SEGUNDA RECIDIVA HIV-POSITIVO**

81- Data dosagem do CD4 / /

82- CD4 próximo até 4 meses da CAF da recidiva -----

83 - CD4

1- ( ) < que 200

2- ( ) entre 200 e 500

3- ( ) > que 500

84- Data da carga viral --- /---- /-----

85- Valor da carga viral -----

86- Classificação da carga viral

1- ( ) < 50 copias /mL,

2- ( ) < 400 cópias/mL ou 2,6 log

3- ( ) de 401 a 50.000 cópias/mL ou 4,7 log

4- ( ) > 50.000 cópias/ml ou > 4,70 log

## APÊNDICE C - Resultados

TABELA 9 - Estimativa de Kaplan-Meier: tempo até a recidiva - continua

Tempo	Nº de indivíduos sob risco	Nº de falhas	Probabilidade de Sobrevivência	Desvio-Padrão	IC 95%	
					Inferior	Superior
0	287	1	1.00	0.003	0.99	1.00
3.19	285	1	0.99	0.005	0.98	1.00
3.52	284	1	0.99	0.006	0.98	1.00
3.75	283	1	0.99	0.007	0.97	1.00
3.84	282	1	0.98	0.008	0.97	1.00
3.94	281	1	0.98	0.008	0.96	1.00
4.37	280	2	0.97	0.010	0.95	0.99
5.12	273	1	0.97	0.010	0.95	0.99
5.75	264	1	0.97	0.011	0.94	0.99
6.21	253	1	0.96	0.012	0.94	0.98
6.83	243	1	0.96	0.012	0.93	0.98
7.06	240	1	0.95	0.013	0.93	0.98
7.42	232	1	0.95	0.013	0.92	0.98
7.56	228	1	0.95	0.014	0.92	0.97
8.02	222	1	0.94	0.014	0.91	0.97
8.05	221	1	0.94	0.015	0.91	0.97
8.15	220	1	0.93	0.016	0.90	0.96
8.28	219	1	0.93	0.016	0.90	0.96
8.31	218	2	0.92	0.017	0.89	0.95
8.48	213	1	0.92	0.017	0.88	0.95
8.87	210	1	0.91	0.018	0.88	0.95
8.97	208	1	0.91	0.018	0.87	0.94
9.63	206	1	0.90	0.019	0.87	0.94
9.82	203	1	0.90	0.019	0.86	0.94
10.32	199	1	0.89	0.020	0.86	0.93
10.35	197	1	0.89	0.020	0.85	0.93
11.37	194	2	0.88	0.021	0.84	0.92
11.4	192	1	0.88	0.021	0.83	0.92
11.76	189	1	0.87	0.022	0.83	0.91
12.19	186	2	0.86	0.022	0.82	0.91
12.22	184	1	0.86	0.023	0.81	0.90
12.39	182	1	0.85	0.023	0.81	0.90
13.04	175	1	0.85	0.023	0.80	0.89
13.14	173	1	0.84	0.024	0.80	0.89
13.5	171	1	0.84	0.024	0.79	0.89
13.6	170	1	0.83	0.025	0.79	0.88
13.76	169	1	0.83	0.025	0.78	0.88
15.18	163	2	0.82	0.026	0.77	0.87
15.44	161	1	0.81	0.026	0.76	0.86
15.77	156	1	0.81	0.026	0.76	0.86
16.23	154	1	0.80	0.027	0.75	0.86
18.17	145	2	0.79	0.027	0.74	0.85
19.28	138	1	0.78	0.028	0.73	0.84
19.78	133	1	0.78	0.028	0.73	0.84
20.11	132	1	0.77	0.029	0.72	0.83
21.75	122	1	0.77	0.029	0.71	0.83
22.63	120	1	0.76	0.030	0.70	0.82
22.67	119	1	0.75	0.030	0.70	0.81

23.46	115	1	0.75	0.030	0.69	0.81
23.69	112	1	0.74	0.031	0.68	0.80

TABELA 9 - Estimativa de Kaplan-Meier – Tempo até a recidiva - conclui

Tempo	N° de indivíduos sob risco	N° de falhas	Probabilidade de Sobrevivência	Desvio-Padrão	IC 95%	
					Inferior	Superior
26.68	98	1	0.73	0.031	0.67	0.80
27.56	94	1	0.73	0.032	0.67	0.79
28.71	87	1	0.72	0.033	0.66	0.78
29.37	84	1	0.71	0.033	0.65	0.78
32	73	1	0.70	0.034	0.63	0.77
34.66	66	1	0.69	0.035	0.62	0.76
47.8	47	1	0.67	0.038	0.60	0.75
52.69	41	1	0.66	0.040	0.58	0.74

O histograma do tempo de acompanhamento é apresentado no GRÁF. 7. Observam-se elevadas frequências de pacientes com tempo até 12 meses.

O *box-plot* do tempo de acompanhamento é apresentado no GRÁF. 8. Interpretando, tem-se que 25% dos pacientes apresentaram tempo inferior a 8,4 meses (1º quartil), 50% dos pacientes possuem tempo inferior a 18,2 meses (mediana) e 75% possuem tempo inferior a 32,1 meses (3º quartil).

GRÁFICO 7 - Histograma do tempo (meses)

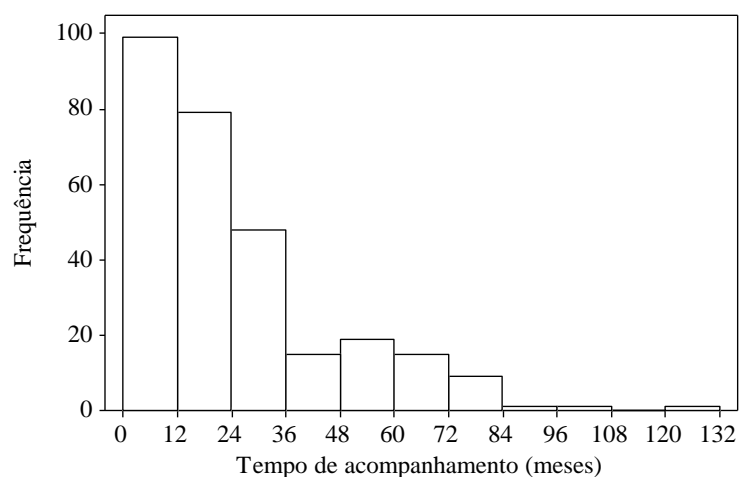


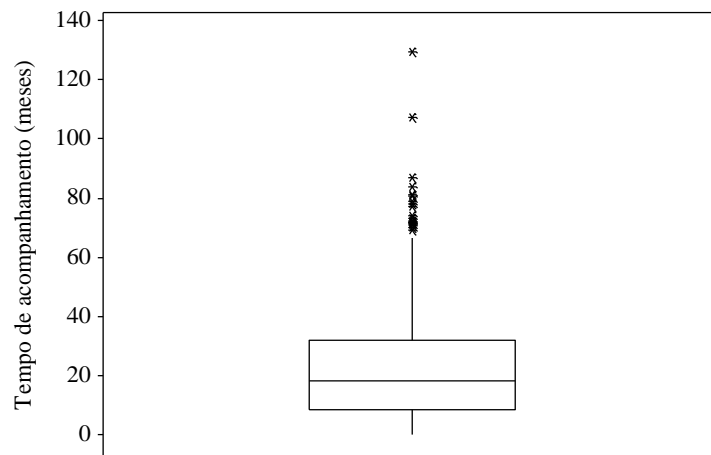
GRÁFICO 8 - *Box-plot* do tempo (meses)

TABELA 10 - Seleção de variáveis usando o modelo de Cox

Variáveis	M1	M2	M3	M4
	Valor-p			
Número de parceiros				
< 3	-	-	-	-
≥ 3	0,190	0,190	X	X
Mudança de parceiros				
Sim	-	-	-	-
Não	0,150	0,130	0,090	0,064
Tabagismo				
Não	-	-	-	-
Sim	0,270	X	X	X
Margem comprometida				
Livre	-	-	-	-
Comprometida	0,028	0,040	0,150	X
Ocupação glandular				
Ausência	-	-	-	-
Presença	0,093	0,100	0,040	0,013
HIV				
Negativo				
Positivo	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Deviance	295,12	295,12	346,93	348,17

Segundo critério da função deviance, o candidato à modelo final é o M1, pois o mesmo possui a menor deviance entre os quatro modelos ajustados. Apesar do

modelo 2 possuir a mesma deviance com uma variável a menos, opta-se por seguir com o modelo contendo tabagismo, pois a retirada do mesmo não mexeu na deviance.

( ) Os resultados do teste individual e global de proporcionalidade das taxas de falha encontram-se na TAB. 11.

TABELA 11 - Teste de proporcionalidade das taxas de falha para o modelo final de Cox

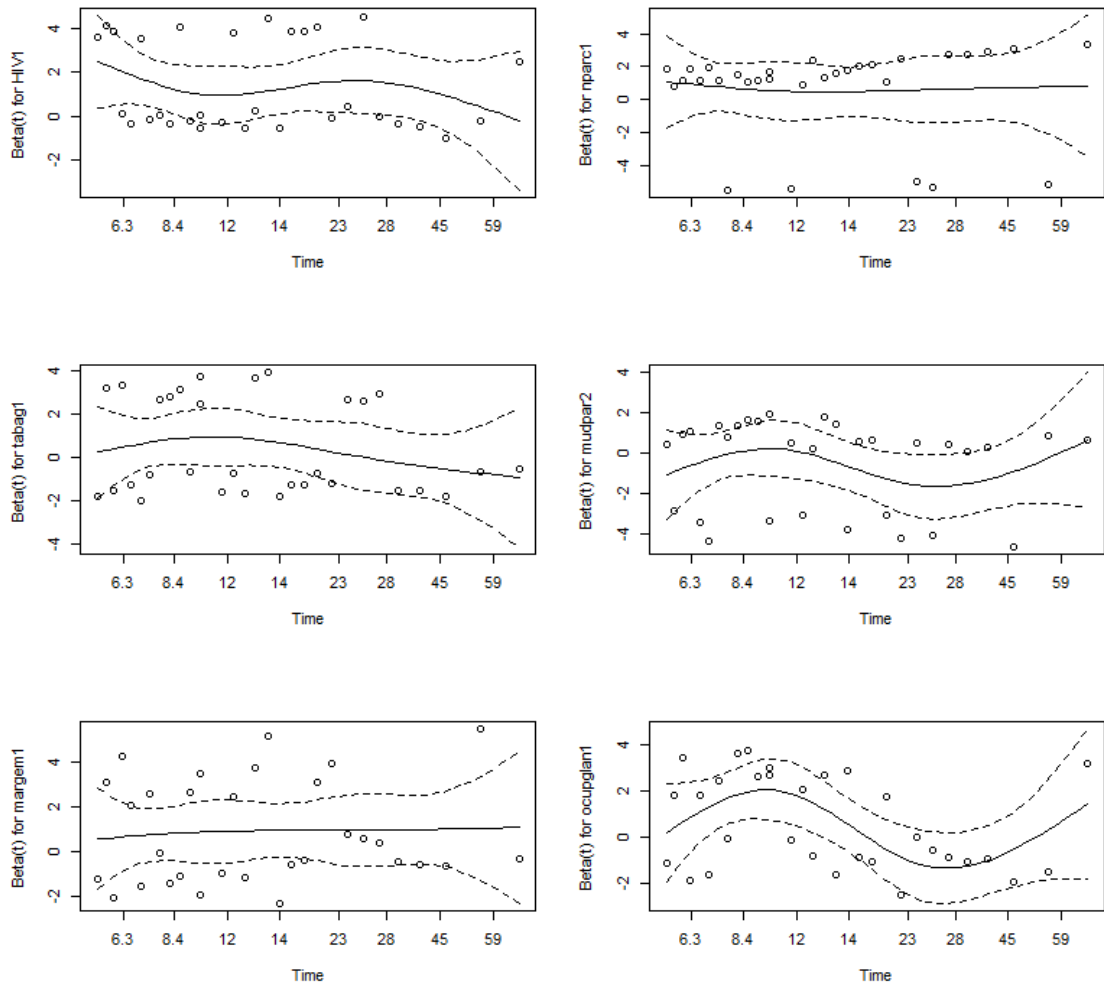
Variável	$\rho$	Valor-p
Número de parceiros	0,019	0,916
Mudança de parceiros	-0,050	0,778
Tabagismo	-0,207	0,231
Margem comprometida	0,043	0,804
Ocupação glandular	-0,211	0,268
HIV	-0,149	0,418
GLOBAL	-	0,784

Observando os resultados na TAB. 11, nota-se que todos os valores do coeficiente de correlação de Pearson ( $\rho$ ) foram próximos de zero, o que indica que a suposição de proporcionalidade das taxas não foi violada. E isso se confirma quando se observam os valores-p. Todos foram superiores a 5%, o que corrobora o resultado obtido nos  $\rho$ 's. Ou seja, nem individualmente, nem globalmente, o pressuposto foi violado.

Já os resíduos padronizados de Schoenfeld encontram-se no GRÁF.9. A partir deste gráfico, observa-se que não há indícios de padrão no comportamento das curvas, ou seja, a reta suavizada em torno do zero não apresenta um padrão. Uma exceção pode ser verificada nos resíduos da covariável ocupação glandular, mas tal padrão não invalidou o resultado do teste de proporcionalidade para a referida variável (valor-p=0,268).



GRÁFICO 9 - Resíduos padronizados de Schoenfeld para o modelo final de Cox





UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER

UFMG

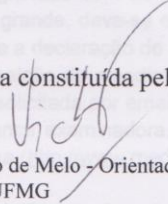
FOLHA DE APROVAÇÃO

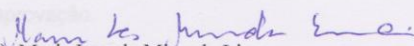
**Fatores de risco para recidiva da neoplasia intraepitelial cervical após cirurgia de alta frequência**

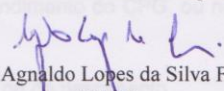
**HELENA RABELO CASTRO MEIRA**

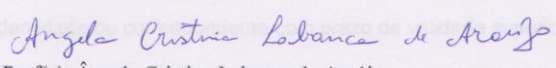
Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em SAÚDE DA MULHER, como requisito para obtenção do grau de Mestre em SAÚDE DA MULHER, área de concentração PATOLOGIA GINECOLÓGICA E REPRODUÇÃO.

Aprovada em 09 de junho de 2014, pela banca constituída pelos membros:

  
Prof. Victor Hugo de Melo - Orientador  
UFMG

  
Prof(a). Maria Ines de Miranda Lima  
Instituto de Ensino e Pesquisa

  
Prof. Agnaldo Lopes da Silva Filho  
UFMG

  
Prof(a). Ângela Cristina Labanca de Araújo  
Faculdade de Medicina Unifenas

Belo Horizonte, 9 de junho de 2014.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER

UFMG

## ATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DA ALUNA HELENA RABELO CASTRO MEIRA

Realizou-se, no dia 09 de junho de 2014, às 14:00 horas, Faculdade de Medicina, sala 029, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de dissertação, intitulada *Fatores de risco para recidiva da neoplasia intraepitelial cervical após cirurgia de alta frequência*, apresentada por HELENA RABELO CASTRO MEIRA, número de registro 2012650710, graduada no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em SAÚDE DA MULHER, à seguinte Comissão Examinadora: Prof(a). Victor Hugo de Melo - Orientador (UFMG), Prof(a). Maria Ines de Miranda Lima (Instituto de Ensino e Pesquisa), Prof(a). Agnaldo Lopes da Silva Filho (UFMG), Prof(a). Ângela Cristina Labanca de Araújo (Faculdade de Medicina Unifenas).

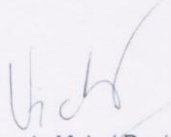
A Comissão considerou a dissertação:

Aprovada

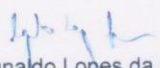
Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada pelos membros da Comissão.


Belo Horizonte, 09 de junho de 2014.

  
Prof. Victor Hugo de Melo (Doutor)

  
Prof(a). Maria Ines de Miranda Lima (Doutora)

  
Prof. Agnaldo Lopes da Silva Filho (Doutor)

  
Prof(a). Ângela Cristina Labanca de Araújo (Doutora)

  
CONFERE COM ORIGINAL  
Centro de Pós-Graduação  
Faculdade de Medicina - UFM