

NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL: DA ETIOPATOGENIA AO DESEMPENHO DA TECNOLOGIA NO RASTREIO E NO SEGUIMENTO

CIN: FROM PATHOLOGICAL ASPECTS TO THE EFFICIENCY OF THE METHODS USED IN SCREENING AND FOLLOW UP

Fernanda V Fonseca¹, Flávio Daniel S Tomasich², Juliana Elizabeth Jung³

RESUMO

O câncer do colo uterino é o segundo tipo de câncer mais comum no sexo feminino, sendo responsável pelo óbito de até 250 mil mulheres ao ano. Ainda permanece como um dos maiores problemas de saúde pública em países em desenvolvimento, especialmente na América Latina e no Caribe. Apesar de ser passível de prevenção, os esforços coletivos para implementar programas de rastreamento ainda não têm reduzido, com sucesso, a mortalidade pela doença. A descoberta das lesões precursoras e seu adequado tratamento, além de medidas abrangentes para a prevenção da infecção pelo HPV, podem ser o caminho mais adequado para evitar a morte prematura de tantas mulheres. Frequentemente as discussões estão focadas no tipo de teste a se utilizar, que possa se adequar à realidade dos países em desenvolvimento. Destacam-se, neste contexto, os esforços para a introdução de novas metodologias de rastreamento, sobretudo em países com poucos recursos financeiros. É inessante a busca atual por marcadores tumorais capazes de, especificamente, atribuir riscos diferenciados aos tumores associados ao HPV.

Palavras-chave: neoplasia intraepitelial cervical, conização, recorrência, biomarcadores, DST

ABSTRACT

The cervix cancer is the second most common type of cancer in females. It is responsible for the death of until 250,000 women every year and about 80% of the cases occur in developing countries. This type of cancer still remains as one of the biggest problems in public health in developing countries, especially in Latin America and the Caribbean. Despite of this disease can be preventable, the cooperative efforts to implement screening programs, haven't still reduced successfully the deaths from this disease. When pre-cancerous modifications are found in the cervical tissue and had an adequate treatment, can contribute to avoid the premature death of a great number of women. Frequently the discussion is about which test can be used according to the reality of developing countries. In this context, the efforts to the developing of new methodologies of screening, mainly in countries with few financial resources, is very important. It is endless and intense the present searching for tumor markers capable of, specifically, to attribute differentiated risks to tumors associated to HPV.

Keywords: CIN, conization, recurrence, biological markers, STD

INTRODUÇÃO

O câncer do colo uterino é o segundo tipo de câncer mais comum no sexo feminino e, com aproximadamente 500 mil casos novos por ano no mundo, é o responsável pelo óbito de até 250 mil mulheres/ano, sendo que 80% dos casos acontecem em países subdesenvolvidos⁽¹⁾, permanecendo como um dos maiores problemas de saúde pública em países em desenvolvimento, especialmente na América Latina e no Caribe⁽²⁾. Apesar de essa doença ser passível de prevenção, os esforços coletivos para implementar programas de rastreamento ainda não têm reduzido, com sucesso, a mortalidade pela doença, principalmente na região das Américas⁽²⁾.

No século passado, o câncer do colo do útero era o líder de mortalidade entre mulheres nos Estados Unidos da América. Este índice tem demonstrado uma redução de 50% nos últimos 20 anos. Isso se deve, em grande parte, aos efetivos programas de rastreamento com citologia oncocítica e ao tratamento das suas lesões precursoras⁽³⁾. Em contrapartida, a América Latina e o Caribe têm, ainda hoje, uma das mais altas taxas de incidência e de mortalidade do mundo⁽²⁾.

O câncer do colo uterino ainda é um problema de saúde pública também no Brasil, sendo o segundo câncer mais prevalente

na mulher brasileira, com uma incidência de 18.430 casos novos ao ano e 4.800 mortes/ano, sendo suplantado apenas pelo câncer da mama⁽⁴⁾.

Apesar de o Brasil ser considerado, hoje, a oitava economia do mundo, seus investimentos em saúde continuam sendo objetivos não prioritários e, conseqüentemente, a cada minuto, morrem muitas mulheres devido ao diagnóstico tardio desse tipo de câncer, mesmo ele sendo passível de prevenção com medidas simples e baratas.

Sua incidência e mortalidade estão relacionadas à pobreza, à dificuldade de acesso aos serviços de saúde, à vivência em área rural e ao baixo nível socioeducacional, fazendo com que mais de 600 mulheres morram todos os dias, principalmente em países em desenvolvimento⁽²⁾. A incidência desse tipo de câncer torna-se evidente na faixa etária compreendida entre 20 e 29 anos e o risco aumenta rapidamente até atingir seu pico, na faixa etária entre 45 e 49 anos⁽⁴⁾.

Para o surgimento deste tipo de câncer é necessária a presença da infecção pelo vírus do papiloma humano (HPV). Outros fatores que contribuem para a etiologia desse tumor são o tabagismo, a baixa ingestão de vitaminas, a multiplicidade de parceiros, a iniciação sexual precoce e o uso de contraceptivos orais⁽⁴⁾.

A descoberta das lesões precursoras e uma logística adequada para seu tratamento, além de medidas abrangentes para a prevenção da infecção pelo HPV, podem ser o caminho mais adequado para atingir um objetivo maior: evitar a morte prematura de tantas mulheres.

Programas de rastreamento baseados na citologia oncocítica têm sido introduzidos em muitos países. Quando os mesmos são organizados de forma que o rastreamento consiga abranger mulheres na faixa etária de risco, promovendo o seguimento e tratamento ade-

¹ Mestre em Cirurgia pela Pontifícia Universidade Católica do Paraná e médica Ginecologista-Obstetra e Genitoscopista, titular do Serviço de Patologia Cervical do Hospital Erasto Gaertner (HEG).

² Prof. Doutor da Pontifícia Universidade Católica do Paraná e médico Cirurgião Oncológico do HEG.

³ Prof^a Doutora e médica do Serviço de Anatomia Patológica do HEG.

quando das lesões precursoras, têm demonstrado grande efetividade na redução da doença invasora⁽⁵⁾.

Apesar de resultados tão promissores dos programas de prevenção, e de a citologia oncótica ser altamente efetiva no diagnóstico precoce e na prevenção do câncer invasivo do colo do útero, as taxas de mortalidade e a incidência do câncer cervical mantêm-se entre as mais elevadas dentre os tumores malignos que ocorrem nas mulheres brasileiras. Isto se deve principalmente pela baixa cobertura populacional, não atingindo de forma efetiva a população de maior risco, além da limitação inerente ao teste em si, que é sua baixa sensibilidade⁽⁶⁾.

Frequentemente, as discussões estão focadas sobre qual tipo de teste utilizar nos programas de rastreamento (citologia, teste de DNA para HPV e outros), que possa se adequar à realidade dos países em desenvolvimento. Escolher um teste efetivo é apenas um dos aspectos do programa de prevenção. A maior e mais desafiadora tarefa é a organização e a execução de programas como esse⁽⁵⁾.

Destacam-se, nesse contexto, os esforços para a introdução de novas metodologias de rastreamento, sobretudo em países com poucos recursos financeiros. É incessante e intensa a busca atual por marcadores tumorais capazes de, especificamente, atribuir riscos diferenciados aos tumores associados ao HPV⁽⁶⁾.

O presente estudo busca os dados da literatura que possam atualizar e nortear a conduta daqueles que procuram, incessantemente, a melhoria da qualidade de saúde da mulher, através de uma revisão sistemática da literatura, permitindo a identificação das pacientes com maior risco de evolução desfavorável (persistência e/ou recorrência) da lesão precursora do câncer cervical e a progressão para o carcinoma invasor, determinando o real prognóstico das mesmas e podendo adequar estratégias de prevenção mais efetivas.

A ETIOPATOGENIA DO CÂNCER DO COLO UTERINO

Estudos epidemiológicos e moleculares desenvolvidos nos últimos 30 anos levaram ao reconhecimento do HPV como agente etiológico do câncer cervical. Cerca de metade dos tipos de HPV conhecidos, incluindo suas variantes, têm sido isolados nas mucosas genitais. A associação de alguns tipos de HPV inicialmente a tecidos normais e lesões benignas, assim como a associação de outros tipos ao câncer, levou ao conceito de HPV de baixo e alto risco oncogênico, respectivamente⁽⁷⁾.

Classificados entre os mais potentes carcinógenos em humanos, os HPV de alto risco oncogênico são considerados, atualmente, os responsáveis por, pelo menos, 5% de todos os cânceres no mundo (colo uterino, genitália externa, ânus, pênis e orofaringe), proporção esta que chega a 15% dos cânceres em mulheres que vivem em países em desenvolvimento, afetando também um número considerável de homens⁽⁸⁾.

Combinando os dados de seu estudo com estudos prévios, Walboomers *et al.* concluíram que a prevalência mundial do HPV no carcinoma do colo uterino é de 99,7%, implicando em uma das maiores prevalências de um fator causal atribuído a qualquer câncer humano⁽⁸⁾.

Os HPV de alto risco expressam proteínas oncogênicas que interferem com as funções do crescimento celular. Como consequência da contínua expressão do genoma viral na célula, a instabilidade cromossômica pode acontecer, levando à completa transformação celular⁽⁷⁾.

Estudos indicam que a persistência do HPV de alto risco pode determinar a progressão da doença cervical para estágios mais severos, enquanto a maioria das infecções por HPV é transitória e não parece ser importante na carcinogênese cervical. O risco para a progressão da doença parece estar associado ao ciclo do HPV no hospedeiro⁽⁷⁻¹¹⁾. A história natural do HPV no hospedeiro humano apresenta alguns pontos ainda não totalmente elucidados. A infecção por HPV é muito comum entre mulheres jovens. Durante a vida sexual, cerca de 70% das mulheres terão contato e/ou infecção transitória pelo mesmo. Apesar destes altos índices de infecção, poucas mulheres infectadas terão câncer cervical⁽¹⁰⁾.

Segundo consenso da Organização Mundial de Saúde (OMS), aproximadamente 5 a 15% de mulheres negativas para HPV são infectadas, a cada ano, com algum tipo de HPV oncogênico. A incidência destes tipos de HPV tende a ser maior que a dos de baixo risco. Os subtipos mais frequentes são os 16, 18, 31, 33 e 51; entretanto, um dos tipos mais frequentes entre os estudos é o HPV 16⁽¹¹⁾.

Os índices de infecção por HPV de alto risco tendem a ser maiores entre mulheres jovens do que entre as de mais idade. Alguns estudos avaliados pela OMS sugerem que a persistência da infecção pelo HPV aumenta com a idade⁽¹¹⁾. A persistência da infecção por HPV tem implicações para a patogênese da lesão precursora e do câncer invasor⁽¹⁰⁾. Contudo, mais dados são necessários para esclarecer por que as infecções por diferentes tipos de HPV agem independentemente na cérvix uterina, modificando a resposta imunológica de forma desigual⁽¹¹⁾. Em média, 10% das lesões relacionadas ao HPV no colo uterino progredem para carcinoma *in situ* e 1% para carcinoma invasor⁽¹¹⁾.

A história natural do câncer cervical estende-se por um período de 15 a 20 anos, incluindo a infecção pelo HPV, a persistência da infecção, a progressão para lesão precursora e finalmente o desenvolvimento do câncer invasor. Em indivíduos imunocompetentes, a infecção por HPV e as neoplasias intraepiteliais de baixo grau são frequentemente reversíveis, e o *clearance* da infecção viral e a regressão das lesões precursoras geralmente ocorrem⁽¹²⁾.

A ativação da resposta imune do hospedeiro parece ser o ponto determinante entre a resolução da infecção pelo HPV ou a progressão para a doença da cérvix ou do trato anogenital. Enquanto a natureza exata da resposta imune permanece incerta, há evidências da colaboração das células T *helper*, células T citotóxicas e de mecanismos da resposta imune inata. Entretanto, o HPV é capaz de driblar várias funções no mecanismo da resposta imunológica do hospedeiro, transformando-a numa resposta lenta e fraca⁽¹²⁾.

A patogênese molecular do câncer causado por HPV de alto risco ainda não é totalmente compreendida. Algumas características, entretanto, já são bem evidentes. Esses vírus são autossuficientes para induzir carcinogênese, apesar de a infecção *per se* não ser suficiente para induzir malignidade. A indução de instabilidade cromossômica, de mutações e aneuploidia em células previamente não proliferativas da camada basal e suprabasal do epitélio do colo uterino emerge das modificações em genes que controlam a transcrição viral e as funções das oncoproteínas virais^(13,14).

O HPV é um vírus de formato icosaédrico, pertencente à família *Papovaviridae*. O seu genoma está dividido em regiões denominadas *Open Reading Frames* (ORF), as quais se localizam em uma

mesma fita de DNA e constituem os genes virais. Os três fragmentos subgenômicos na organização do genoma do HPV, até agora identificados, são: região precoce ou E de *early*, região tardia ou L de *late* e região não codificada ou LCR, de *long coding region* (Figura 1)^(7,15).

Entre os genes indutores de atipia celular, situados na região precoce, destacam-se o E1 e o E2, relacionados com a replicação epissomal e a regulação da transcrição; o E6 e o E7, que inativam o gene produtor das proteínas p53 e pRb, supressoras do crescimento tumoral. Já os genes L1 e L2 estão relacionados à formação do capsídeo viral^(7,15).

O gene p53, localizado no cromossomo 17, expressa a proteína p53, que tem a importante função de ativar genes que mantêm a estabilidade do genoma. Na divisão normal da célula, a p53 não é necessária, porém, quando o DNA é de alguma forma lesado, sua função reparadora é induzida, o que lhe confere o título de “guardião do genoma”⁽¹⁵⁾. Havendo modificação do DNA, a expressão da p53 é aumentada, ativando a proteína p21, que bloqueia o ciclo celular em G1, para a reparação do DNA. Quando essa reparação não ocorre, a p53 induz a apoptose⁽¹⁵⁾.

O gene Rb, localizado no cromossomo 13, expressa a proteína pRb, que se une ao fator de transcrição E2F na fase G1 do ciclo celular. Durante o ciclo celular normal, a pRb é fosforilada, liberando E2F. Se a E2F permanecer ativada, faz com que haja um crescimento desordenado das células⁽¹⁵⁾.

O genoma do HPV é mantido em sua forma epissomal nas células infectadas, porém, para a progressão da infecção para neoplasia intraepitelial ou câncer, é preciso a integração ao DNA da célula hospedeira e isso envolve os genes E1 e E2 do vírus, que regulam a expressão viral na célula. Quando o gene E2 é desmembrado, como resultado da integração do genoma viral, altos níveis dos genes E6 e E7 viral são observados. O E1 é responsável pela replicação do genoma viral no hospedeiro^(7,13,14).

Proteínas específicas celulares ligam-se às oncoproteínas E6 e E7 do HPV de alto risco. A oncoproteína E7 une-se ao gene de suscetibilidade do retinoblastoma (pRb), enquanto a E6 se une à p53, que é um gene de supressão tumoral^(7,14,15). Esta união pro-

move a degradação da p53, removendo o controle do ciclo celular dependente da p53 e, conseqüentemente, impedindo a reparação do DNA. Em decorrência disso, surgem os genes mutantes, que são perpetuados, levando à proliferação desordenada, que é uma característica das lesões neoplásicas^(7,13-15).

A E7, associada à transcrição de produtos da pRb, promove liberdade para a transcrição de muitos genes envolvidos na progressão de células no ciclo celular. A E7 parece demonstrar interação com ciclina-A e cinase-2 ciclina-dependente, ambas atrapalhando a progressão do ciclo celular. A E7 liga-se à pRb, interferindo na sua capacidade de manter a E2F na forma inativa, levando ao crescimento desordenado das células. Atribui-se ainda ao gene E7 a capacidade de reduzir a expressão dos antígenos de histocompatibilidade, situados na superfície celular, o que pode explicar, pelo menos em parte, o retardo da resposta imunológica do hospedeiro^(7,13-15).

Interferências com a função da pRb e da p53 podem determinar a perda do controle do ciclo celular e promover instabilidade cromossômica e aneuploidia. Porém, os genes E6 e E7 em infecções por HPV de baixo risco parecem expressar essas oncoproteínas de forma menos efetiva e, por consequência, falham nas modificações cromossômicas. Contudo, a integração dos genes E6 e E7 do HPV de alto risco com as proteínas celulares pRb e p53 representa um fator de progressão endógena, tornando-se importante na progressão das lesões pré-malignas e malignas^(7,13,15). Somando-se a essas modificações endógenas do DNA da célula hospedeira, há a contribuição de fatores mutagênicos exógenos, que provavelmente determina o desenvolvimento do câncer⁽¹¹⁾.

Além do HPV, a presença de cofatores parece ser importante na patogênese das anormalidades do colo uterino. Entre eles, destacam-se: fatores genéticos, alimentares, ambientais, uso de contraceptivos hormonais, tabagismo e o estado imunológico. Esses cofatores interagem, em maior ou menor intensidade, de maneira a aumentar a suscetibilidade do hospedeiro ao HPV, favorecendo sua infecção, sua multiplicação e a persistência da sua atuação, oferecendo grande oportunidade para a integração do genoma viral ao genoma celular, com concomitante expressão das proteínas virais e perda do controle celular^(11,16). Quando modificações pré-cancerosas são encontradas no tecido cervical, identificadas precocemente e tratadas, o câncer de colo uterino não se desenvolve⁽²⁾.

Existe grande interesse na atualidade em pesquisar aspectos relacionados à etiopatogenia do câncer cervical e suas lesões precursoras, no sentido de se estabelecer sua prevenção primária. As investigações têm se voltado para estratégias que levem em conta o papel representado pelo agente causal, que é o papilomavírus humano, bem como para cofatores que favoreçam a ação do mesmo⁽¹¹⁾.

A NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL

As lesões precursoras do câncer de colo de útero foram primeiramente descritas por Cullen, em 1900, e Rubin, em 1910, como achados histopatológicos casuais em bordas de tumores francamente invasores. As células observadas nestas lesões tinham aspectos morfológicos semelhantes às do tumor infiltrante, porém estavam contidas dentro do epitélio transformado. A melhor caracterização dessas lesões iniciais deveu-se a dois inovadores procedimentos propedêuticos: a colposcopia, idealizada por Hinselmann, em 1925, e a colpocitologia oncótica (CO), preconizada em 1938 por Papanicolaou⁽¹⁵⁾.

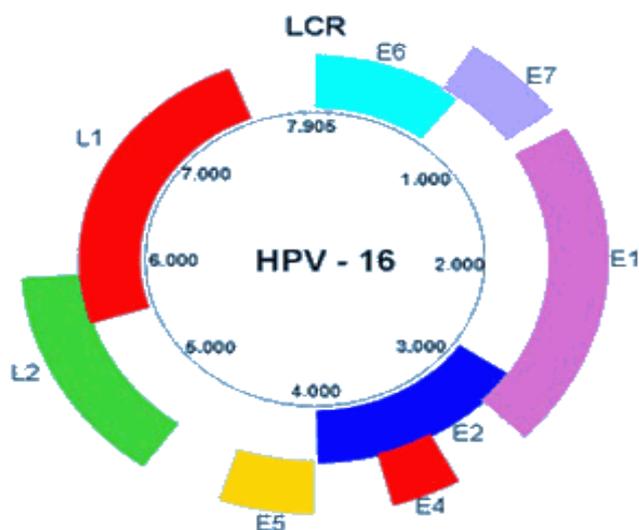


Figura 1 – Representação esquemática do vírus do HPV (fonte: www.ipoportorito.min-saude.pt).

Em 1967, Richardt reconheceu que tais lesões possuíam caráter neoplásico verdadeiro. Preferiu nomeá-las como neoplasia intraepitelial cervical, graduando-as como NIC 1, NIC 2 e NIC 3, de acordo com a intensidade das atipias. Em decorrência das dificuldades na precisão dos diagnósticos diferenciais entre NIC 3 e carcinoma *in situ*, Richardt propôs, em 1973, o termo NIC 3 e carcinoma *in situ* como legenda única⁽¹⁵⁾.

A graduação das lesões precursoras em NIC 1, NIC 2 e NIC 3 é embasada na intensidade dos distúrbios morfológicos celulares, relacionados, principalmente, com a proliferação, a atipia celular e as mitoses. Esses critérios morfológicos são avaliados também em relação ao nível que alcançam na verticalidade do epitélio. Utiliza-se, universalmente, o sistema de divisão do epitélio em três terços: inferior, mediano e superficial. Deste modo, na NIC 1, as alterações celulares e a perda de diferenciação ficam restritas ao terço inferior do epitélio; na NIC 2 ocorrem nos 2/3 inferiores e na NIC 3 existem alterações morfológicas que ocupam os 3/3 do epitélio⁽¹⁵⁾ (**Figura 2**).

No carcinoma *in situ* existe inquestionável envolvimento de toda a espessura do epitélio, sem qualquer evidência de diferenciação celular, estando a membrana basal íntegra, e no carcinoma invasor a lesão progride além da membrana basal⁽¹⁵⁾.

As lesões precursoras do câncer cervical têm, em geral, um curso evolutivo desigual e lento; podendo progredir, permanecer inalteradas ou sofrer regressão. Para alguns autores, NIC 1, NIC 2 e NIC 3 representam processos distintos, em que a NIC 1 é autolimitada e espelha a infecção pelo papilomavírus sexualmente transmitido, enquanto a NIC 2 e a NIC 3 seriam as verdadeiras lesões pré-malignas⁽¹⁵⁾.

A NIC origina-se em células metaplásicas imaturas, que mais provavelmente se alteram devido a uma associação de fatores, como agentes oncogênicos, distúrbios imunológicos e outros, encontrados principalmente em certos grupos epidemiológicos⁽¹⁶⁾.

Pesquisas revelam que o grupo de risco para essa neoplasia é composto de mulheres jovens, e que fatores como infecção persistente por HPV de alto risco, imaturidade imunológica, presença de ectrôpios cervicais, uso de contraceptivos hormonais, tabagismo e multiplicidade de parceiros sexuais, dentre outros, facilitam a instalação dessa neoplasia^(11,15,16).

FATORES DE RISCO PARA NEOPLASIAS INTRAEPITELIAIS CERVICAIS

Estudos epidemiológicos têm indicado que tanto a infecção pelo HPV quanto o câncer cervical são fortemente influenciados pela atividade sexual, uma vez que a infecção persistente por tipos de HPV de alto risco é um fator determinante na ocorrência de lesões intraepiteliais cervicais. Entretanto, fatores adicionais contribuem com o processo multifatorial para o desenvolvimento da neoplasia^(7,11). Condições causando imunossupressão e agentes mutagênicos aumentam o risco de aquisição e progressão das lesões associadas ao HPV^(7,11).

O risco de infecção também parece ser influenciado independentemente por outras variáveis, como paridade, uso de contraceptivo oral e tabagismo. A idade parece ser um fator importante, pois muitos estudos demonstram o declínio da infecção após os 30 anos⁽⁷⁾.

Tabagismo

O envolvimento do tabagismo na etiologia do câncer cervical e de suas lesões precursoras tem sido tópico de debate por muitos anos. O consenso da OMS⁽¹¹⁾ determinou que, apesar das diferenças de prevalência entre o uso corrente do cigarro e o seu uso passado, dentre os diversos estudos e populações avaliados, o tabagismo está consistentemente associado ao risco de desenvolvimento de NIC 3 e câncer invasor do colo uterino⁽¹¹⁾. Concluiu, ainda, que os componentes do cigarro são importantes carcinógenos, além de interferirem nas funções imunológicas e atuarem no reconhecimento e no *clearance* do HPV, demonstrando ser um cofator na gênese da neoplasia do colo do útero⁽¹¹⁾.

Diversas hipóteses são postuladas em relação à maneira pela qual o tabagismo poderia induzir as lesões cervicais, não existindo um mecanismo isolado que possa explicar a carcinogênese cervical relacionada ao cigarro⁽¹⁶⁾. A complexidade da mistura de carcinógenos presentes na fumaça do cigarro, associada à suscetibilidade individual, pode significar que diferentes substâncias ocasionam diferentes tipos de danos⁽¹⁶⁾.

Um dos principais mecanismos de ação relacionados à carcinogênese cervical está associado à exposição direta do DNA das

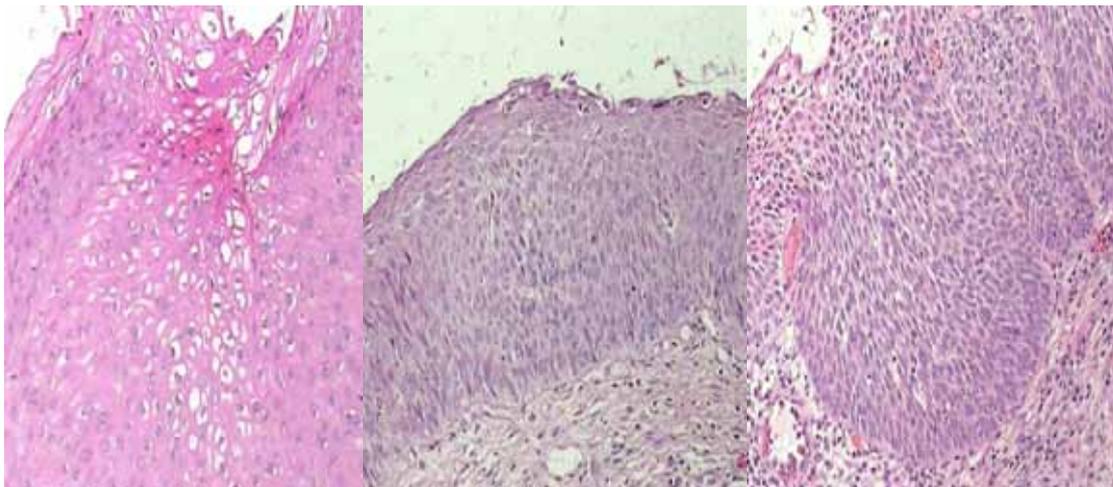


Figura 2 – Representação histológica de NIC/carcinoma invasor do colo uterino (da esquerda para a direita: NIC 1, NIC 3, carcinoma invasor). Fonte: Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Erasto Gaertner.

células epiteliais cervicais a concentrações elevadas destes carcinógenos, seguida de modificação dessas moléculas, com potenciais efeitos mutagênicos⁽¹⁶⁾. O nível do dano ao DNA celular tem variação individual, com influência de fatores genéticos e ambientais, bem como o número e o tipo de cigarros consumidos⁽¹⁶⁾.

O fumo parece desempenhar alteração nos mecanismos de defesa imunológica tecidual, tanto no âmbito sistêmico quanto no local⁽¹⁶⁾. De maneira geral, o tabagismo modifica tanto a resposta celular quanto a humoral. Em indivíduos fumantes existe diminuição dos níveis de imunoglobulinas circulantes, depressão da produção de anticorpos direcionados a determinados antígenos e redução da liberação das citocinas pelas células imunocompetentes. Também ocorre alteração nas concentrações de linfócitos T citotóxicos, supressores e células *natural killer*, diminuição da liberação da migração e da quimiotaxia leucocitária, bem como queda na atividade fagocitária⁽¹⁶⁾. Desta maneira, o hospedeiro poderia apresentar dificuldades em montar resposta imune efetiva contra os diversos agentes agressores infecciosos, como por exemplo, o HPV⁽¹⁶⁾.

Autores atuais reconheceram o tabagismo, de uso corrente ou passado, dose e tempo-dependente, como um significativo fator de risco para a neoplasia cervical⁽¹⁵⁻²¹⁾. Contudo, outros estudos não encontraram correlação entre o hábito de fumar e o desenvolvimento da doença⁽²²⁻²⁴⁾. Syrjanen *et al.* concluíram, entretanto, que o tabagismo é um fator de risco para a aquisição da infecção do HPV, mas não para o desenvolvimento da NIC⁽²⁴⁾.

Hormonoterapia

A pesquisa da relação do uso de contraceptivos hormonais ou da terapia de reposição hormonal, com o desenvolvimento de cânceres do sistema reprodutivo em mulheres, ainda apresenta resultados conflitantes. Contudo, estudos citados por McFarlane-Anderson *et al.* reportam que a contracepção hormonal (pílulas ou injetáveis) aumenta o risco para o câncer cervical, particularmente em mulheres HPV-positivo, sugerindo que o contraceptivo oral atue como um promotor da carcinogênese induzida pelo HPV⁽²⁵⁾.

Em adição a qualquer efeito promotor direto do hormônio no desenvolvimento da displasia cervical, o uso de contraceptivos hormonais pode resultar ainda em maior frequência de atividade sexual desprotegida, colocando o indivíduo em maior risco de infecção pelo vírus HPV e outras doenças sexualmente transmissíveis^(15,25).

Os mecanismos de interação entre HPV e esteroides sexuais não são totalmente esclarecidos⁽¹¹⁾. A regulação da transcrição viral ocorre principalmente na região LCR do HPV. Pelo menos três elementos responsivos a glicocorticoides dentro da região LCR são responsivos tanto a progesteronas quanto aos glicocorticoides, aumentando a transcrição dos genes E6 e E7⁽²⁶⁾.

O aumento da 16 α -hidroxilação do estradiol em 16 α -hidroxiestrone e estriol tem sido hipotetizado como um fator de risco para o carcinoma cervical. Quando a 16 α -hidroxiestrone se liga aos receptores de estrogênio, prolonga o seu efeito e aumenta a capacidade das células endocervicais imortalizadas por um HPV oncogênico, facilitando a proliferação celular⁽²⁶⁾.

A zona de transformação da cérvix uterina é altamente sensível a estrógenos, em comparação a outras áreas do sistema reprodutivo. Introduzindo-se HPV de alto risco nessas células, aumenta-se em oito vezes o risco da conversão do estradiol em 16 α -hidroxiestrone⁽²⁶⁾.

Apesar de estas alterações intracelulares estarem atualmente em discussão no mundo científico, o consenso da OMS, avaliando a associação entre o uso de contraceptivo oral e o carcinoma escamoso da cérvix, foi de que ainda não é possível estimar de forma adequada o risco associado ao consumo das formulações mais comumente usadas, e que mais estudos são necessários para incluí-los como cofatores na gênese do câncer cervical⁽¹¹⁾.

Estudos recentes corroboram a hipótese de que o anticoncepcional oral não parece estar correlacionado com a etiopatogenia da neoplasia cervical e seus precursores^(15,17,19).

Soropositividade para HIV

Os recentes dados analisados pela OMS consistentemente têm demonstrado forte associação entre a infecção do colo uterino pelo HPV e/ou a presença de neoplasia intraepitelial cervical com a infecção pelo HIV (vírus da imunodeficiência humana). Uma alta porcentagem de mulheres soropositivas para HIV é infectada com múltiplos tipos de HPV e a infecção da cérvix uterina pelo HPV tende a ser mais persistente nestas mulheres do que nas mulheres soronegativas⁽¹¹⁾.

A epidemia do HIV é mundial. No final de 2006, cerca de 39 milhões de pessoas conviviam com o vírus do HIV, dos quais 1,7 milhão estavam na América Latina e 1/3 dessas pessoas, no Brasil⁽²⁷⁾. A melhora dos índices de sobrevivência desses pacientes é consequência de um adequado manejo clínico, da profilaxia contra infecções comuns e do uso efetivo de antirretrovirais⁽²⁶⁾. Esses fatos geraram maior atenção para as doenças crônicas e degenerativas, que até então pareciam irrelevantes, como por exemplo, o precursor do câncer cervical, que é mais prevalente em pacientes soropositivos⁽²⁷⁾.

Mulheres soropositivas têm alta prevalência e incidência tanto para infecção por HPV quanto para NIC 3, quando comparadas às mulheres soronegativas. A prevalência do HPV nas mulheres infectadas pelo HIV está fortemente associada com a contagem de células CD4 e com a carga viral. Mulheres soropositivas com contagem de CD4 menor que 200 células por μ L têm um risco três vezes maior para a infecção pelo HPV que as soronegativas. Da mesma maneira, quando a carga viral é maior que 10.000 cópias por mL, o risco de infecção por HPV aumenta em três vezes⁽²⁸⁾.

Estudos citados por Russomano *et al.* mostraram que mulheres soropositivas apresentam alto risco de neoplasia intraepitelial cervical persistente e recorrente, mesmo após terapêutica-padrão⁽²⁷⁾.

O MANEJO DA NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL

O manejo impróprio das neoplasias intraepiteliais cervicais pode aumentar o risco do carcinoma invasivo do colo uterino e, ao mesmo tempo, existem as complicações relativas ao tratamento destas⁽²⁹⁾.

No tratamento das lesões precursoras, tanto o tratamento ablativo quanto o excisional são utilizados. Os métodos ablativos incluem a crioterapia, a ablação a *laser*, a eletrofulguração e a cauterização química. Já os métodos excisionais, que permitem a avaliação anatomopatológica por meio do espécime retirado, são: a conização realizada com bisturi a frio, a conização eletrocirúrgica (realizada com eletrodo agulha ou eletrodo em alça, também conhecida por cirurgia de alta frequência) e a conização a *laser*⁽²⁹⁾.

A escolha da técnica a ser usada no tratamento (excisão ou destruição local) depende de critérios que devem ser considerados pelo examinador: idade da paciente, paridade, desejo reprodutivo, risco de perda de seguimento, habilidade do operador e colposcopia satisfatória⁽²⁹⁾.

Atualmente, a cirurgia de alta frequência utilizando eletrodo em alça (CAF), método introduzido por Prendiville, vem sendo cada vez mais utilizada para a excisão de toda a zona de transformação. Inicialmente, a conização com CAF era reservada para os casos nos quais a zona de transformação era totalmente visível e confinada ao colo uterino e quando não havia suspeita de doença microinvasora ou invasora na citologia e na colposcopia. Porém, tem sido demonstrado que a conização por CAF apresenta resultados terapêuticos similares aos da conização por bisturi a frio e é um método mais rápido, mais econômico e com menos complicações⁽³⁰⁾.

A conização por bisturi a frio é o procedimento cirúrgico tradicional e também o método “padrão-ouro”, no qual se baseiam os dados para estudos de outros métodos, porém está associada a significativa morbidade, principalmente hemorragia e estenose cervical⁽³¹⁾.

A frequência de comprometimento das margens do cone varia de 7,2 a 43,5% e depende de vários fatores, tais como: grau de severidade da NIC, envolvimento de endocérvice, dimensões do cone e técnica de conização. Sabe-se, hoje, que uma conização ampla e com adequada avaliação das margens cirúrgicas é suficiente para o tratamento da NIC 3 e até do carcinoma microinvasor (estádio clínico Ia1)⁽³⁰⁾.

A presença de NIC nas margens cirúrgicas do cone, vista na análise histopatológica, é frequentemente utilizada na clínica para prever a presença de lesão residual. Essa relação foi baseada na presença de lesão residual em espécimes cirúrgicos de histerectomia de pacientes com margens comprometidas na conização. Entretanto, a ausência de comprometimento das margens não dá a certeza da ausência de neoplasia residual⁽³²⁾.

A RECORRÊNCIA OU A PERSISTÊNCIA DA NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL

A persistência da neoplasia intraepitelial cervical ocorre entre 5 e 35% das pacientes após tratamento conservador, seja por conização ou ablação, provavelmente devida à falha do tratamento primário ou novo desenvolvimento da doença. Em outras palavras, a maioria das recorrências ocorre possivelmente por doença residual ou infecção subclínica por HPV que não é erradicada⁽³³⁾.

A conização do colo uterino, feita com bisturi a frio ou eletrocautério, pode efetivamente erradicar a infecção por HPV de alto risco oncogênico e a neoplasia intraepitelial cervical⁽³⁴⁾. A persistência de infecção por HPV de alto risco oncogênico e de alterações histológicas após a conização aumenta o risco de NIC persistente ou recorrente e esta pode progredir para carcinoma invasor, na ausência de um tratamento efetivo⁽³⁴⁾.

O conhecimento de fatores de risco para a persistência da infecção por HPV ou NIC persistente/recorrente é essencial para a sua detecção precoce⁽²⁷⁾. Idade, paridade, grau da lesão, *status* da margem e extensão glandular têm sido descritos como fatores de risco para HPV persistente e doença residual após conização. Contudo, nem todos esses fatores são citados em todos os artigos, e seu significado clínico exato ainda precisa ser bem estabelecido⁽³⁴⁾.

A incidência de recidiva registrada em portadoras do vírus da imunodeficiência humana (HIV) é muito alta. O controle clínico e laboratorial da paciente infectada pelo HIV, mediante contagem das células CD4 e a quantificação da carga viral, parece estar intimamente relacionado com a persistência e/ou recidiva da lesão, tendo sido verificados altos índices de recidiva após todas as modalidades de tratamento nas imunossuprimidas, mesmo após histerectomia⁽³⁵⁾.

O PAPEL DA TECNOLOGIA NO RASTREAMENTO E NO SEGUIMENTO DA NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL

Embora não seja a realidade para a maioria das neoplasias que ocorrem em humanos, a incidência e a mortalidade por câncer do colo do útero podem ser controladas pelo rastreamento. O que particulariza este câncer em relação às demais neoplasias é o fato de que esse tipo se desenvolve a partir de lesões pré-invasivas bem definidas, de comportamento conhecido, e de evolução lenta, as chamadas “neoplasias intraepiteliais cervicais”⁽³⁶⁾.

As NIC, além da história natural lenta, ocorrem em região anatômica de fácil acesso, favorecendo o diagnóstico. Os avanços médicos ocorridos a partir da última metade do século XX permitiram, com mutilações mínimas e de pequena repercussão clínica, tratar as NIC com probabilidade de cura de 90%⁽³⁶⁾.

Em alguns locais onde ocorre com sucesso, o rastreamento para o câncer da cérvix uterina é realizado com o uso da colpocitologia oncótica (CO). Algumas regiões e países obtiveram reduções de até 70% da incidência de câncer do colo uterino, com equivalente redução da mortalidade⁽³⁶⁾.

Contudo, os benefícios do rastreamento por meio da colpocitologia oncótica não foram obtidos de forma homogênea em todo o mundo. Ainda hoje, a cada ano, meio milhão de mulheres são vítimas do câncer do colo uterino e metade delas morre pela doença. Entretanto, o rastreamento por meio da CO só foi efetivamente introduzido em regiões bem respaldadas economicamente, fracassando, por outro lado, nos locais mais pobres. Não é por acaso que 78% dos novos casos desse tipo de câncer ocorrem no chamado “mundo em desenvolvimento”⁽³⁶⁾.

O exame de colpocitologia oncótica (Papanicolaou) ainda é o principal método utilizado para a detecção do câncer da cérvix e suas lesões precursoras. Essa técnica, descrita por George Papanicolaou em 1941, consiste na avaliação morfológica das células de esfregaços obtidos da superfície do colo uterino⁽³⁷⁾.

A colpocitologia oncótica é considerada um teste bastante específico para o diagnóstico de lesões pré-cancerosas e do câncer invasor, porém, a depender da qualidade da coleta, da fixação e do condicionamento do material, além do adequado treinamento da equipe envolvida no processo, sua sensibilidade será apenas moderada⁽⁵⁾. Apesar do impacto da colpocitologia em programas de rastreamento do câncer do colo uterino, esse método possui muitas limitações: altas taxas de falso-negativos, a natureza subjetiva do teste, a necessidade de ser repetido em intervalos frequentes e a larga variação de sensibilidade e especificidade entre os laboratórios⁽³⁶⁻³⁸⁾. Algumas causas podem explicar o erro no diagnóstico da neoplasia cervical e de lesões precursoras à colpocitologia, como a falta de critérios morfológicos seguros para microinvasão, a au-

sência de amostragem da junção escamocolunar e a escassez de células neoplásicas nas amostras^(37,38).

A sensibilidade da colpocitologia em detectar NIC 2 e 3 está em torno de 60% e sua especificidade, em torno de 75%. A citologia de base líquida é provavelmente mais sensível, porém menos específica para detectar neoplasia cervical invasora⁽³⁹⁾.

Em programas de rastreamento, a sensibilidade e a especificidade são dois parâmetros importantes na escolha do exame. No caso da CO, embora a sensibilidade varie entre 18 e 76%, sua escolha como método de rastreamento em muito se deve à sua elevada especificidade. Mesmo que a sensibilidade da CO seja relativamente baixa, a longa duração da fase pré-invasora permite que a doença, ainda que não diagnosticada em uma determinada rodada de rastreamento, seja detectada na seguinte; ou seja, a mera repetição do exame resultaria em melhora substancial da detecção de lesões precursoras, mas isso ressalta a necessidade de um programa organizado⁽³⁶⁾.

A identificação e a utilização de ferramentas que possam complementar tanto o diagnóstico quanto o rastreamento das lesões precursoras do câncer do colo uterino é de suma importância. Uma vez que a grande maioria das lesões precursoras desse câncer regride espontaneamente, a identificação de lesões que realmente necessitem ser tratadas evitaria a utilização de métodos agressivos desnecessários, enquanto lesões com maior chance de progredirem seriam passíveis de tratamento antes do desenvolvimento de um câncer invasivo⁽³⁷⁾.

Quatro vertentes vêm sendo utilizadas como alternativas ou suplementos ao rastreamento citológico: a detecção molecular do DNA de tipos de papilomavírus humano (HPV) de alto risco oncogênico; o rastreamento baseado na inspeção visual do colo do útero; as formas alternativas da própria colpocitologia (citologia de meio líquido ou citologia automatizada assistida por computador) e os novos biomarcadores associados a alterações citológicas decorrentes da infecção por HPV (imuno-histoquímica para certas proteínas associadas às infecções pelo HPV)⁽³⁶⁾.

Com as limitações da citologia, tem-se tentado usar os testes biomoleculares para detecção do DNA do HPV como alternativa para o rastreamento primário, entretanto, devido à alta prevalência de infecções assintomáticas, a mera detecção do HPV de alto risco tem um baixo valor preditivo positivo para a presença de neoplasia intraepitelial do colo uterino, uma vez que a prevalência para esse tipo viral em mulheres sem lesões varia de 20 a 40%^(36,37).

Os primeiros estudos, publicados na década de 1990, foram claros ao demonstrar que a adição de testes de HPV ao rastreamento contribuiria em muito para o aumento global da sensibilidade do programa, mas ao custo de destruir a excelente especificidade da colpocitologia. Isso ocorre porque 40% das mulheres residentes em áreas urbanas, com idades entre 25 e 35 anos, são portadoras do HPV, embora apenas 1% delas desenvolva algum tipo de lesão de importância clínica. Quanto mais jovem a mulher, maior a probabilidade de um teste positivo para HPV vir acompanhado de CO normal⁽³⁶⁾.

Testar a presença de tipos oncogênicos de HPV parece lógico, uma vez que é de conhecimento que praticamente todas as neoplasias cervicais são causadas por esses vírus. O teste de captura híbrida II (teste biomolecular para HPV) detecta 13 tipos de HPV

de alto risco e está positivo em torno de 90% dos casos, entretanto seu índice de especificidade é baixo (62-96%), o que faz com que o valor preditivo positivo desse teste seja menor que o dos métodos citológicos⁽³⁹⁾.

O teste para DNA HPV pode ser usado na triagem de mulheres com anormalidades citológicas duvidosas, e tem potencial para a identificação de mulheres com risco de doença residual ou recorrente após o tratamento da NIC. Entretanto, ele falha na triagem de lesões de baixo grau, e se usado no rastreamento primário, necessitaria de mais um marcador específico de doença para identificar as mulheres que precisariam realizar uma colposcopia para finalizar um diagnóstico⁽⁴⁰⁾.

Combinando a citologia com o teste para HPV, nas mulheres em que simultaneamente a citologia está alterada e a captura híbrida é positiva, ainda assim a sensibilidade será em torno de 94% ou mais para a detecção da neoplasia do colo uterino, contudo ocorrerá uma modesta redução da especificidade⁽³⁹⁾.

O estudo ASCUS-LSIL *Triage Study* (ALTS), entre outros que o precederam, forneceu evidências de que o uso dos testes para HPV pode aumentar em 50% a detecção de NIC 3, se as mulheres com diagnóstico de atipias celulares limítrofes de células escamosas (do inglês, ASCUS) e testes de HPV positivos forem encaminhadas à colposcopia, em comparação com a simples repetição da citologia e o encaminhamento para colposcopia apenas se a segunda CO estiver alterada⁽³⁶⁾.

Os primeiros estudos sobre a combinação dos testes de HPV com CO no rastreamento primário do câncer cervical conseguiram demonstrar que, quando ambos os testes estão negativos, a probabilidade de a mulher vir a desenvolver NIC 3 nos 10 anos seguintes ao rastreamento é menor que 1%. Estudos mais recentes detectaram que o teste com HPV, de fato, aumenta a sensibilidade do rastreamento a níveis próximos de 100% em algumas circunstâncias, mas eleva o número de colposcopias desnecessárias (por falso-positivos) a quantidades impraticáveis⁽³⁶⁾.

Os métodos visuais de rastreamento de lesões precursoras baseiam-se no fato de que a maioria dessas lesões pode ser identificada a olho nu após a aplicação de ácido acético diluído ou compostos iodados, como o Lugol. A inspeção visual com ácido acético (IVA), que consiste na visualização direta da cérvix uterina após a aplicação de ácido acético a 3 ou 5%, é o método de rastreamento mais estudado como alternativa de substituição ou de suplementação da CO depois da detecção do HPV⁽³⁶⁾.

Tecnicamente, a IVA é um método muito simples. Consiste no exame direto, a olho nu, da cérvix uterina, auxiliado apenas por iluminação artificial após 1 a 2 minutos da aplicação do ácido acético. As maiores vantagens do exame são a simplicidade e o baixo custo. Outra vantagem é o fato de que o resultado do teste é imediato e a mulher a ser referida à propedêutica suplementar (colposcopia) recebe indicação na mesma consulta. Não é por acaso que tem sido utilizado em regiões pobres, para as quais a CO é logística e economicamente inviável ou muito difícil, que dirá então os testes de HPV⁽³⁶⁾.

Mas a IVA é um exame subjetivo e, mesmo quando executado por profissionais bem treinados, pode resultar em um número elevado de falso-positivos, comprometendo sua especificidade e seu poder preditivo positivo⁽³⁶⁾.

Apesar de a histologia nas biópsias de colo uterino ser considerada “padrão-ouro” na avaliação de neoplasias intraepiteliais e carcinomas invasores, é dependente da variabilidade intrainterobservador. Novos marcadores aplicados nos espécimes cirúrgicos e/ou nas biópsias poderiam melhorar a identificação de mulheres com resultados ambíguos que requeiram tratamento⁽⁴⁰⁾.

Os biomarcadores tumorais são indicadores de alterações que ocorrem durante o processo neoplásico. A expressão desses marcadores pode refletir diversos processos em andamento nas células tumorais. Um biomarcador tumoral ideal possui relação direta com o processo maligno, correlaciona-se com a massa tumoral, permite a caracterização do tipo de tumor, a localização, o estadiamento, bem como fornece uma avaliação prognóstica do tumor em questão⁽³⁷⁾.

Além da recorrência e/ou persistência da NIC nos primeiros anos de seguimento, as mulheres que foram tratadas de NIC 2 ou 3 permanecem em risco de desenvolver um carcinoma invasivo por um longo período de tempo, sendo por isso necessário o seguimento prolongado⁽²⁹⁾.

Não é possível, até o presente momento, predizer quais casos de NIC irão progredir ou regredir. Seguimento regular por citologia pode proporcionar boa proteção através da detecção das alterações celulares e conseguir, com isso, significante redução nos índices de morbimortalidade do câncer do colo uterino, entretanto, a relação custo-efetividade deste seguimento ainda está em debate⁽⁴¹⁾.

Um grande número de protocolos de seguimento tem sido recomendado. Estes incluem citologia, colposcopia, a combinação da citologia com a colposcopia e testagem para a presença de DNA-HPV, todos verificados numa grande variedade de intervalos⁽²⁹⁾.

Revisões sistemáticas da *performance* do teste DNA-HPV no seguimento pós-tratamento indicam-no como bom, chegando a exceder os resultados da CO. Em alguns estudos, a combinação do teste DNA-HPV com a citologia oncológica parece resultar no aumento da sensibilidade⁽²⁹⁾.

As principais linhas de investigação associadas aos processos anteriormente mencionados para a ocorrência e a progressão da neoplasia cervical focam, sobretudo, a identificação de proteínas celulares/teciduals ou circulantes, cuja expressão se encontre alterada em resposta à expressão das oncoproteínas virais⁽³⁷⁾.

Diversos estudos visam a análise dos níveis de proteínas relacionados ao evento da integração do DNA-HPV/oncoproteínas virais ao ciclo celular do hospedeiro. As principais descritas na literatura são: p53, p16^{INK4a}, MCM2-7, EGFR, ciclina D, ciclina E, p21^{waf1} e p27^{kip1}, entre outras⁽³⁷⁾.

Pesquisas atuais estão focadas no desenvolvimento de objetivos biomarcadores que possam distinguir infecção transformante por HPV e predizer a severidade da doença⁽⁴⁰⁾. Para países em desenvolvimento, é necessária uma avaliação do papel das novas tecnologias para a prevenção do câncer do colo uterino que sejam úteis no contexto da saúde. Qualquer combinação de quaisquer testes de rastreio aumenta a sensibilidade, mas diminui a especificidade e aumenta o custo. Apesar de promissores, não há ainda estudos suficientes mostrando qual é a melhor combinação⁽³⁸⁾.

Com base nestes dados, a colpocitologia oncológica ainda não pode ser substituída como método isolado no rastreamento e no

seguimento das lesões precursoras tratadas, porém biomarcadores estudados poderiam ser somados a ela no intuito de melhorar a acurácia do diagnóstico e do seguimento. Entretanto, como ainda não existem marcadores ideais, que consigam confirmar todos os casos positivos ou excluir todos os casos negativos para gravidade da doença, mais estudos são necessários para encontrar um marcador com alto valor preditivo positivo.

Conflito de interesse

Nenhum dos autores tem qualquer conflito de interesse e este trabalho foi unicamente custeado pelos autores e Instituições supracitadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WHO. Cervical Cancer. Internet. Disponível em: <http://www.who.int/reproductivehealth/topics/cancers/en>. Acessado em: 24 mar 2011.
2. WHO Cervical Cancer. Internet. Disponível em: <http://www.paho.org/english/ad/dpc/nc/accp.htm>. Acessado em: 24 mar 2011.
3. Trimble EL, Harlan LC, Gius D, Stevens J, Schwartz SM. Patterns of care for women with cervical cancer in the United States. *Cancer*. 2008;113(4):743-49.
4. INCA. Câncer de colo uterino / taxas brutas de incidência, estimativa 2008. Internet. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/colo-utero/definicao>. Acessado em: 24 mar 2011.
5. WHO. Effective screening programmes for cervical cancer in low and middle income developing countries. Internet. Disponível em: <http://www.who.int/en/>. Acessado em: 02 jul 2009.
6. Villa LL. HPV: um monstro prestes a ser controlado [editorial]. *J bras Doenças Sex Transm*. 2008;20(2):71-2.
7. Villa LL. Human Papillomaviruses and cervical cancer. *Adv Cancer Res*. 1997;71:321-41.
8. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV et al. Human Papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol*. 1999;189(1):12-9.
9. Muñoz N, Bosch FX. HPV and cervical neoplasia: review of case-control and cohort studies. *IARC Sci Publ*. 1992;(119):251-61.
10. Moscicki AB, Shiboski S, Broering J, Powel K, Clayton L, Jay N et al. The natural history of Human Papillomavirus infection as measured by repeated DNA testing in adolescent and young women. *J Pediatr*. 1998;132(2):277-84.
11. IARC. International Agency for Research on Cancer Monographs of evaluation of carcinogenic risks to humans. Lyon, France. 1995; 49: 1409-1995. Disponível em: <http://www.who.int/en/>. Acessado em: 02 jul 2009.
12. Frazer I. Correlating immunity with protection for HPV infection. *Inter J Infect Dis*. 2007;11(suppl 2):S10-S16.
13. ZurHausen H. Viruses in human cancers. *Science*. 1991; 254(5035):1167-73.
14. ZurHausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *J Nat Can Inst*. 2000;92(9):690-8.
15. Silva TT. Fatores de risco para neoplasia intraepitelial cervical em pacientes submetidas à avaliação morfológica e pesquisa de DNA-HPV [dissertação de mestrado]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2004.
16. Campaner AB, Santos RE, Galvão MAL. Importância do tabagismo na carcinogênese do colo uterino. *Femina*. 2007;35(11):713-17.
17. Kjellberg L, Hallmans G, Ahren AM, Johansson R, Bergman F, Wadell G et al. Smoking, diet, pregnancy and oral contraceptive use as risk factors for cervical intraepithelial neoplasia in relation to human papillomavirus infection. *Br J Cancer*. 2000;82(7):1332-8.
18. Harris TG, Kulasingam SL, Kiviat NB, Mao C, Agoff SN, Feng Q et al. Cigarette smoking, oncogenic human papillomavirus, Ki-67 antigen, and cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Epidemiol*. 2004;159(9):834-42.

19. Sierra-Torres CH, Acosta-Aragón MP, Orejuela-Aristizabal L. Papilomavirus y factores asociados a neoplasia intraepitelial cervical de alto grado en Cauca, Colombia. *Rev Salud Pública (Bogotá)*. 2006;8(Suppl): 47-58.
20. Tsai HT, Tsai YM, Yang SF, Wu KY, Chuang HY, Wu TN et al. Lifetime cigarette smoke and second-hand smoke and cervical intraepithelial neoplasia- a community-based case-control study. *Gynecol Oncol*. 2007;105(1):181-8.
21. Sarian LO, Hammes LS, Longatto Filho A, Guarisi R, Derchain SF, Roteli-Martins C et al. Increased risk of oncogenic Human Papillomavirus-infections and incident high-grade cervical intraepithelial neoplasia among smokers. *Sex Transm Dis*. 2009;36(4):241-8.
22. Yoshikawa H, Nagata C, Noda K, Nozawa S, Yajima A, Sekiya S et al. Human papillomavirus infection and other risk factors for cervical intraepithelial neoplasia in Japan. *Br J Cancer*. 1999;80(3/4):621-4.
23. Schiff M, Becker MT, Masuk M, Asselt-King L, Wheeler CM, Altobeli KK et al. Risk factors for cervical intraepithelial neoplasia in Southwestern American Indian women. *Am J Epidemiol*. 2000;152(8):716-26.
24. Syrjänen K, Shabalova I, Petrovichev N, Kozachenko V, Zakharova T, Pajanidi J et al. Smoking is an independent risk factor for oncogenic human papillomavirus (HPV) infections but not for high-grade CIN. *Eur J Epidemiol*. 2007;22(10):723-35.
25. McFarlane-Anderson N, Bazuaye PE, Jackson MD, Smikle M, Fletcher HM. Cervical dysplasia and cancer and the use of hormonal contraceptives in Jamaican women. *BMC Womens Health*. 2008;8:9. Published online 2008 May 30. doi: 10.1186/1472-6874-8-9. Acessado em: 15 nov 2010.
26. De Villiers EM. Relationship between steroid hormone contraceptives and HPV cervical intraepithelial neoplasia and cervical carcinoma. *Int J Cancer*. 2003;103(6):705-8.
27. Russomano F, Reis A, Camargo MJ, Grinszlej B, Tristão MA. Recurrence of cervical intraepithelial neoplasia grades 2 or 3 in HIV-infected women treated by large loop excision of the transformation zone (LLETZ). *Sao Paulo Med J*. 2008;126(1):17-22.
28. Leitao MM, White P, Cracchiolo B. Cervical cancer in patients infected with the human immunodeficiency virus. *Cancer*. 2008;112(12):2683-89.
29. Wright Jr TC, Massad S, Dunton JC, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon DD. 2006 Consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia or adenocarcinoma in situ. *AJOG*, 2007, October: 340-345, Available from: www.AJOG.org. Acessado em: 08 set 2009.
30. Figueiredo PG, Gontijo C, Derchain SFM, Nakano FY, Teixeira JC, Martinez EZ. Carcinoma microinvasor no cone pós-biopsia dirigida compatível com nic3. *RBGO*. 2002;24(1):37-43.
31. Duggan BD, Felix JC, Muderspach LI, Gebhardt JA, Groshen S, Morrow P et al. Cold-knife conization versus conization by loop electrocautery excision procedure: a randomized, prospective study. *Am J Obstet Gynecol*. 1990;180(2 Pt 1):276-82.
32. Maluf PJ, Adad SJ, Murta EF. Outcome after conization for cervical intraepithelial neoplasia grade III: relation with surgical margins, extension to crypts and mitoses. *Tumori*. 2004;90(5):473-7.
33. Nagai Y, Maehama T, Asato T, Kanazawa K. Persistence of human papillomavirus infection after therapeutic conization for CIN 3: is it an alarm for disease recurrence? *Gynecol Oncol*. 2000;79(2):294-9.
34. Park JY, Lee KH, Dong SM, Kang S, Park SY, Seo SS. The association of pre-conization high-risk HPV load and the persistence of HPV infection and persistence/recurrence of cervical intraepithelial neoplasia after conization. *Gynecol Oncol*. 2008;108(3):549-54.
35. Lima MIM, Melo VH, Tafuri A, Labanca AC, Lima LM. 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. *RBGO*. 2006;28(9):536-44.
36. Sarian LO, Derchain SFM, Bastos JFB. Métodos diagnósticos para o rastreamento do câncer de colo [editorial]. *RBGO*. 2010;32(8):363-7.
37. Termini L, Villa LL. Biomarcadores na triagem do câncer do colo uterino. *J bras Doenças Sex transm*. 2008;20(2):125-31.
38. Nomelini RS, Barcelos ACM, Michelin MA, Adad SJ, Murta EFC. Prevenção do câncer de colo uterino: testes biomoleculares para HPV. *Feminina*. 2007;35(5):295-99.
39. Ekalaksananan T, Pientog C, Sriamporn S, Kongyngyoes B, Pengsa P, Kleebkao P et al. Usefulness of combining testing for p16 protein and human papillomavirus (HPV) in cervical carcinoma screening. *Gynecol Oncol*. 2006;103(1):62-6.
40. Tsoumpou I, Arbyn M, Wentzensen N, Koliopoulos G, Martin-Hirsch P, Malamou-Mitsi V et al. p16 (INK4a) immunostaining in cytological and histological specimens from the uterine cervix: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Treat Rev*. 2009;35(3):210-20.
41. Wang JL, Zheng BY, Li XD, Angstrom T, Lindstrom MS, Wallin KL. Predictive significance of the alterations of p16INK4a, p14ARF, p53 and proliferating cell nuclear antigen expression in the progression of cervical cancer. *Clin Cancer Res*. 2004;10(7):2407-14.

Endereço para correspondência:**FERNANDA VILLAR FONSECA**

Rua Hugo Kinzelmann, 283, sb 07

Campina do Siqueira, Curitiba, Paraná, Brasil

CEP: 80740-100

Tel.: (041) 3335-8017, (041) 9198-4902

E-mail: luifernascimento@terra.com.br

Recebido em: 23.11.2011

Aprovado em: 21.05.2012