

*Plano de pesquisa para exame de
qualificação, nível de doutorado,
Faculdade de Ciências Médicas
Unicamp, área de concentração de
Anatomia Patológica*

Aluno: Paulo Newton Danzi Salvia

Orientadora: Profa. Dra. Liliana A.L.A. Andrade

Co-orientadora: Profa. Dra. Christine Hackel

*INDICADORES DE DOENÇA
RESIDUAL NO SEGUIMENTO
DE PACIENTES CONIZADAS
POR LESÃO INTRAEPITELIAL
ESCAMOSA DE ALTO GRAU*



Introdução

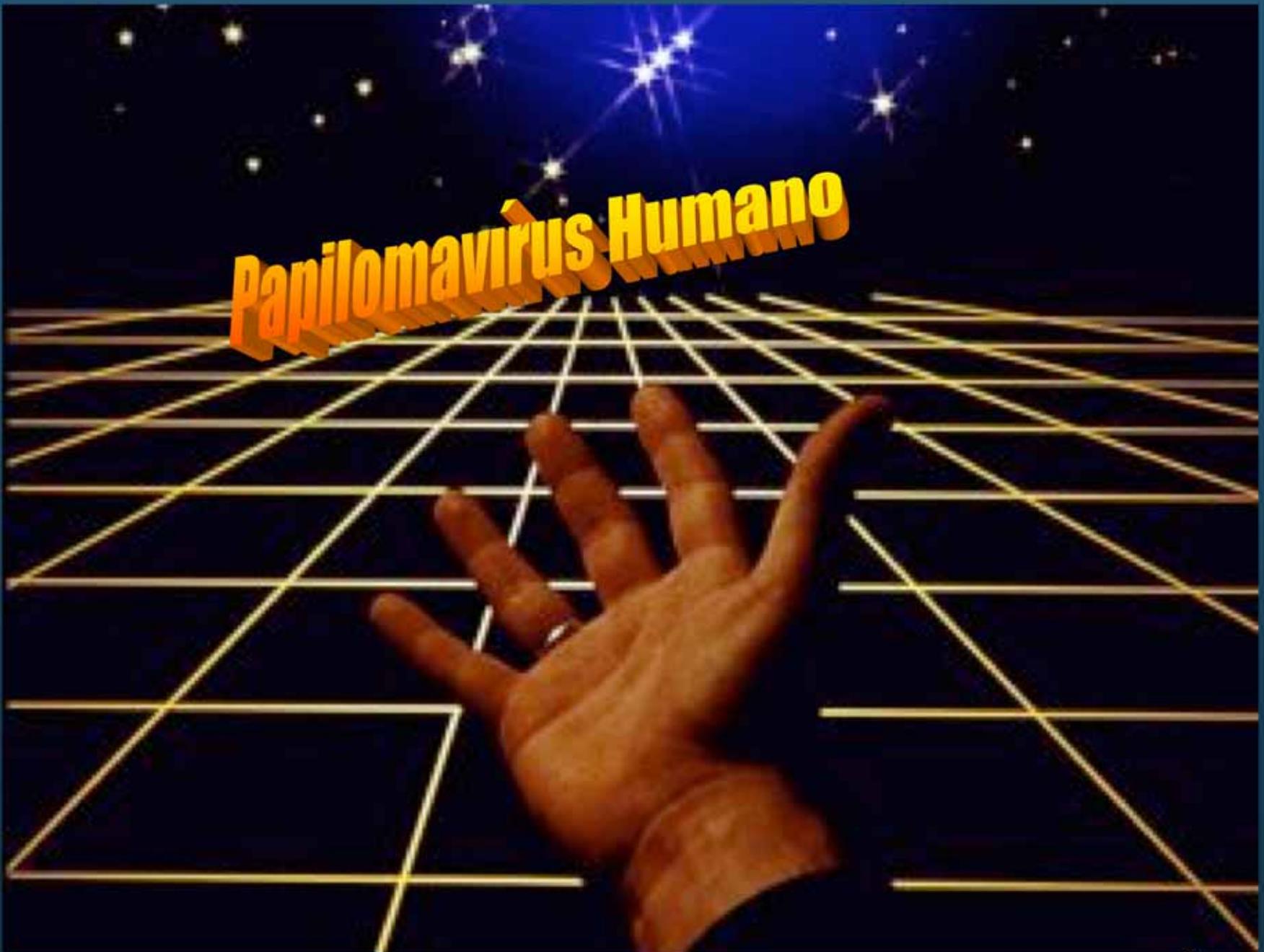
Papilomavírus Humano

- Conhecendo o vírus
 - Estrutura Molecular
- Técnicas de detecção
- Tipos virais
- Prevalência no câncer cervical
- História natural da infecção

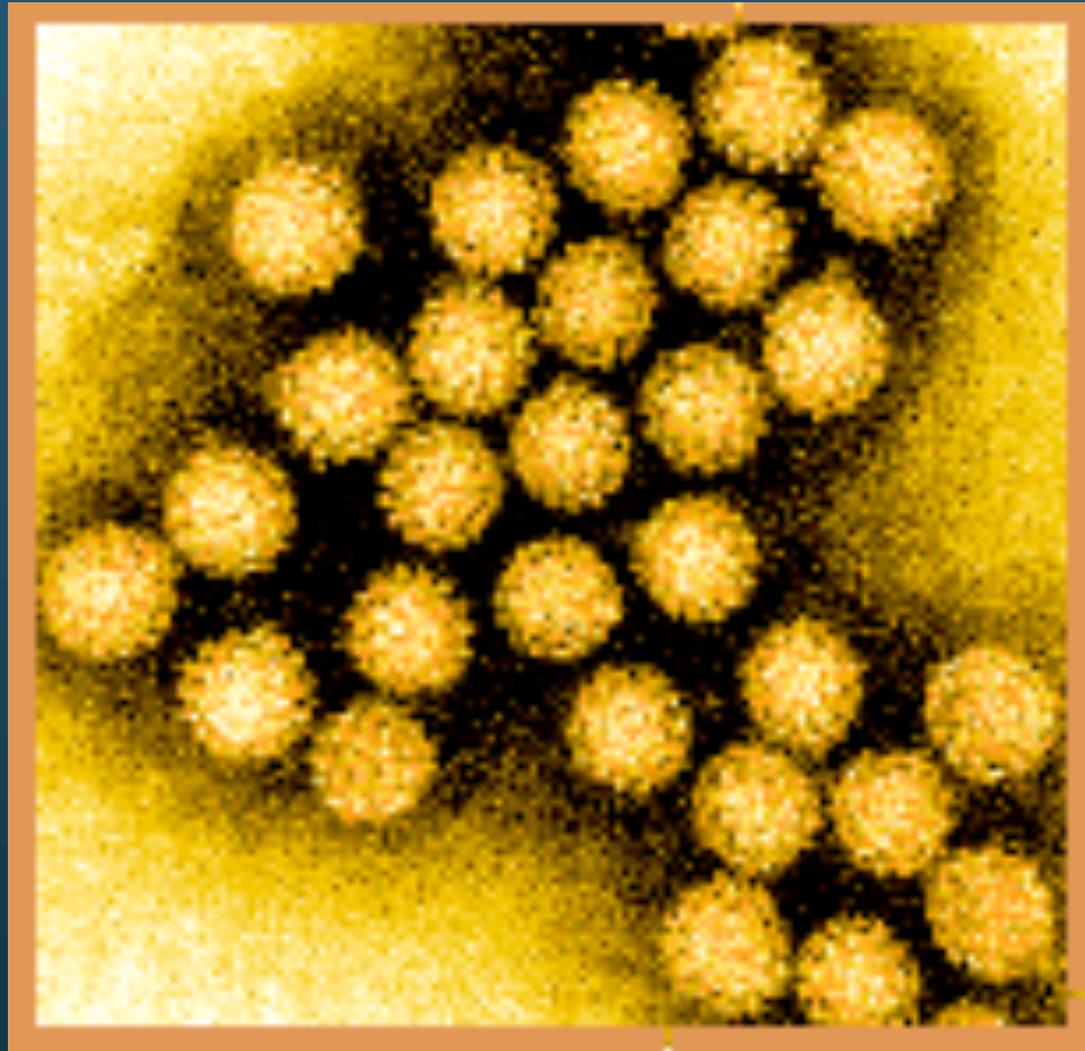
Projeto

- Doença residual
 - conceito
- Revisão de literatura
- Objetivos
- Pacientes e Métodos

Papilomavirus Humano



- Pequenos
- Oncogênicos
- Livres de lipídios
- Similares à Microscopia Eletrônica



Melnich 

PAPOVAVÍRUS :

➤ Papilomavírus



➤ Polyomavírus



➤ “Vacuolating
vírus” (SV 40)

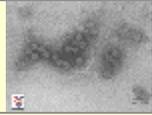
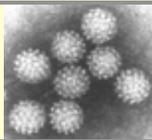
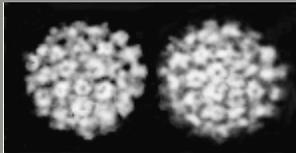
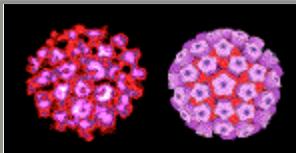


Papovaviridae - Papovaviruses

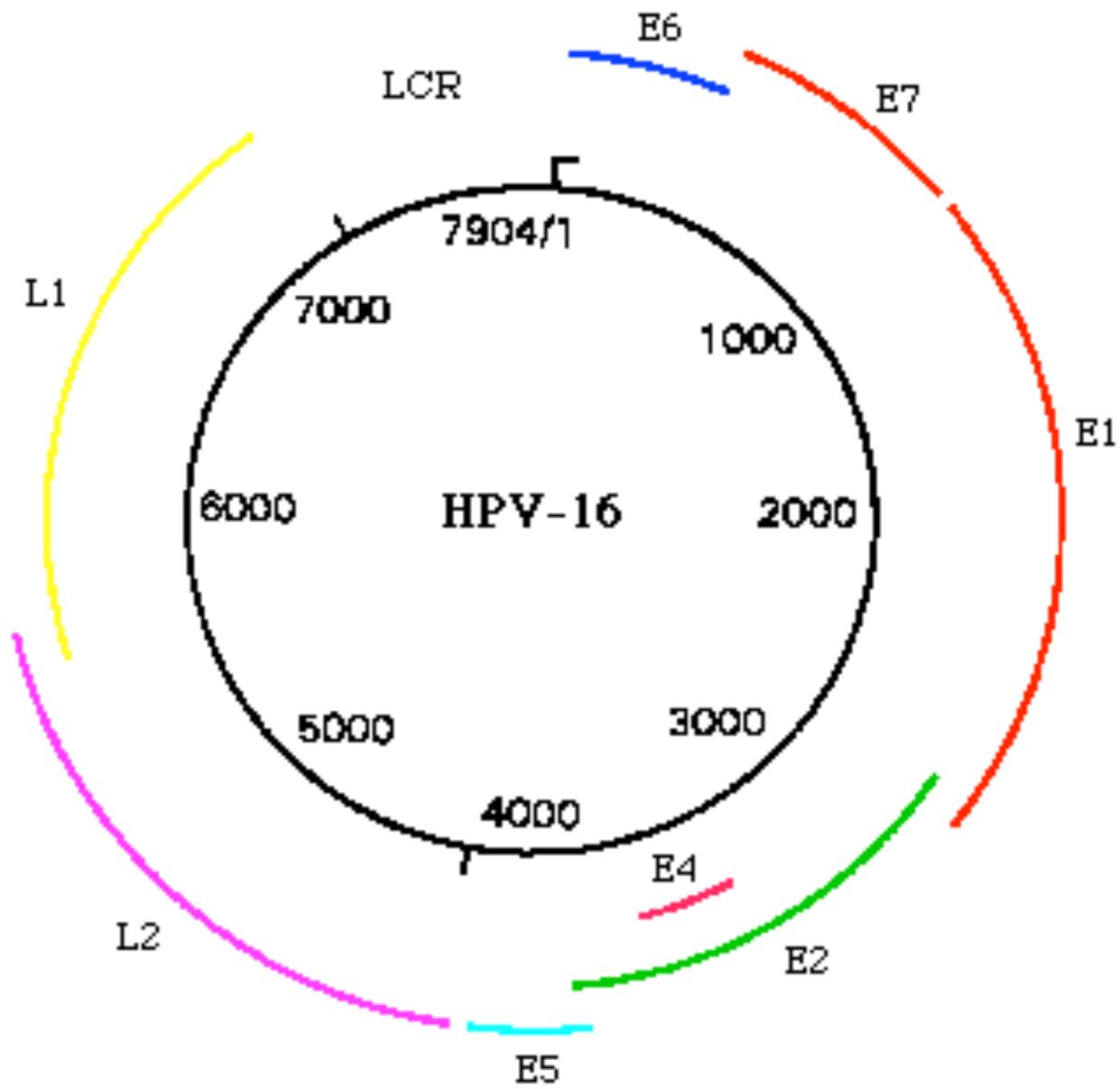
[ICTV - Datas](#)

[Links!](#)

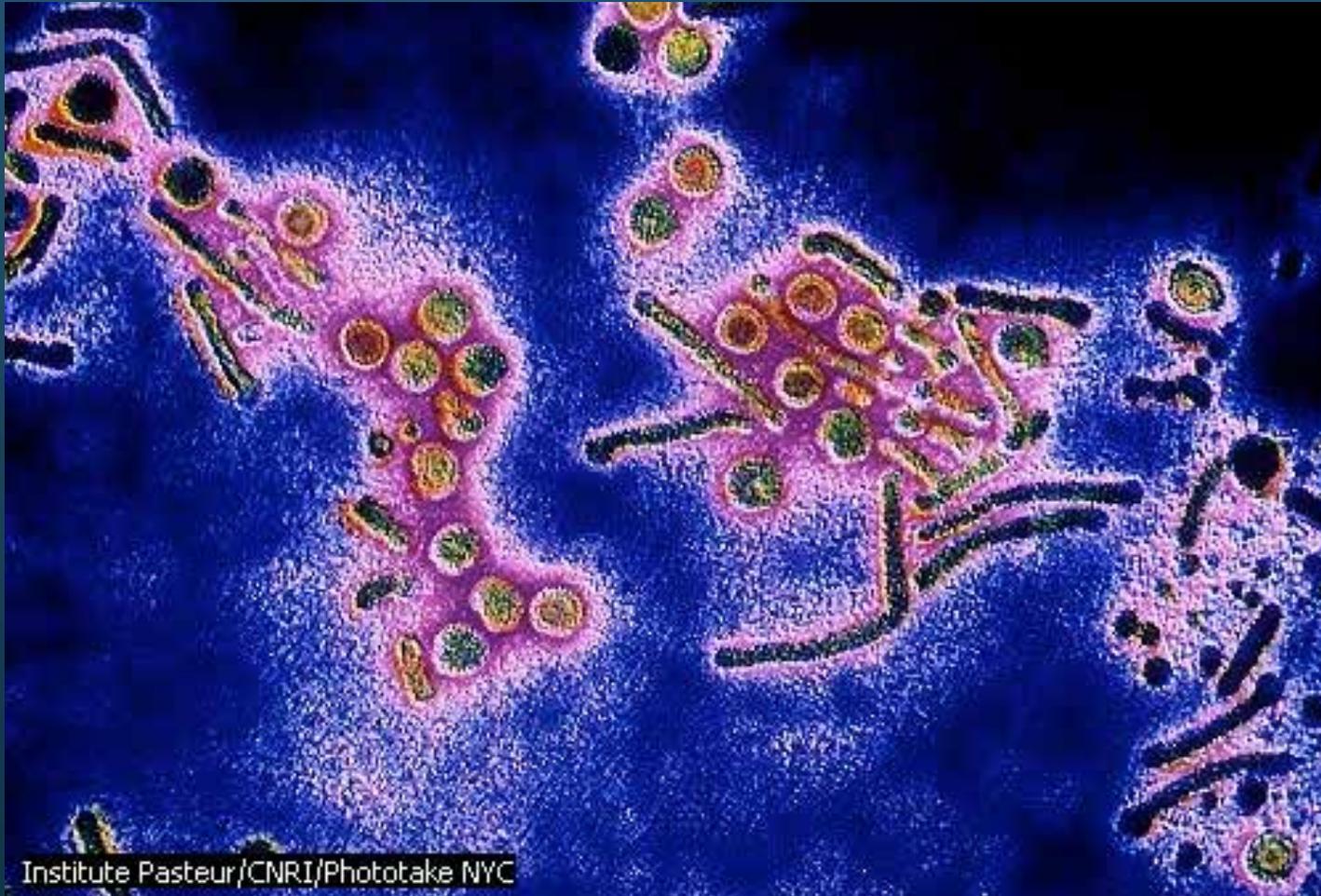
[Tutorial](#)

Family	Genus	EM Images	Example Virus	Diseases
Papovaviridae	• Polyomavirus	N/A	murine polyomavirus	
		N/A	Rabbit (Shope) Papillomavirus	
			an animal papillomavirus	
			multiple human papillomaviruses	
			a human papillomavirus	
	• Papillomavirus		a human papillomavirus	
			A model of the papillomavirus capsid is shown beside a computer colored EM image.	
			a human papillomavirus	

Family or Unassigned genus	Nature of the genom ^e	Presence of an envelope	Morphology	Genome Configuration	Genom e Size kbp or kb	Host
Iridoviridae	dsDNA	-	isometric	1 linear	140-383	Vertebrates/Invertebrates
Phycodnaviridae	dsDNA	-	isometric	1 linear	160-380	Algae
Baculoviridae	dsDNA	+	bacilliform	1 circular supercoiled	80-180	Invertebrates
Herpesviridae	dsDNA	+	isometric	1 linear	125-240	Vertebrates
Adenoviridae	dsDNA	-	isometric	1 linear	28-45	Vertebrates
Rhizidiovirus	dsDNA	-	isometric	1 linear	27	Fungi
Polyomaviridae	dsDNA	-	isometric	1 circular	5	Vertebrates
Papillomaviridae	dsDNA	-	isometric	1 circular	7-8	Vertebrates
Polydnaviridae	dsDNA	+	rod, fusiform	multiple supercoiled	150-250	Invertebrates
Ascoviridae	dsDNA	+	reniform	1 linear	100-180	Invertebrates
Inoviridae	ssDNA	-	filamentous	1 + circular	7-9	Bacteria, Mycoplasmas
Microviridae	ssDNA	-	isometric	1 + circular	4-6	Bacteria, Spiroplasmas



Técnicas de análise de HPV-DNA



Técnicas de análise de HPV-DNA

➤ PCR { “in situ”
“in filtro” } → RFLP

➤ Hibridização { “in situ”
“in filtro” }

➤ Captura de Híbridos

➤ Imunoistoquímica

Comparação entre as técnicas

	Captura de Híbridos (HC2)	PCR	IMPX / HIS
Execução	Simples	Complexa tempo varia	Complexa rápida (24h)
Morfologia do tecido	Não preserva	Não preserva	Preserva
Conservação	Líquido	Líquido	Lâminas
Carga viral	Sim	Não	Não

Comparação entre as técnicas

	Captura Híbrida (HC2)	PCR	IMPX / HIS
Sensibilidade	Boa	Padrão ouro	Moderada
% Detecção/tipo	18 sondas investigadas	Todos os tipos (100%)	Sondas Investigadas
Forma de detecção	Por grupos de risco	Tipo específico Ex: HPV 16	Tipo específico
Reações cruzadas	Sim	Não	Não

CAPTURA DE HÍBRIDOS

- Reação de hibridização molecular
 - utiliza sondas não radioativas
 - detecção de híbridos RNA-DNA por quimioluminescência
- 5 fases



CAPTURA DE HÍBRIDOS

1ª fase:

Digestão/desnaturação



CAPTURA DE HÍBRIDOS

2ª fase:

- Os DNAs alvos combinam-se com sondas RNA-específicas criando-se os híbridos RNA-DNA.

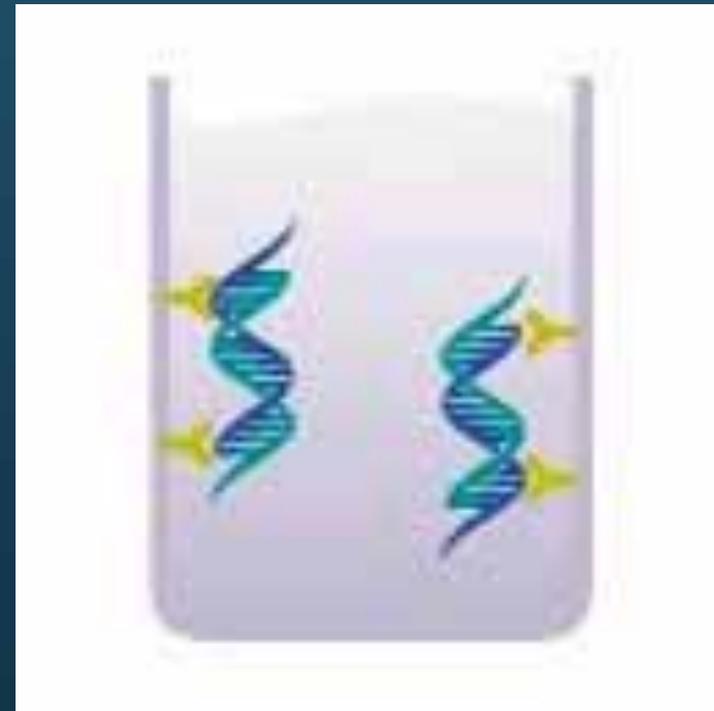


CAPTURA DE HÍBRIDOS

3ª fase:

- Transferência dos híbridos para um recipiente cuja parede é revestida por anticorpos específicos contra os mesmos, imobilizando-os .

Captura dos híbridos

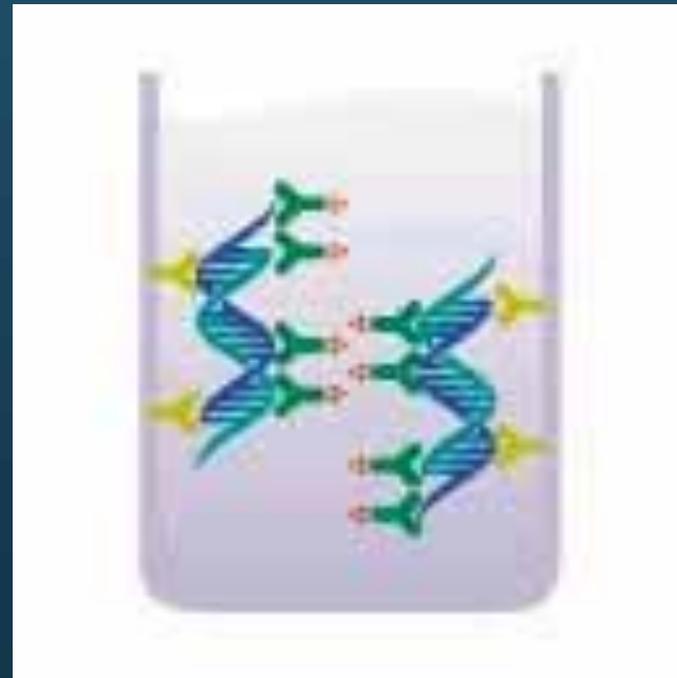


CAPTURA DE HÍBRIDOS

4ª fase:

- Os híbridos imobilizados reagem com anticorpos específicos para RNA/DNA conjugados à fosfatase alcalina

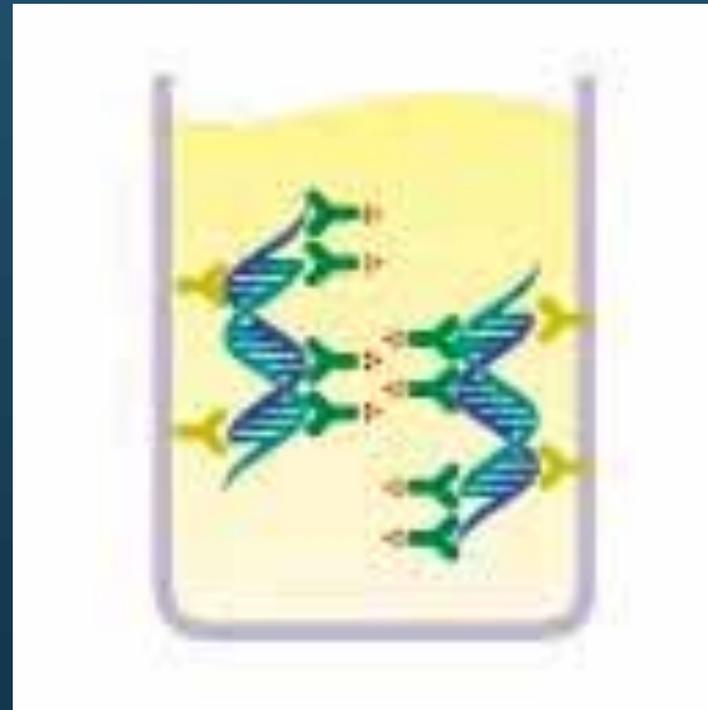
Reação com conjugado



CAPTURA DE HÍBRIDOS

5ª fase:

- Reação com uma substância quimioluminescente (o substrato), que sofre ação (clivagem) da fosfatase alcalina.



CAPTURA DE HÍBRIDOS

- O substrato emite luz que é medida como unidade relativa de luz (URL) no luminômetro.
- Estes valores são comparados com controles positivos e negativos .
- A medida URL igual ou acima do valor de corte (controle positivo) indica a presença de DNA-HPV no espécime e abaixo, ausência.

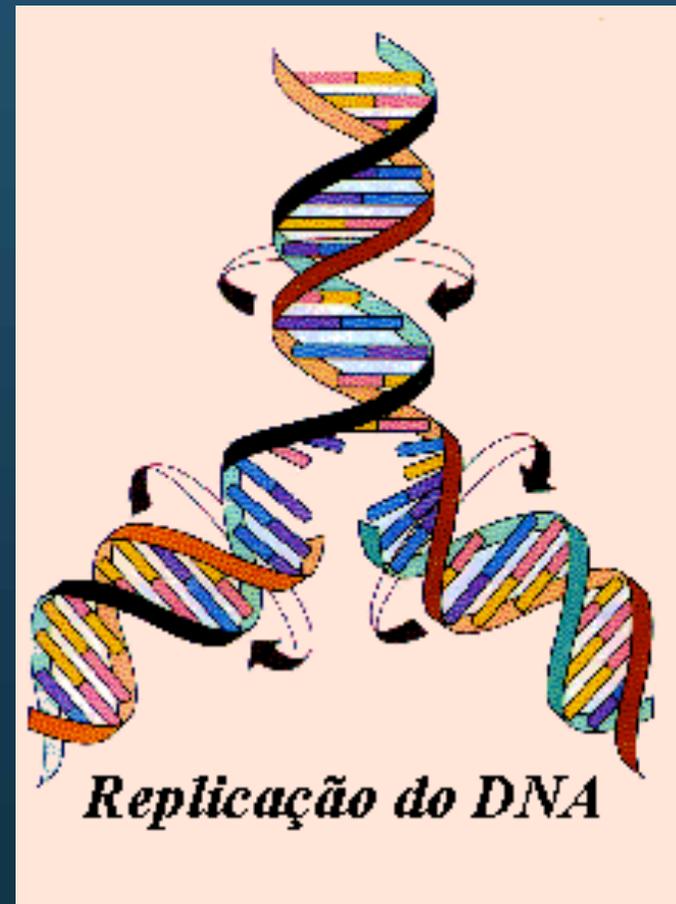
CAPTURA DE HÍBRIDOS

Detecção:

- 18 tipos virais agrupados em dois pools de sondas:
- Sondas para os vírus de alto risco:
 - tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68.
- Sondas para os vírus de baixo risco:
 - tipos 6, 11, 42, 43 e 44

Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

- DEFINIÇÃO:
síntese de ácidos
nucléicos pelo
qual um segmento
específico de
DNA é replicado



Reação em Cadeia da Polimerase

■ AMOSTRAS

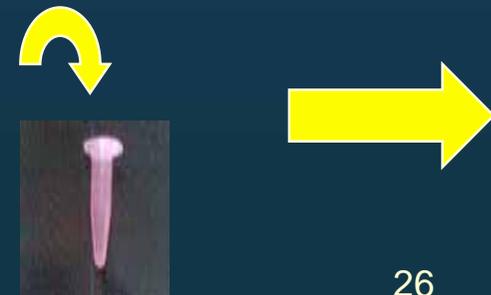
- Secreções (cérvico-vaginal,oral,etc)
- Líquido amniótico (Investigação de Paternidade)
- Sangue (manchas na cena do crime)
- Tecido fresco
- Material Formolizado
- Material Parafinado
- Bulbo capilar
- Ossos



Reação em Cadeia da Polimerase

Reagentes necessários:

- Fita molde de DNA (extraído da amostra)
- Um par de primers: pequena seqüência de DNA que inicia a reação
- Desoxiribonucleotídeos: Unidades do DNA
- Taq DNA polimerase: enzima que liga os nucleotídeos à fita molde



Reação em Cadeia da Polimerase

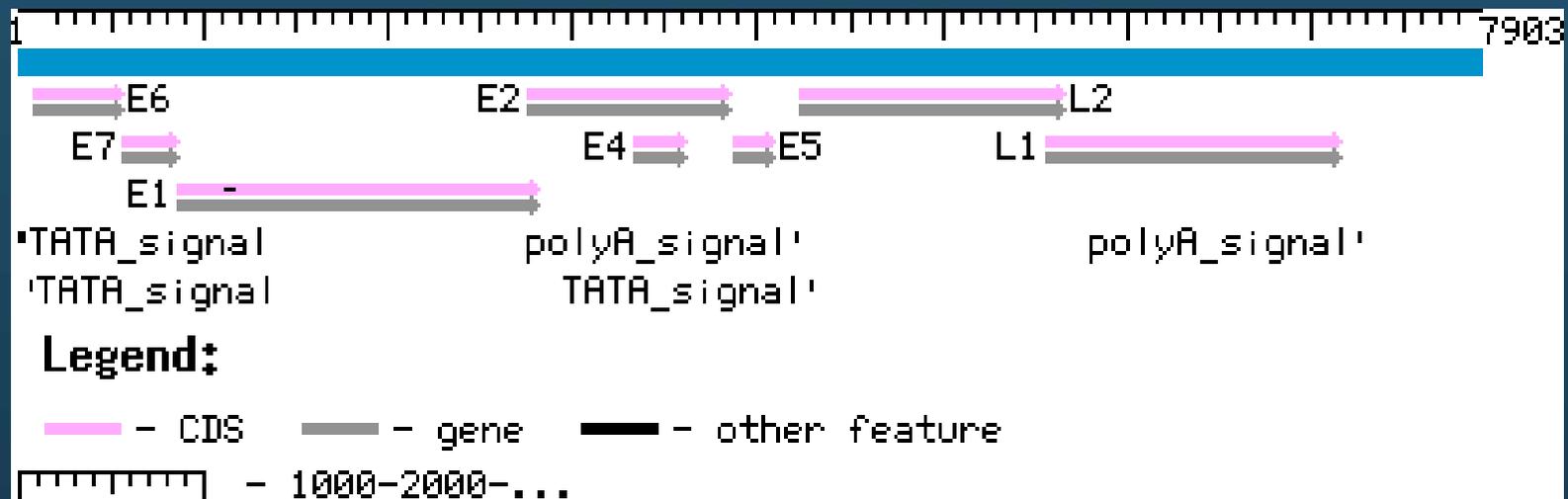


Reação em Cadeia da Polimerase

Como ocorre a Reação:

- Desnaturação do DNA - 94 a 96 °C
- Anelamento dos primers com as seqüências complementares do DNA molde - 50 a 65 °C
- Extensão - Taq DNA polimerase - 72 °C

Human papillomavirus type 16, complete genome [1..1000]



Gene L1 do HPV 16 (5526 a 7154)

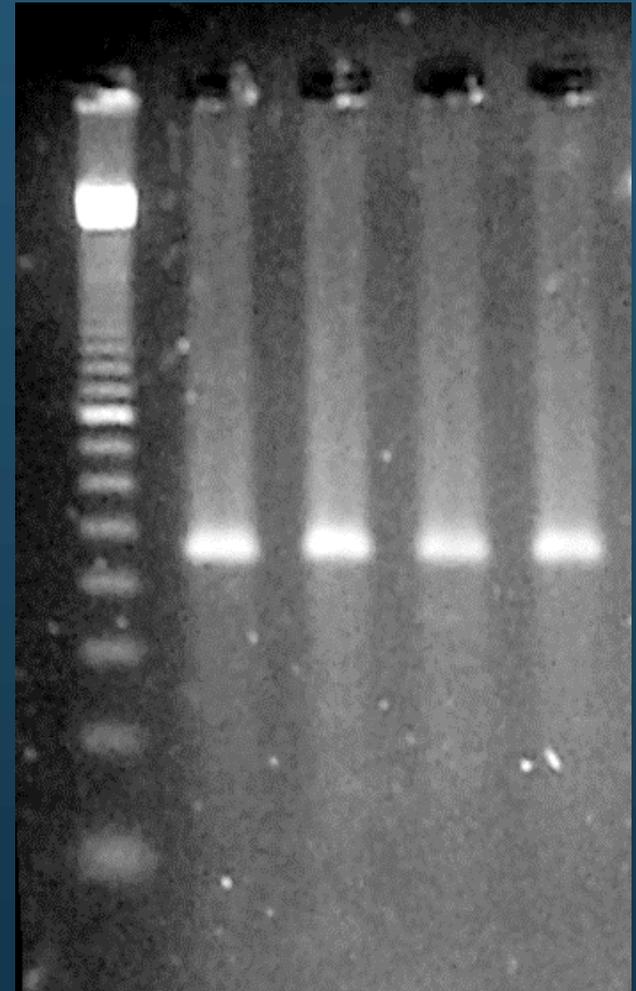
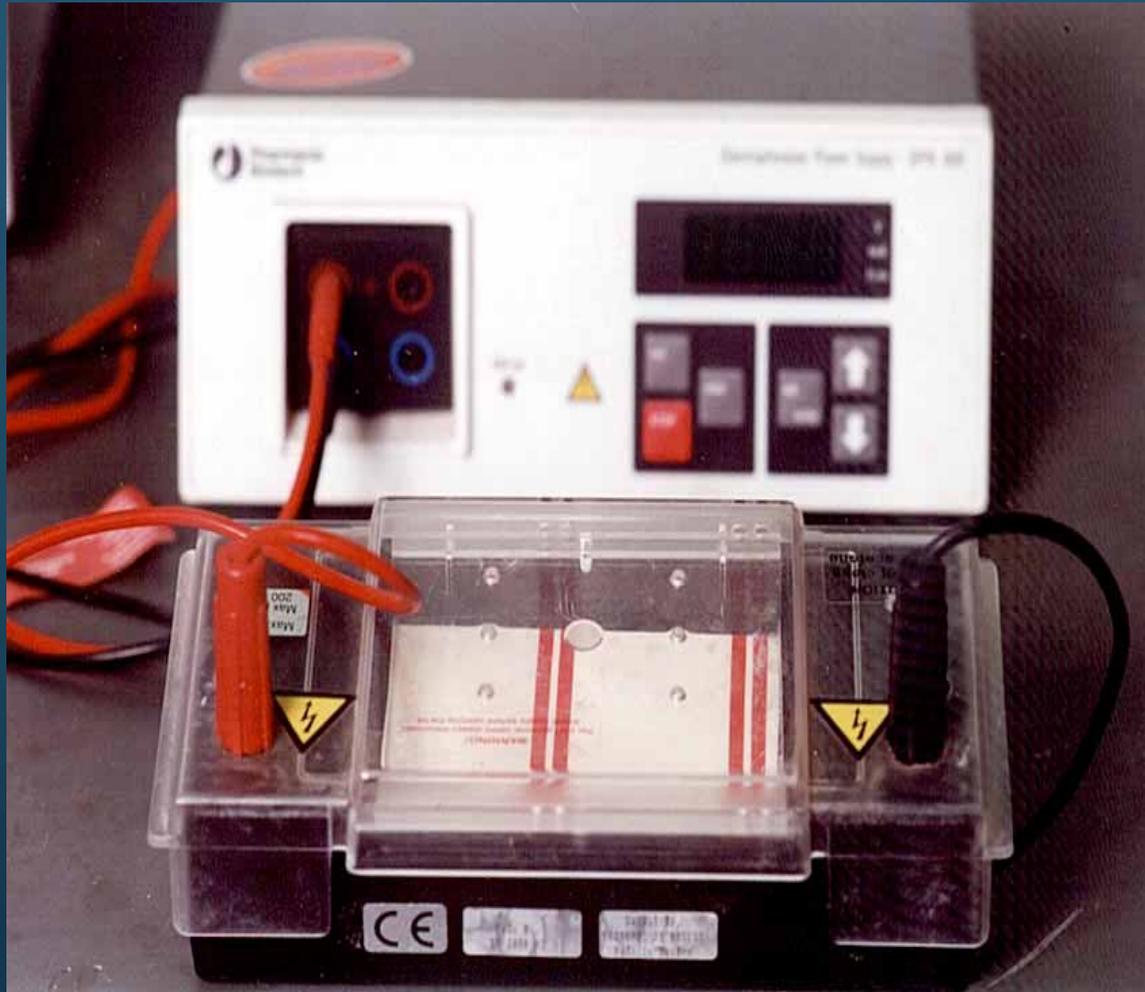
5521 tatagttcca gggctctccac aatatacaat tattgctgat gcaggtgact tttatttaca
5581 tcctagttat tacatgttac gaaaacgacg taaacgttta ccatatTTTT tttcagatgt
5641 ctctttggct gcctagtgag gccactgtct acttgccctcc tgtcccagta tctaagggtg
5701 taagcacgga tgaatatggt gcacgcacaa acatatatta tcatgcagga acatccagac
5761 tacttgcagt tggacatccc tattttccta ttaaaaaacc taacaataac aaaatattag
5821 ttctaaagt atcaggatta caatacaggg tatttagaat acatttacct gacccaata
5881 agtttggttt tcctgacacc tcattttata atccagatac acagcggctg gtttgggcct
5941 gtgtaggtgt tgaggtaggt cgtggtcagc cattaggtgt gggcattagt ggccatcctt
6001 tattaataa attggatgac acagaaaatg ctagtgctta tgcagcaaat gcaggtgtgg
6061 ataatagaga atgtatatct atggattaca aacaaacaca attgtgttta attggttgca
6121 aaccacctat aggggaacac tggggcaaag gatccccatg taccaatggt gcagtaaatac
6181 caggtgattg tccaccatta gagttaataa acacagttat tcaggatggt gatatggttc
6241 atactggctt tggtgctatg gactttacta cattacaggc taacaaaagt gaagttccac
6301 tggatatttg tacatctatt tgcaaatac cagattatat taaaatgggtg tcagaacat
6361 atggcgacag cttatTTTT tatttacgaa ggaacaaat gtttgtaga catttattta

Registro de aneliza3ro dos primers:

* My09 e My11 (6583-6602/7015-7034) ---▶

* GP5+ e GP6+ (6624-6649/6719-6746) —▶

```
6361 atggcgacag cttatTTTTT tatttacgaa gggacaacaat gtttgttaga catttattta
6421 atagggctgg tactgttggt gaaaatgtac cagacgattt atacattaaa ggctctgggt
6481 ctactgcaaa tttagccagt tcaaattatt ttctacacc tagtggttct atggttacct
6541 ctgatgccca aatattcaat aaaccttatt ggttacaacg agcacagggc cacaataatg
6601 gcatttgttg gggtaaccaa cttttgttta ctgttgttga tactacacgc agtacaata
6661 tgtcattatg tgctgccata tctacttcag aaactacata taaaataact aactttaagg
6721 agtacctacg acatggggag gaatatgatt tacagtttat ttttcaactg tgcaaaataa
6781 ccttaactgc agacgttatg acatacatac attctatgaa ttccactatt ttggaggact
6841 ggaattttgg tctacaacct ccccaggag gcacactaga agatacttat aggtttgtaa
6901 cccaggcaat tgcttgtcaa aaacatacac ctccagcacc taaagaagat gatcccctta
6961 aaaaatacac tttttgggaa gtaaatttaa aggaaaagt ttctgcagac ctagatcagt
7021 ttcctttagg acgcaaattt ttactacaag caggattgaa ggccaaacca aaatttacat
7081 taggaaaacg aaaagctaca cccaccacct catctacctc tacaactgct aaacgcaaaa
7141 aacgtaagct gtaagtattg tatgtatggt gaattagtgt tgtttgttgt gtatatgttt
```



DNA X CITOLOGIA



Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia

ADN-VPH y Citología para detectar SIL

	Umbral	ADN-VPH		Citología	
		Sensib.	Espec.	Sensib.	Espec.
Manos 1999	HSIL	89,2	64,1	76,2	-
Mitchell 1999	LSIL	0,65	0,73	75,0	73,0
Clavel 1999	HSIL	100	85,2	85,3	94,9
Cuzick 1999	HSIL	95,2	95,1	85,7	96,9
Wright 2000	HSIL	83,9	84,5	67,9	87,9
Nanda 2000	LSIL	-	-	69,0	81,0
Nanda 2000	HSIL	-	-	58,0	92,0
Schiffman 2000	HSIL	88,4	89,0	77,7	94,2
Solomon 2001	HSIL	96,3	-	85,3	-

Davies et al. *Bail Clin Obstet Gynecol.* 2001;15:677 (modificado)

Tipos de HPV

❖ 1976 - 4

❖ 1980- 6

❖ 1982- 13

❖ 1983- 24

❖ 1986- 40

❖ 1989- 60

❖ 1997- 77

❖ 2004- 83

<ftp://ftp-t10.lanl.gov/pub/papilloma/GenBank-files/Human-papilloma>

<http://hpv-web.lanl.gov/stdgen/virus/hpv/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/VIRUSES/151340.html>

David A Baunoch

- Advance for Administrators of the Laboratory , May 2001, Vol.10 N.05 P.69.

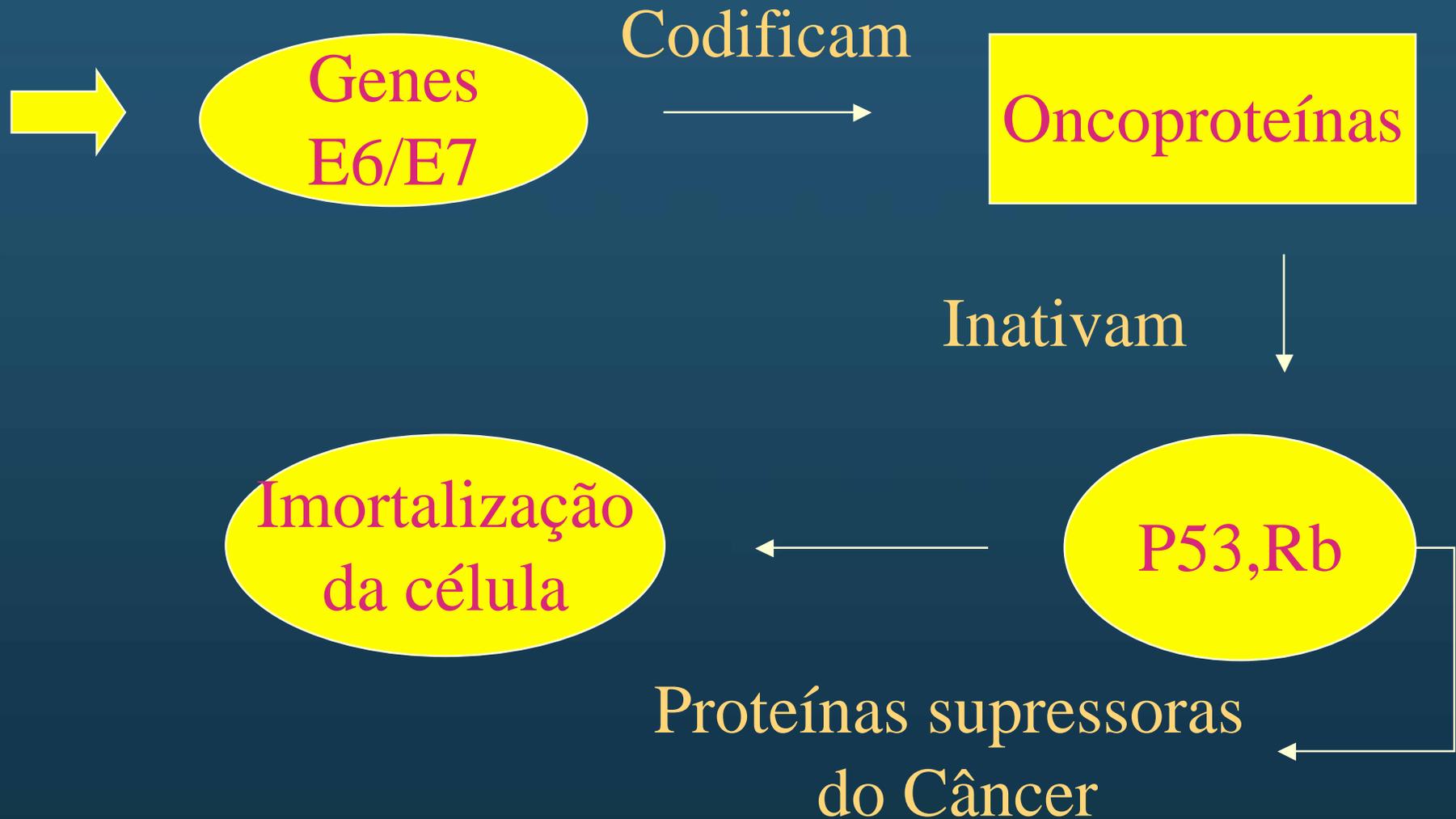
Helt AM e col.

- J Virol 2002 Oct;76(20):10559-68

Diferença entre os grupos de Alto e Baixo Risco:

→ Papel transformante dos produtos
(oncoproteínas) dos genes E6 e E7





Ano-genitais:

- Alto risco : 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 e 82
- Potencialmente oncogênicos: 26, 53 e 66
- Baixo Risco : 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81

<http://www.aepcc.org/congreso/pdf/CONS-VPH.pdf> (em2004)

*Documento de Consenso - LA INFECCIÓN POR
PAPILOMAVIRUS*

Prevalência:

<u>Tipo</u>	<u>Mulheres com CA</u>	<u>Mulheres sem Lesão</u>
16	50-60 %	20 %
18	10-12 %	10 %
31/45	4.5 %	8 %

F.X.Bosch IARC , Florianópolis 2001

No Brasil:

Cunha F et al. 1999

- PCR de 1501 mulheres sem história anterior de SIL
 - Idade média = 35 anos
- 10,3% de mulheres da população brasileira são HPV-DNA positivas

ASCO - American Society of Clinical Oncology N° 1438-Ano 1999

Prevalência no câncer cervical

Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia

Estudios caso-control de cáncer de cérvix (IARC)

	VPH + (%)		OR	(IC 95%)
	Casos	Controles		
Brasil	97.0	17.3	177.0	(65.5-478.3)
Paraguay	98.1	19.8	208.1	(46.4-932.8)
Perú	96.9	17.7	115.9	(48.6-276.4)
Malí	96.9	33.3	63.0	(10.0-400.6)
Marruecos	97.1	21.6	113.7	(42.3-305.3)
Tailandia	96.5	15.7	163.5	(82.0-325.9)
Filipinas	96.4	9.2	276.8	(139.7-548.3)
España	82.4	5.9	75.7	(32.9-174.2)

Muñoz et al. N Engl J Med 2003;95:518-27.

F. Xavier Bosch, M. Michele Manos et al., 1995



1035 casos de CA

PCR DNA-HPV

93 % Positivos

7 % Negativos



PCR com nova geração
de primers

GP5+/GP6+, CP I/II, SP

E7, E6



4 % se Positivaram

Dos negativos restantes

38 % não tinham tecido
tumoral na amostra

Após Re-cálculo
99,7 % DNA de HPV
no Carcinoma Cervical

Risco Relativo de portar HPV para CA cervical

HbsAG / CA Fígado	20
HCV / CA Fígado	
Pós vacina / HVB Korea	0,6
Pós vacina / HVB Taiwan	0,1
Cigarro / CA Pulmão	10
HPV / CA cervical	* 100
HPV 18 / AdenoCA	* 1000

TABLA III

Riesgo de cáncer de cérvix según genotipo viral

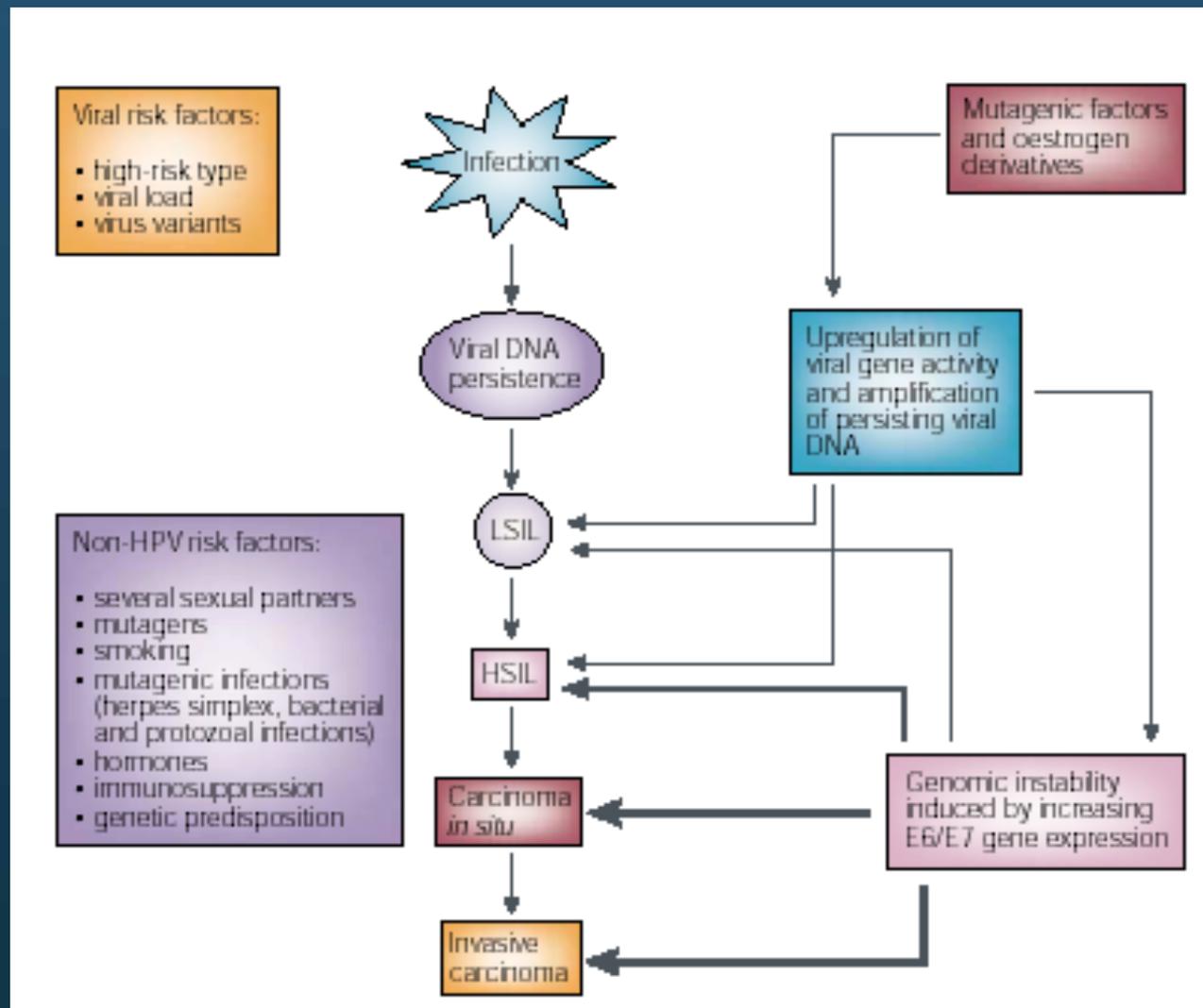
Genotipo	OR	(IC 95%)
16	434,5	(278,2-678,7)
18	248,1	(138,1-445,8)
45	197,6	(91,7-425,7)
31	123,6	(53,5-286,0)
52	200,0	(67,8-590,1)
33	373,5	(46,7-298,6)
58	114,8	(45,1-292,6)
35	73,8	(26,4-206,5)
59	419,2	(54,2-3.242,0)
51	66,5	(20,0-221,0)

Muñoz et al. N Engl J Med 2003;95:518-27.

História Natural da Infecção pelo HPV

Harald zur Hausen

Nature - Maio/2002 – Vol 2 • www.nature.com/reviews/cancer



Período médio da Infecção

Brasil

- Alto Risco 13,5
- Baixo Risco 8,2

EUA

Média em meses

- Qualquer 8
- Alto Risco 6-8
- 16 16,4

Progressão para CA invasor

- 2 fatores são necessários

1. PRESENÇA DO HPV ONCOGÊNICO (DE ALTO RISCO)
2. INFECÇÃO PERSISTENTE

Persistência Viral

Schlecht NF e col.

JAMA 2001 Dec 26;286(24):3106-14

- ➔ Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia.
- Estudo Longitudinal em São Paulo
- 1611 mulheres com CO normal
- 1993 a 1997 com seguimento até 2000
- CO e DNA 4 em 4 meses no 1º ano, depois 2x/ano

Schlecht NF, Kulaga S, Robitaille J, Ferreira S, Santos M, Miyamura RA, Duarte-Franco E, Rohan TE, Ferenczy A, Villa LL, Franco EL.

Schlecht NF e col.

Incidência de SIL:

- Mulheres livres de HPV nas 2 primeiras visitas:
 - 0,73 por 1000 mulheres-meses
- Mulheres com infecção persistente pelos HPV's tipos 16 ou 18 em ambas as visitas:
 - 8,68

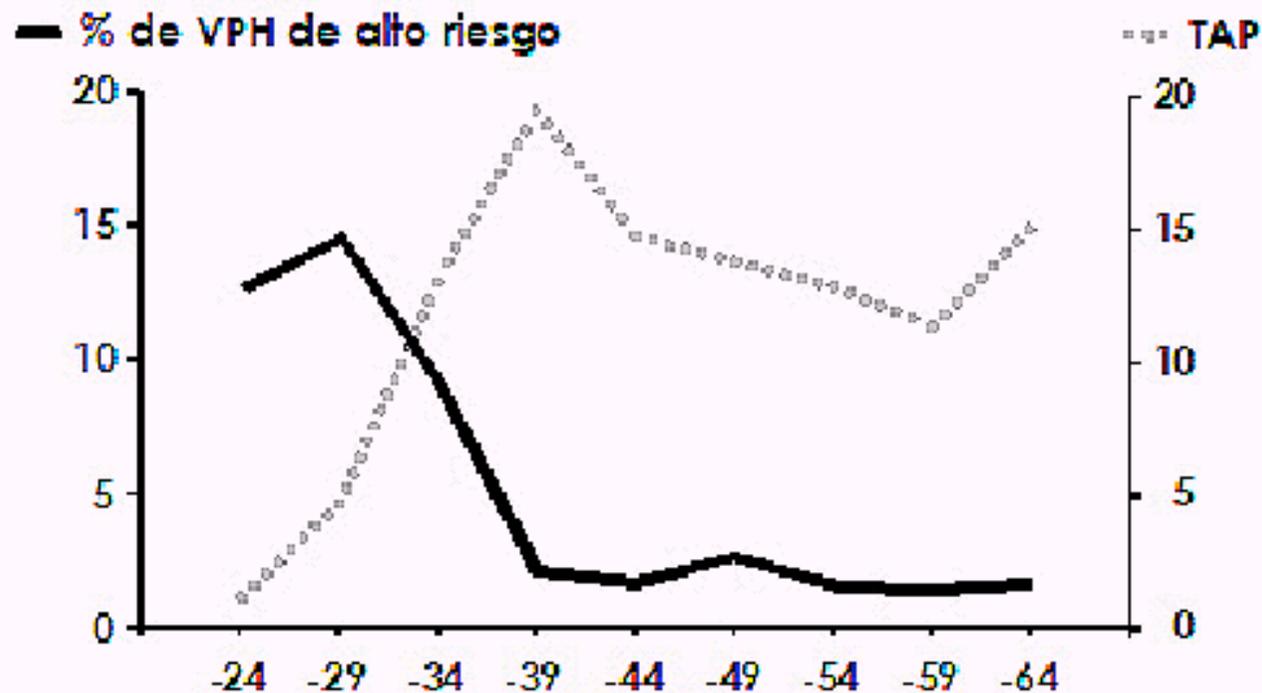
Schlecht NF e col.

- Risco relativo de incidência de SIL:
 - 10,19 (95% CI, 5,9-17,6)

para INFECÇÕES PERSISTENTES
com HPV oncogênico em relação às
HPV negativas em ambas as visitas
iniciais .

Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia

Relación entre prevalencia de VPH e incidencia de cáncer de cérvix según edad.



TAP: Tasa ajustada a la población mundial
Ref. Jacobs et al. (2000); CIVC Vol II (1997)

Carga Viral

Clavel C e col.

Br J Cancer 2001 Jun 15;84(12):1616-23

- Teste de HPV como “screening” primário para detecção de HSIL (alto grau)
- 7932 mulheres (França)

Clavel C e col.

Conclusões:

Sensibilidade para NIC III

- Teste de DNA : 100 %
- CO convencional: 68,1%
- CO de base líquida: 85,6%
- ➔ • Carga viral: não é fator seguro para predizer HSIL em esfregaços normais.

Lorincz AT e col.

Lancet 2002 Jul 20;360(9328):228-9

- Cohort de 20.810 mulheres seguidas por 10 anos (screening citológico e DNA)
- Objetivo: Verificar se a alta carga viral prediz risco futuro de NIC III ou câncer

Conclusões:

- • A presença do HPV aumenta fortemente o risco de NIC III ou +
- • A carga viral elevada não prediz o risco de NIC III ou +.

Comportamento biológico das SII

Ostor AG

Int J Gynecol Pathol 1993 Apr;12(2):186-92,Ostor AG.

Revisão de literatura desde 1950:

- Evolução espontânea das SIL
- 3529 casos

Revisão de literatura desde 1950:

Evolução espontânea das SIL - 3529 casos

	NIC I	NIC II	NIC III
Regressão	57%	43%	<u>33%</u>
Persistência	32%	35%	
Progressão para NIC III	11%	22%	
Progressão para Cancer Invasivo	1%	5%	<u>12%</u>

Syrjanen KJ

Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 1996 Mar;65(1):45-53

- 530 mulheres em Kuopio
- 14 anos de seguimento

Syrjanen KJ

Taxa de regressão espontânea

- 66,7% para HPV-NIC qq
- 55,7% para HPV-NIC I

Taxa de progressão espontânea

- 6,3% para HPV-NIC qq
- 14,2% para HPV-NIC I

Melnikow J e col.

Obstet Gynecol 1998 Oct;92(4 Pt 2):727-35

Melnikow J, Nuovo J, Willan AR, Chan BK, Howell LP.

- Revisão História Natural das SIL
- Selecionaram 15 de 81 estudos
- 27929 pacientes

Melnikow J e col.

Estatísticas de progressão e regressão em 24 meses

CO	Progressão a HSIL	Progressão a CÂNCER	Regressão
ASCUS	7,13%	0,25%	68,19%
LSIL	20,81%	0,15%	47,39%
HSIL	23,37%	1,44%	35,03%

Forsmo S e col.

Int J Cancer 1997 Mar 28;71(1):4-8.

- Noruega – Efeito do tratamento dos NIC III na incidência de CA (1965-92)

Mulheres sem nenhuma intervenção:

- Probabilidade progressão de NIC III para Câncer invasivo: 20% / Tempo médio: 16 anos
- 4/5 mulheres com NIC III não progrediriam

Literatura

- Todas as amostras de CA invasor cervical contêm DNA de HPV
- A presença e persistência de HPV oncogênico são necessárias para o desenvolvimento do CA invasor
- O desaparecimento do HPV prediz a regressão das lesões mesmo no estágio de HSIL (Alto Grau).
- A carga viral não prediz HSIL

Literatura

- Duração da Infecção
 - ✓ Tipo qualquer – cerca de 8 meses
 - ✓ HPV 16 - dobro do tempo (persiste mais)
- Resolução espontânea das infecções: 80 a 90 %
Persistência: 10 a 20%
- O Valor Preditivo do DNA-HPV para SIL e Câncer Cervical aumenta muito após os 30 anos de Idade

Progressão

Sabemos:

NIC III  CÂNCER



Fatores Promotores

(PERSISTÊNCIA VIRAL, reativação da infecção, oncoproteínas, fatores cromossômicos do hospedeiro)

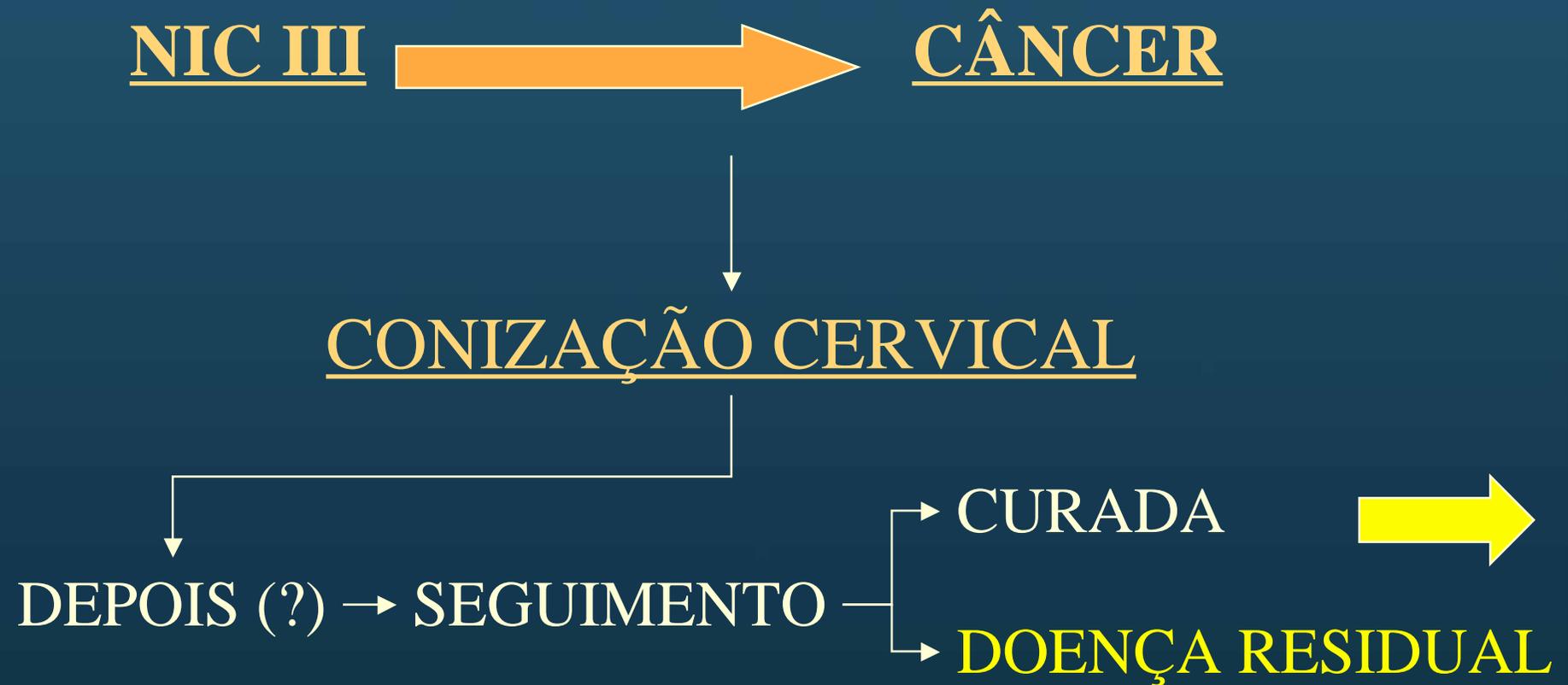
Progressão

NIC III → CÂNCER

Espontaneamente

NIC III	24 meses	20 anos
<u>Progressão/CA invasor</u>	<u>1,44%</u>	<u>20%</u>
Regressão	35,03%	80%

Conduta



Doença residual cervical

- Definição:
- É a doença (lesão) que permaneceu na paciente após a ablação cirúrgica (exérese ou conização cervical) ter sido efetuada.

Gurgel MS

Gynecol Oncol 1997 Jun;65(3):437-40

Gurgel MS, Bedone AJ, Andrade LA, Panetta K

- Histerectomia pós cone
(carcinoma microinvasivo)
- 163 casos entre 1967 e 1994 (Unicamp)

Gurgel MS

Conclusão:

Neoplasia residual na histerectomia foi mais frequente quando as margens no cone estavam comprometidas e quando havia sinais morfológicos de infecção pelo HPV.

Costa S e col

Gynecol Oncol 2002 Apr;85(1):119-24

- 699 pacientes conizadas (electrosurgical)
- Doença residual: 38 pacientes (5,4%)

Nenhum destes fatores influenciou

- Idade da paciente
- Período de tempo
- Tamanho da lesão
- Sítio da lesão
- Grau do NIC
- Tamanho do cone
- Profundidade do cone
- Margens Cirúrgicas

Jain S e col.

Gynecol Oncol 2001 Jul;82(1):177-80

- Estudo prospectivo com 79 pacientes conizadas por NIC III
- Margens positivas = margens no cone ou curetagem endocervical positiva
- Realizado teste de DNA (HC II) antes e depois da conização

Jain S e col.

Gynecol Oncol 2001 Jul;82(1):177-80

79 cones pacientes com NIC III

• Margens positivas

47(59,5%)

• DNA HPV

POS 37 (78,7%)

NEG 10 (21,3%)

Doença residual:

31/47 pacientes (66%)

Não houve Doença Residual:

Nos casos HPV NEG

Jain S e col.

79 cones pacientes com NIC III

• Margens negativas

32(59,5%)

• DNA HPV

POS 7 (22%) *

NEG 25 (78%)

* Doença residual:

1/7

Alex Ferenczy

Alex Ferenczy, Quebec, Florianópolis 2001

- 184 Mulheres
- Doença Residual (NIC II/III Pós Cone) ocorreu em 29 (15,8%)

Sensibilidade:

PAP: 62%

DNA-HPV: 90%

- Valor Preditivo Negativo

(PAP normal + HPV Negativo) : 99 %

Alex Ferenczy

- Florianópolis 2001

Uma et al. Gynecolo Oncol 67:1997

Murdoch et al , Br J Obstet Gynecol 99:1992

Revisão

- Se diagnóstico no cone = Lesão Intraepitelial Escamosa
 - 20-80 % não terão doença residual
 - Margens livres: 4 % terão doença residual no seguimento



Alex Ferenczy

Conclui:

O Teste de DNA-HPV tem :

- Sensibilidade elevada
- Valor Preditivo Negativo elevado

Margens Cirúrgicas:

- Não têm Valor Preditivo

Jack Cuzick

Jack Cuzick – London, England, Florianópolis 2001

Revisão de 9 estudos de recorrência de SIL pós cone

- 90-100% destes casos são HPV (+)
- Mulheres HPV (-) provavelmente não terão doença recorrente

Negri G e col.

Anticancer Res. 2003 Sep-Oct;23(5b):4289-92

- 62 mulheres submetidas à excisão larga da zona de transformação
- Controle: HC II imediatamente após cirurgia e 3/9 meses após + CO de base líquida

Negri G e col.

CONCLUSÕES:

- O teste de HPV na cirurgia e no seguimento é bem adequado para detectar infecção residual pelo HPV mesmo em mulheres com margens livres.
- Pode substituir a curetagem endocervical e auxiliar na distinção entre verdadeira doença residual e re-infecções.

Johnson N e col

BJOG. 2003 Oct;110(10):952-5

- Predicting residual disease after excision of cervical dysplasia.
- 702 mulheres foram seguidas por 30 meses após excisão cervical

Johnson N e col

- RESULTADOS:
- O risco de persistência de anormalidade citológica foi o dobro quando: margens endocervicais comprometidas e/ou evidência de HPV
- Margem ectocervical comprometida ou grau da NIC não se associaram com aumento de risco para doença residual

Bar-Am A e col

Gynecol Oncol. 2003 Oct;91(1):149-53

- Follow-up by combined cytology and human papillomavirus testing for patients post-cone biopsy: results of a long-term follow-up
- 67 mulheres conizadas por NIC II/III foram seguidas por 63 meses com CO e HPV-DNA

Bar-Am A e col

Duas CO + ou HPV-DNA +

Colposcopia/biopsia dirigida

NIC II/III ou carga viral alta

Reconização

Bar-Am A e col

- Valor Preditivo Positivo (VPP) de



	<u>NIC qq</u>	<u>NIC II/III</u>
Carga viral alta	100%	90%
LIEBG citológica	60%	15%

- Carga viral alta com LIEBG ou CO normal
 - 80% de risco para NIC II/III

Bar-Am A e col

- CONCLUSÃO:
- Adicionar o teste de DNA-HPV com carga viral no protocolo de seguimento de pacientes pós-conizadas por NIC II/III pode auxiliar na detecção de LIEAG residual entre pacientes com LIEBG e CO n1 e tem a vantagem de diminuir o número de colposcopias e procedimentos cirúrgicos

Houfflin Debarge V

Gynecol Oncol. 2003 Sep;90(3):587-92

- Value of human papillomavirus testing after conization by loop electrosurgical excision for high-grade squamous intraepithelial lesions
- 205 pacientes conizadas por NIC II/III
- HPV-DNA (HC II) antes e 3 meses após conização

Houfflin Debarge V

- Seguimento: intervalos de 3 e 6 meses
- Doença residual: Lesão histológica comprovada que ocorreu dentro do primeiro ano após tto primário (citologia com atipia neste intervalo)
- Doença recorrente: Lesão histológica comprovada que ocorreu após duas citologias normais no seguimento

Houfflin Debarge V

Frequências

- HPV+ antes da conização 94,1%
- HPV+ após conização 34,6%
- Margens + 36,1 %
- Doença residual 13,2%
- Doença recorrente após 18 meses 2%

Houfflin Debarge V

RESULTADOS

- Margens + tiveram mais DR que margens -
- HPV antes do tto não se correlacionou c/ DR
- HPV pós tto correlacionou-se c/ DR:
 - Sensibilidade: 81% para DR e 100% para recorrência
 - VPN: 96% para DR e 100% para recorrência

*PORTANTO, COM BASE
NESTES ESTUDOS NOSSA
HIPÓTESE:*

HPV-DNA na SIL

Auxilia:

- Diagnóstico
- Seguimento
- Controle terapêutico

HPV-DNA na SIL

- ➔ ❖ Melhor indicador de doença residual pós cone com elevadas sensibilidade e valor preditivo negativo sendo indicado para controle terapêutico no seguimento

A sunset scene with a bright sun low on the horizon, casting a golden glow over a dark sky with wispy clouds. Below the horizon, a grid of perspective lines in a light yellow-green color extends towards the viewer, creating a sense of depth and a futuristic or digital landscape.

Indicadores de doença residual cervical

Estudo prospectivo

- Estudo prospectivo de 1000 pacientes conizadas por NIC II ou III

Objetivos Gerais

- Definir e comparar os indicadores de doença residual cervical pós cone na lesão intraepitelial escamosa (NIC II ou III)
- Comparar os resultados com dados da literatura

Objetivos específicos

Determinar risco relativo para doença residual, estabelecendo valores preditivos positivos e negativos para os seguintes fatores isoladamente ou combinados:

Objetivos específicos

1. Presença de DNA de HPV na amostra coletada após a cirurgia,
2. Carga viral,
3. Situação das margens cirúrgicas ecto e endocervicais,
4. Grau da lesão,
5. Atipia na citologia oncótica cervical tradicional.

Pacientes e métodos

- Primeiro ano:
 - solicitação de aprovação do projeto pela comissão de ética institucional (1 mês) .
 - envio do projeto aos órgãos fomentadores para buscar financiamento (2 meses).
 - convite a serviços de referência em oncologia para participar da pesquisa (2 meses)
 - definir protocolo com critérios de inclusão, de exclusão e de procedimentos frente aos achados laboratoriais (2 meses).

Pacientes e métodos

- Primeiro ano:
 - escolha dos laboratórios onde serão processadas as amostras (1 mês)
 - eleição das pacientes, coleta de assinatura convidando para participar da pesquisa e autorizando à manipulação das amostras com finalidade para pesquisa (1 ano)
 - conização cervical, processamento da peça, leitura das lâminas com determinação do grau da lesão e situação das margens (1 ano)

Pacientes e métodos

- Primeiro e segundo ano:
 - coleta das amostras para citologia oncológica convencional, HC II e PCR imediatamente após a cirurgia e com 3 e 6 meses após, no seguimento (2 anos)
 - processamento das amostras e leitura dos resultados

Pacientes e métodos

- Primeiro e segundo ano:
 - Coleta das amostras provenientes da procedimentos pós-cone (biópsias, re-cones ou histerectomias), processamento e leitura das lâminas
 - Análise estatística e redação dos resultados.