

A acurácia dos testes de Biologia molecular para HPV no diagnóstico de doença residual após tratamento das lesões intraepiteliais escamosas

HPV molecular test accuracy in the diagnosis of residual disease after intraepithelial lesions treatment

Maria José Penna Maissonette de Attayde Silva¹
Ana Katherine da Silveira Gonçalves²
Ana Claudine Pontes³
Cíntia de Freitas Andrade³

Palavras-chave

Sondas DNA HPV
Biologia molecular
Neoplasias do colo do útero

Keywords

DNA Probes, HPV
Molecular biology
Uterine cervical neoplasms

Resumo

As pacientes submetidas ao tratamento de lesões intra-epiteliais de alto grau (LIE-AG) necessitam realizar rigoroso controle, pois apresentam maior risco de lesão residual ou persistente. O presente estudo tem por objetivo avaliar a acurácia da captura híbrida do tipo II, comparada à citologia oncológica no seguimento de pacientes submetidas a tratamento de LIE-AG. Foi realizada revisão sistemática, incluindo-se todos os artigos encontrados até agosto de 2009 e, combinando-se os descritores para cada base de dados específica. Os 260 estudos encontrados foram submetidos a rigorosa avaliação e selecionados a partir de sua qualidade metodológica. Conclui-se que o teste de captura híbrida do tipo II é um método de maior sensibilidade e menor especificidade quando comparado à citologia oncológica, e sua utilização é adequada no seguimento de pacientes com maior risco de lesões intraepiteliais.

Abstract

Patients submitted to treatment for high squamous intraepithelial lesions (HSIL) need stricter follow-up exams due to a higher risk of persistent or residual lesion. This study aims to evaluate hybrid capture accuracy (type II), compared with Pap smear accuracy, in HSIL patients follow-up. A systematic review was made including all the papers published until August 2009, and combining descriptors for each specific database. The 260 studies were submitted to rigorous evaluation and selected based on their methodological quality. It was concluded that the hybrid capture test type II is a more sensitive method with lower specificity when compared with Pap smear and its use is recommended during the follow-up of patients with increased risk of intraepithelial lesions.

Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) – Natal (RN), Brasil

¹ Professora-assistente; mestre pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) – Natal (RN), Brasil

² Professora adjunto; doutora pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) – Natal (RN), Brasil

³ Aluna de graduação da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) – Natal (RN), Brasil

Endereço para correspondência: Maria José Penna Maissonette de Attayde Silva – Rua Desembargador Dionísio Filgueiras, 777, 1601–CEP 59022-020 – Petrópolis – Natal (RN), Brasil – E-mail: mmaisonette@uol.com.br

Introdução

O tratamento das lesões precursoras do câncer de colo uterino é a forma de prevenção secundária preconizada pelos manuais de conduta nacional e internacional para controle do câncer^{1(D),2(B),3(D)}. Atualmente, a cirurgia de alta frequência é a forma terapêutica mais utilizada nos tratamentos das lesões intraepiteliais de alto grau (LIE-AG). Esse procedimento é considerado similar à conização clássica com as vantagens de se remover menos tecido, utilizar anestésico local e prescindir de internação hospitalar. Quando comparado aos métodos destrutivos, tem a vantagem de fornecer material para avaliação histopatológica^{3,4(D)}.

Após o tratamento das LIE-AG é importante o seguimento rigoroso, pois aproximadamente 10% das pacientes podem apresentar doença residual ou recorrente^{3,4(D)}. Vários fatores de risco são citados na literatura como associados à persistência da doença, dentre eles o tamanho da lesão, a extensão para o epitélio glandular, o comprometimento das margens ecto ou endocervical e a persistência da infecção pelo vírus do papiloma humano (do inglês *human papilloma virus*, HPV)^{5(D),6-9(B)}. A detecção do HPV ocorre em 30% das pacientes submetidas ao tratamento das LIE-AG e a sua identificação pode ser um marcador de risco de persistência da infecção^{6,7(B)}. Em reunião de consenso americano, 2001, foi preconizado como seguimento após tratamento das LIE-AG o uso da citologia oncológica, depois de quatro a seis meses, ou teste de captura híbrida II para HPV, após seis meses^{2(D)}.

Em duas revisões sistemáticas, foi evidenciado o aumento da sensibilidade no diagnóstico de lesões residuais associadas ao HPV, com a utilização de métodos de Biologia molecular em pacientes submetidas a seguimento após tratamento da LIE-AG^{10,11(A)}.

O objetivo do presente estudo é avaliar a acurácia da captura híbrida II para HPV quando comparada à citologia oncológica no seguimento pós-tratamento das LIE-AG.

Metodologia

Para o desenvolvimento do presente trabalho, foi realizada uma ampla pesquisa na literatura médica disponível, incluindo-se estudos publicados em língua inglesa, espanhola e portuguesa. Os estudos foram identificados e selecionados por meio das referências obtidas em bases de dados, utilizando-se os seguintes sites de busca eletrônicos: PubMed, Cochrane, Lilacs, banco de teses das principais universidades (USP, Unicamp, UFRJ e UNB), banco de teses da Capes e CNPq e *Google Scholar* (Google

Acadêmico, em português). Foram incluídos, ainda, no estudo, as referências fornecidas por especialistas da área – que foram contatados por correio eletrônico –, a busca manual das principais revistas nacionais e internacionais que escrevem sobre o tema (Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, *Femina*, *Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis*, *International Journal of STD & AIDS*, *American Journal of Obstetrics & Gynecology* e *Gynecologic Oncology*) e os artigos obtidos por meio de referências bibliográficas de revisões sobre o tema.

A pesquisa na mídia digital foi realizada utilizando-se termos relacionados à intervenção (teste de Biologia molecular), ao desfecho clínico (neoplasia intraepitelial cervical) e ao desenho de estudo (coorte), além de associações específicas de descritores para cada base de dados eletrônicos, almejando-se uma busca de maior sensibilidade. A pesquisa incluiu filtro e abreviaturas, tais como: (cervical intraepithelial neoplasm OR carcinoma *in situ* OR uterine cervical neoplasm OR neoplasia) and (*papillomavirus* OR *papillomavirus, human* OR alphapapillomavirus) and (biology molecular tests OR hybrid capture OR *decisions methods*) AND (*incidence* [MeSH] OR *mortality* [MeSH Terms] OR *follow up studies* [MeSH] OR *prognos**[Text Word] OR *predict**[Text Word] OR *course**[Text Word]), assim como as adaptações necessárias para cada base de dados avaliada.

Após extensa busca, foram encontrados 260 artigos, sendo 242 indexados no PubMed, 16 registros de artigos encontrados por busca manual e 2 artigos extraídos de referência bibliográfica de artigos de revisão.

Foram incluídos todos os estudos até o período de agosto de 2009, publicados em língua inglesa, espanhola ou portuguesa e que se caracterizavam como estudos longitudinais prospectivos do tipo coorte, realizados em mulheres acompanhadas com citologia oncológica e teste de captura híbrida para HPV tipo II após tratamento de LIE-AG por, no mínimo, 12 meses. Um revisor analisou os títulos e os resumos dos 260 artigos, identificando a sobreposição de 17 artigos selecionados, os quais foram descartados. Os 243 artigos foram avaliados segundo os critérios de seleção propostos para o presente estudo, tendo sido descartados após a leitura dos resumos. Os 14 artigos restantes foram avaliados quanto à sua qualidade metodológica, segundo o protocolo adaptado para coleta de dados desta revisão sistemática. Foram incluídos sete artigos considerados de boa qualidade metodológica, em que os dados permitiram a avaliação da acurácia da citologia oncológica e do teste de captura híbrida do tipo II para o HPV (Figura 1).

O instrumento de coleta dos dados de interesse incluiu a escala de avaliação Newcastle–Ottawa, a mais adequada para os estudos de coorte. O uso dessa escala deve fornecer pontuação

maior ou igual a seis, do total máximo de nove pontos, para que o estudo seja considerado de boa qualidade metodológica. Após aprovação quanto à validade metodológica, realizou-se a coleta de dados dos estudos primários – com a tabulação e referida interpretação dos resultados – buscando-se aferir a acurácia da captura híbrida do tipo II, comparada à citologia oncológica no diagnóstico das lesões intraepiteliais residuais ou recorrentes após tratamento adequado.

Resultados

Após o processo de busca sistematizada e avaliação metodológica, foram selecionados sete artigos^{3,7,12-16}(B), cujos resultados estão descritos na Tabela 1.

Todos os artigos apresentavam um desenho de estudo do tipo longitudinal prospectivo, com pelo menos 12 meses de observação, onde foram realizados citologia oncológica e teste de captura durante o seguimento das pacientes. Somente em um estudo, a colposcopia foi realizada nos casos que apresentavam exames alterados; nos outros seis, ela foi realizada durante o seguimento de todas as pacientes.

A recorrência ou persistência da doença após tratamento de LIE-AG variou de 1,1 a 17,9%, na dependência dos critérios utilizados para o diagnóstico^{3,7,12-16}(B) (Tabela 2).

A citologia oncológica mostrou ser o exame mais específico e menos sensível quando comparado à captura híbrida do tipo II para HPV. A variação da sensibilidade desse exame esteve entre

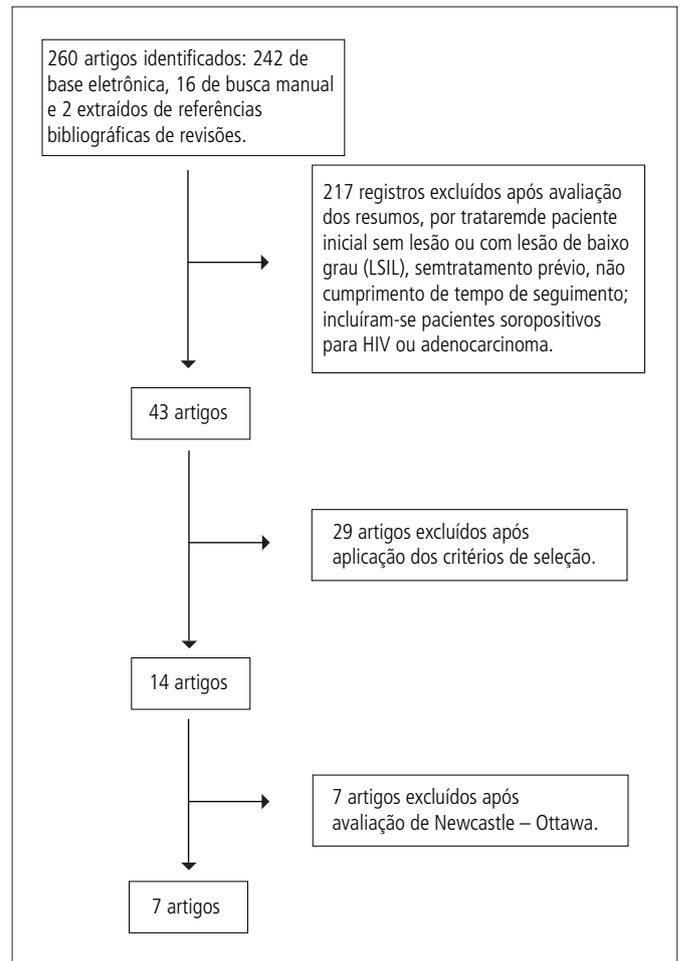


Figura 1 - Esquema do processo de seleção dos artigos utilizados na revisão sistemática

Tabela 1 - Características dos estudos incluídos após avaliação da qualidade metodológica pela escala de Newcastle–Ottawa adaptada

Autor, ano de publicação	Local do estudo	Teste de captura HPV tipoll	N (final/inicial)	Grau de lesão	Tratamento	Primeiro seguimento (meses)	Colposcopia de seguimento	Duração média do seguimento (meses)
Alonso et al. ¹²	Espanha	Alto risco	203:224	II/III	CAF	6	Sim	20,3
Bae et al. ¹³	Coreia do Sul	Alto risco	114:120	II/III	CAF	3	Não	30,7
Houfflin et al. ⁷	França	*NE	185:205	II/III	CAF	3	Sim	14,9
Kreimer et al. ³	Estados Unidos	Alto risco	485:610	II/III	CAF	6	Sim	24
Sarian et al. ¹⁴	Brasil	Alto risco	87:107	II/III	CAF	6	Sim	12
Verguts et al. ¹⁵	Bélgica	Alto risco	72:72	II/III	CAF	3-6	Sim	11,9
Jeong et al. ¹⁶	Coreia do Sul	Alto risco	81:95	II/III	CAF/CC	3	Sim	24

*NE: não especificado; CAF: cirurgia de alta frequência; CC: Criocirurgia

Tabela 2 - Acurácia da captura híbrida do tipo II para HPV comparada à citologia oncológica no seguimento pós-tratamento das LIE-AG.

Autor	N(absoluto)	Taxa de recorrência % (n)	Citologia oncológica (IC=95%)		Captura híbrida II (IC=95%)	
			Sensibilidade	Especificidade	Sensibilidade	Especificidade
Alonso et al. ¹²	203	11,8% (24)	79,2%	86,6%	95,8 %	76%
Bae et al. ¹³	120	5,8% (7)	52,9%	93,8%	100%	77,3%
Houfflin et al. ⁷	185	1,1% (2)	NE	NE	100%	73,2%
Kreimer et al. ³	485	6,6% (32)	78,1%	69,1%	90,6%	63,8%
Sarian et al. ¹⁴	87	5,7% (5)	80,0%	97,6%	80%	82,9%
Verguts et al. ¹⁵	72	8,3% (6)	66,7%	90,9%	100%	77,3%
Jeong et al. ¹⁶	95	17,9% (17)	53,3%	83,1%	73,3%	87,7%

* NE: não especificado

52,9 e 80% e a especificidade, entre 69,1 e 97,6%. A diferença observada nos estudos para avaliação da captura híbrida do tipo II variou entre 80 e 100% para a sensibilidade e 63,8 e 87,7% para a especificidade^{3,7,12-16}(B) (Tabela 2).

Discussão

As técnicas de Biologia molecular vêm sendo incorporadas gradativamente na prática clínica, sendo importante a busca de evidências do seu real benefício para a população.

As LIE-AG são consideradas lesões precursoras do câncer de colo uterino. Atualmente, as técnicas de cirurgia de alta frequência são o tratamento de primeira escolha para as LIE-AG (neoplasia intraepitelial grau II, neoplasia intraepitelial grau III e carcinoma *in situ*), pois têm como vantagem sobre o tratamento destrutivo o fornecimento de material para avaliação histopatológica e, sobre a conização clássica, a possibilidade de tratamento ambulatorial, de menor custo, fácil realização e menor morbidade¹⁴(B).

O tratamento das LIE-AG é passo fundamental para prevenção do câncer de colo uterino, mas não o suficiente. Aproximadamente, 10% das pacientes podem evoluir com persistência ou recidiva de LIE-AG. Desta forma, o seguimento rigoroso das pacientes após o tratamento é essencial para o adequado manejo da doença¹⁴(B).

Apesar dos fatores associados ao prognóstico serem descritos na literatura (como o tamanho e a gravidade da lesão, o acometimento do epitélio glandular e o comprometimento de margens após a ressecção cirúrgica), é indispensável o rigoroso acompanhamento nos primeiros dois anos após o tratamento da LIE-AG⁸(D)⁹(B).

O HPV é encontrado em, aproximadamente, 30% das pacientes após o tratamento das LIE-AG. A ausência do vírus, após avaliação por métodos de Biologia molecular (captura híbrida), tem importante valor preditivo negativo, diminuindo significativamente o risco de persistência de lesão, com valor preditivo negativo próximo de 100%^{14,16,17}(B).

Segundo o consenso publicado em 2001, estaria indicado o seguimento com citologia oncológica, entre 4 e 6 meses, ou teste de captura híbrida para HPV após 6 meses do tratamento das LIE-AG, de acordo com a realidade local²(D).

Em duas revisões sistemáticas, foram evidenciadas as vantagens no seguimento após tratamento de LIE-AG com métodos de Biologia molecular, pois considerava-se as pacientes com lesões intra-epiteliais têm maior risco de doença do que a população geral^{10,11}(A).

No estudo de Kreimer et al.³(B), as mulheres que apresentavam teste de captura positiva, principalmente para o soroti-

po 16, apresentavam maior risco de evoluir para LIE-AG no seguimento, e a utilização desses testes, isoladamente ou em associação com a citologia oncológica, pode ser uma estratégia efetiva no seguimento após tratamento da LIE-AG.

A presença do teste de HPV positivo, no sexto mês de seguimento, para o mesmo subtipo de HPV, piora o prognóstico da paciente, que tem maior risco de lesão residual. Por outro lado, apesar do teste de captura ter demonstrado maior sensibilidade e valor preditivo negativo, a citologia oncológica apresentou melhor especificidade no seguimento das pacientes¹³(B).

Debarge et al.⁷(B) observaram que os testes de Biologia molecular, em função do seu alto valor preditivo negativo, podem ser usados para reduzir o intervalo do seguimento das pacientes que tem resultado negativo no primeiro exame, após o tratamento da LIE-AG. Opinião que é corroborada por Zielinsky et al.¹⁸(B), os quais também constataram que a chance de evolução para lesão intraepitelial, após o primeiro resultado negativo, é tão baixa, que se pode prescindir a repetição do exame com 12 meses.

No estudo de Sarian¹⁹(B), a sensibilidade da citologia oncológica foi comparável ao teste de captura híbrida tipo II no primeiro seguimento (100%) e, no segundo, a citologia oncológica apresentou maior especificidade (97%) quando comparada à captura híbrida (83%), concluindo-se que ambos os métodos são eficientes no controle das pacientes, após tratamento das LIE-AG. Além disso, a realização simultânea dos dois exames não aumentou a sensibilidade dos testes^{14,19}(B).

Durante o acompanhamento das pacientes após o tratamento de LIE-AG, foi observado que houve negatificação do teste de captura híbrida para HPV entre 70 e 80% das mulheres e que a persistência do teste positivo aumentou de forma significativa a possibilidade de lesão residual ou recorrência de doença [OR = 50,3 (3,8 a 663,1)]^{6,7}(B).

Conclusões

O aumento da sensibilidade – proporcionado pelo teste de captura híbrida do tipo II, no seguimento das pacientes que foram tratadas por LIE-AG – justifica sua aplicabilidade em população com maior risco. Por outro lado, a manutenção do teste de captura híbrida positiva, após o tratamento de LIE-AG, aumenta o risco de lesão residual e/ou recorrente.

Na realidade brasileira, a colposcopia representa um exame de baixo custo e maior acessibilidade à população. Tal fato instiga o desenvolvimento de pesquisas para aferição do custo-efetividade da citologia oncológica associada à colposcopia, comparada ao teste de captura híbrida tipo II nessa população específica.

Leituras suplementares

1. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. Manual de Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis/Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de DST e Aids. Brasília: Ministério da Saúde; 2005.
2. Wright TC Jr, Cox JT, Massad LS, Carlson J, Twiggs LB, Wilkinson EJ, et al. 2001 consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;189(1):295-304.
3. Kreimer AR, Guido RS, Solomon D, Schiffman M, Wacholder S, Jeronimo J, et al. Human papillomavirus testing following loop electrosurgical excision procedure identifies women at risk for posttreatment cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 disease. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006;15(5):908-14.
4. Silva MJPM, Camargo MJ, Silva LGP, Silva RJO. A conização como abordagem para lesões endocervicais. *Femina.* 2005;33(11):809-14.
5. Jakus S, Edmonds P, Dunton C, King SA. Margin status and excision of cervical intraepithelial neoplasia: a review. *Obstet Gynecol Surv.* 2000;55(8):520-7.
6. Costa S, De Simone P, Venturoli S, Cricca M, Zerbini ML, Musiani M, et al. Factors predicting human papillomavirus clearance in cervical intraepithelial neoplasia lesions treated by conization. *Gynecol Oncol.* 2003;90(2):358-65.
7. Houfflin Debarge V, Collinet P, Vinatier D, Ego A, Dewilde A, Boman F, et al. Value of human papillomavirus testing after conization by loop electrosurgical excision for high-grade squamous intraepithelial lesions. *Gynecol Oncol.* 2003;90(3):587-92.
8. Brockmeyer AD, Wright JD, Gao F, Powell MA. Persistent and recurrent cervical dysplasia after loop electrosurgical excision procedure. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;192(5):1379-81.
9. Paraskevaidis E, Lolis ED, Koliopoulos G, Alamanos Y, Fotiou S, Kitchener HC. Cervical intraepithelial neoplasia outcomes after large loop excision with clear margins. *Obstet Gynecol.* 2000;95(6 Pt 1): 828-31.
10. Zielinski GD, Bais AG, Helmerhorst TJ, Verheijen RH, de Schipper FA, Snijders PJ, et al. HPV testing and monitoring of women after treatment of CIN 3: review of the literature and meta-analysis. *Obstet Gynecol Surv.* 2004; 59(7): 543-53.
11. Paraskevaidis E, Arbyn M, Sotiriadis A, Diakomanolis E, Martin-Hirsch P, Koliopoulos G, 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.* 2004;30(2): 205-11.
12. Alonso I, Torné A, Puig-Tintoré LM, Esteve R, Quinto L, Garcia S, et al. High-risk cervical epithelial neoplasia grade 1 treated by loop electrosurgical excision: follow-up and value of HPV testing. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;197(4): 359.e1-6.
13. Bae JH, Kim CJ, Park TC, Namkoong SE, Park JS. Persistence of human papillomavirus as a predictor for treatment failure after loop electrosurgical excision procedure. *Int J Gynecol Cancer.* 2007;17(6):1271-7.
14. Sarian LO, Derchain SF, Andrade LA, Tambascia J, Morais SS, Syrjänen KJ. HPV DNA test and Pap smear in detection of residual and recurrent disease following loop electrosurgical excision procedure of high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Gynecol Oncol.* 2004;94(1):181-6.
15. Verguts J, Bronselaer B, Donders G, Arbyn M, Van Eldere J, Drikkoningen M, et al. Prediction of recurrence after treatment for high-grade cervical intraepithelial neoplasia: the role of human papillomavirus testing and age at conisation. *BJOG.* 2006;113(11):1303-7.
16. Jeong NH, Lee NW, Kim HJ, Kim T, Lee KW. High-risk human papillomavirus testing for monitoring patients treated for high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *J Obstet Gynaecol Res.* 2009;35(4):706-11.
17. Jain S, Tseng CJ, Horng SG, Soong YK, Pao CC. Negative predictive value of human papillomavirus test following conization of the cervix uteri. *Gynecol Oncol.* 2001;82(1):177-80.
18. Zielinski GD, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Berkhof J, Snijders PJ, Risse EJ, et al. HPV testing can reduce the number of follow-up visits in women treated for cervical intraepithelial neoplasia grade 3. *Gynecol Oncol.* 2003;91(1):67-73.
19. Sarian LO, Derchain SF, Pittal D da R, Andrade LA, Morais SS, Figueiredo PG. Human papillomavirus detection by hybrid capture II and residual or recurrent high-grade squamous cervical intraepithelial neoplasia after large loop excision of the transformation zone (LLETZ). *Tumori.* 2005;91(2):188-92.