

# Fatores de risco na persistência ou recidiva da Lesão escamosa intraepitelial de alto grau (LIEAG)

## *Risk Factors for Persistence or Recurrence of High-Grade Cervical Squamous Intraepithelial Lesions*

DULCIMARY DIAS BITTENCOURT<sup>1</sup> , RITA MAIRA ZANINE<sup>1</sup> , ANA PAULA MARTINS SEBASTIÃO<sup>2</sup> , CARMEN MARCONDES RIBAS<sup>3</sup> .

### R E S U M O

**Objetivos:** avaliar se o status das margens, idade, tamanho da lesão colposcópica, tipo de cirurgia e expressão dos marcadores p16/Ki-67 são fatores de risco na persistência ou recidiva da LIEAG. **Métodos:** um estudo de corte transversal, observacional com coleta de dados retrospectivos de pacientes submetidas a conização a frio (CF) ou exérese da zona de transformação por cirurgia de alta frequência EZT por NIC2/3. Foram analisados os seguintes fatores em relação a persistência ou recidiva: comprometimento das margens, idade, tamanho da lesão, tipo de cirurgia e coexpressão dos imunomarcadores p16 e Ki-67. **Resultados:** 271 mulheres tratadas com CF (71) e EZT (200), onde 95 apresentavam NIC 2 e 173 NIC 3, 183 apresentaram margens cirúrgicas livres, 76 comprometidas e 12 prejudicadas por artefatos ou fragmentação. Das 76 pacientes com margens comprometidas, 55 foram endocervical, 11 ectocervical e 10 ambas as margens. Das 264 pacientes que tiveram seguimento, 38 persistiram ou recidivaram a doença. A regressão logística múltipla indicou ser a margem endocervical comprometida o único fator independente de risco de persistência/recorrência da NIC ( $p < 0,001$ ). Não houve associação significativa entre a idade, o tamanho da lesão colposcópica, o tipo de cirurgia e a expressão dos imunomarcadores p16/Ki-67 e a persistência ou recorrência da doença. **Conclusão:** entre os fatores estudados associados com persistência ou recorrência, somente a margem endocervical comprometida provou ser significativamente um fator risco para persistência ou recorrência da lesão.

**Palavras-chave:** Neoplasia Intraepitelial Cervical. Conização. Recidiva.

### INTRODUÇÃO

O câncer de colo uterino é o terceiro tumor maligno mais frequente na população feminina excetuando-se o câncer de pele não melanoma, atrás apenas do câncer de mama e do colorretal, sendo a quarta causa de mortes de mulheres por câncer. É responsável pela morte de 311 mil mulheres /ano no mundo e no Brasil por 6526 mortes no ano de 2018, com estimativa de 16710 novos casos para 2020<sup>1</sup>.

Diferentes tratamentos foram propostos ao longo dos anos, incluindo histerectomia, conização e atualmente a EZT (Exérese da zona de transformação) é utilizado mais frequentemente, embora seja associado com aumento do número de fragmentos retirados que limitam a interpretação bem como aumento do número de margens comprometidas<sup>2</sup>.

A correta avaliação da lesão, como sua exata localização e extensão são fatores importantes na escolha do tipo de tratamento. O tamanho da lesão

determinará o tamanho da excisão, refletindo menor comprometimento das margens<sup>3</sup>.

Muitos fatores são considerados de risco para persistência ou recorrência da lesão após o tratamento: idade, tipo de cirurgia, envolvimento glandular, tamanho da lesão colposcópica, imunossupressão, margem endocervical envolvida e outros<sup>4,5</sup>.

Recentemente surgiram biomarcadores, os quais estão sendo utilizados para ajudar os médicos no rastreamento, detecção, diagnóstico e avaliação do prognóstico da lesão intraepitelial. A expressão dos biomarcadores p16 e Ki-67 sugerem uma desregulação do ciclo celular por HPV e se associam com a severidade da lesão<sup>6,7</sup>.

Esse estudo teve como objetivos reunir possíveis fatores de recidiva da lesão intraintraepitelial, como os seguintes: tamanho da lesão colposcópica, idade, método cirúrgico, comprometimento das margens cirúrgicas e marcadores p16 e Ki-67 em pacientes com longo tempo de seguimento.

1 - Universidade Federal do Paraná, Tocoginecologia - Curitiba - PR - Brasil 2 - Universidade Federal do Paraná, Patologia - Curitiba - PR - Brasil 3 - Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná - Curitiba - PR - Brasil

## MÉTODOS

Trata-se de estudo de corte transversal, observacional com coleta de dados retrospectivos, de análise de 360 prontuários de mulheres submetidas a EZT ou conização a frio (CF) no período de janeiro de 2005 a julho de 2017 no Hospital de Clínicas -UFPR e submetidas à avaliação imuno-histoquímica para p16 e Ki-67.

Critérios de inclusão das pacientes: Todas pacientes que realizaram o primeiro procedimento de exérese da zona de transformação ou conização clássica no Hospital de Clínicas com diagnóstico da peça cirúrgica NIC 2 e NIC 3.

Critérios de exclusão: Pacientes com doenças autoimunes ou portadoras de alguma imunodeficiência, resultados histopatológicos do produto de conização com cervicite, NIC 1, adenocarcinoma, carcinoma micro invasor ou invasor.

Total de 271 pacientes faziam parte dos critérios de inclusão e foi solicitado separação das lâminas e blocos de parafina para realização do TMA (técnica de microarranjos teciduais).

Os procedimentos de conização ou EZT foram todos executados no Hospital de Clínicas, por residentes supervisionados por chefes com ampla experiência nas técnicas cirúrgicas.

O tamanho da lesão colposcópica foi obtido avaliando o desenho gráfico da colposcopia nos prontuários e contando o número de quadrantes do colo do útero afetado pela lesão. Assim como um relógio, dividimos o colo uterino em quatro quadrantes, o primeiro equivaleria entre 12h e 3h, o segundo entre 3h e 6h, o terceiro entre 6h e 9h e o último entre 9h e 12h, como descrito por Lowers et al.<sup>8</sup>. Consideramos uma lesão de tamanho pequena a que atinge um quadrante, tamanho médio atinge 2 quadrantes e tamanho grande atinge 3 ou 4 quadrantes.

Considera-se recidiva da lesão quando o surgimento da lesão ocorre 6 meses após o procedimento cirúrgico usado para o tratamento e persistência quando ocorre o diagnóstico da doença antes de 6 meses após o tratamento. Para este estudo será utilizado o termo "recidiva", independente da época em que a lesão apareceu, devido dificuldade de se saber o exato momento em que a lesão apareceu<sup>9</sup>.

## Método da imuno-histoquímica

Foram confeccionadas 105 lâminas possíveis de leitura para p16 e 113 para Ki-67. O processamento foi todo realizado em plataforma automatizada Ventana Benchmark Ultra™ utilizando os Anticorpos p16 (Ventana clone E6H4, prediluído) e Ki-67 (Ventana, clone 30-9, prediluído).

## Leitura dos imunomarcadores

A imunorreatividade do p16 e Ki-67 foi avaliada pela positividade ou negatividade do marcador na leitura. A quantidade de células que expressaram a intensidade da marcação foi dividida em 3 escalas: 1- fraca intensidade; 2- moderada intensidade; 3- forte intensidade e em relação a espessura do epitélio corado também em 3 escalas (1- 1/3 inferior do epitélio; 2- 2/3 do epitélio; 3- 3/3 do epitélio)<sup>7</sup>.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade Evangélica Mackenzie Paraná sob número 55675716.7.0000.0103 e foi desenvolvido no Complexo Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil, sob o número 55675716.7.3001.0096.

## Análise estatística

Resultados de variáveis quantitativas foram descritos por médias, desvios padrões, medianas, valores mínimos e máximos. Para variáveis categóricas foram apresentados frequências e percentuais. A avaliação da associação entre duas variáveis categóricas foi usando-se o teste de Qui-quadrado. Comparações de mais de 2 grupos, em relação a variáveis quantitativas foram feitas usando-se o modelo de análise da variância (ANOVA) com um fator ou o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Para a análise de tempo até a ocorrência de recidiva foram ajustados modelos de Regressão de Cox e estimados os valores de hazard ratio com intervalos de confiança de 95%. Para a avaliação de fatores associados ao resultado do laudo foram ajustados modelos de Regressão Logística e estimados os valores de odds ratio com intervalos de confiança de 95%. Valores de  $p < 0,05$  indicaram significância estatística. Para comparações múltiplas após ANOVA e teste de Kruskal-Wallis, os

valores de p foram corrigidos por Bonferroni. Os dados foram analisados com o programa computacional Stata/SE v.14.1. StataCorpLP, USA.

## RESULTADOS

Um total de 271 mulheres entre 17 e 67 anos foram incluídas no estudo. Para análise de fatores associados a recidiva, foram excluídos 7 casos que tiveram perda do seguimento.

**Tamanho da lesão na colposcopia:** Dentre os 271 casos, 11 (4,1%) não tinham lesões, 69 (25,5%) as lesões foram consideradas pequenas, em 122 (45%) médias e em 69 (25,5%) foram consideradas grandes.

**Tipo de cirurgia:** 71 (26,2%) foram submetidas a conização a frio (CF) e 200 (73,8%) à exérese da zona de transformação com cirurgia de ondas de alta frequência (EZT).

**Grau da lesão:** 95 (35,1%) NIC 2 e os demais 176 (64,9%) com NIC 3.

**Margens:** Em 183 casos (67,5%) foram referidas margens livres, 76 (28%) de margens comprometidas por lesão e 12 casos (4,4%) as margens foram prejudicadas por artefatos ou por fragmentação. Das 76 margens comprometidas, 55 (72,4%) ocorreram na porção endocervical, 11 (14,5%) na porção ectocervical e 10 casos (13,2%) ocorreram em ambas as margens. Esses resultados estão expostos na Tabela 1.

**Tabela 1** - Resultados referentes à idade, tamanho da lesão, tipo da cirurgia, laudo histológico e status das margens.

Variável	n	Classif	Resultado*	
Idade (anos)	271		35,5 ± 10,0	34 (17 - 67)
Tamanho	271	Sem lesão	11	4,1%
		Pequena	69	25,5%
		Média	122	45,0%
		Grande	69	25,5%
Cirurgia	271	0-EZT	200	73,8%
		1-CK	71	26,2%
Laudo	271	NIC 2	95	35,1%
		NIC 3	176	64,9%
Margem	271	Livre	183	67,5%
		Comprometidas	76	28,0%
		Fragmentadas/Coaguladas	12	4,4%
Local da margem comprometida	76	Endocervical	55	72,4%
		Ectocervical	11	14,5%
		Ambas	10	13,2%

**Reação imuno-histoquímica para o p16:** Dos 271 casos, 105 reações foram realizadas. Quanto a análise da intensidade da coloração do p16, 8 casos (7,6%) foram leves, 32 (30,5%) moderados e 65 (61,8%) foram fortes. Referente a análise da espessura epitelial imunocorada, dos 105 casos, 7 (6,7%) coraram 1/3 do epitélio, 36 (34,3%) coraram 2/3 do epitélio e 62 (59%) todo o epitélio.

**Reação imuno-histoquímica para o Ki-67:** Dos 271 casos, 113 reações foram realizadas. Quanto a análise da intensidade da coloração do Ki-67, 3 casos (2,7%) foram leves, 24 (21,2%) foram moderadas e 86

(76,1%) fortes. Em relação a análise da espessura epitelial imunocorada, dos 113 casos, 6 (5,3%) ocorreram em 1/3 do epitélio, 48 (42,5%) ocorreram em 2/3 do epitélio e 59 (52,2%) ocorreram em todo o epitélio. Esses resultados estão expostos na Tabela 2.

Dos 264 casos com seguimento, 38 (14,4%) tiveram recidiva com um tempo médio de 22,7 meses ± 14,7. Até o quinto ano, 82,4% das pacientes estavam livres de doença e 81% após o décimo ano.

Na análise do tamanho da lesão colposcópica e recidiva, observou-se que nenhum caso de lesão não visível à colposcopia recidivou, as lesões pequenas recidivaram

em 11,8%, as de tamanho médio em 15,3% e tamanho grande em 17,9%, um aumento gradual porém sem possibilidade de realizar estudo estatístico devido a ausência de valor no grupo sem lesões. Para obtenção do cálculo estatístico agrupamos os casos de sem lesões e lesões pequenas, porém não mostrou significância (Tabela 3).

**Tabela 2** - Resultados da imunomarcção com p16 e Ki-67.

Variável	n	Classif	n	%
p16 intensidade	105	1	8	7,6
		2	32	30,5
		3	65	61,8
p16 grau	105	1	7	6,7
		2	36	34,3
		3	62	59,0
Ki-67 intensidade	113	1	3	2,7
		2	24	21,2
		3	86	76,1
Ki-67 grau	113	1	6	5,3
		2	48	42,5
		3	59	52,2

Avaliando a associação idade e recidiva da lesão, observou-se que a idade média das mulheres que tiveram recidiva foi  $36,9 \pm 9,6$  anos, sem diferença estatística quando comparado com a idades das pacientes

que não recidivaram. Igualmente quando dividimos as pacientes com idade igual ou acima de 35 anos e abaixo de 35 anos, tiveram 17 pacientes no grupos igual ou abaixo de 35 anos e 21 no grupo acima de 35 anos, não sendo significativa essa diferença.

Em relação ao tipo de cirurgia e recidiva, observa-se que a maioria das recidivas ocorreram nas cirurgias de alta frequência, 37 dos 38 casos de recidiva (97,3%), onde o cálculo estatístico foi inviável devido baixa frequência na categoria cone a frio.

Analisando a associação da qualidade das margens e recidiva, observamos que as margens quando comprometidas por lesão tem uma associação significativa com a recidiva da lesão, principalmente a margem endocervical (Tabela 4).

Avaliando o tipo de cirurgia e comprometimento das margens, observa-se diferença significativa no comprometimento de acordo com o tipo de cirurgia (Tabela 5).

Na associação da reação imuno-histoquímica do p16 e recidiva, análise qualitativa do p16 leve obteve uma taxa de 12,5%, o p16 moderado de 22,6 % e o forte de 17,2% de recidiva. Na análise da espessura epitelial corada, a escala (E) de valor 1 teve 14,3% de recidiva, de valor 2 foi de 14,7% de recidiva e valor 3 mostrou 21,7% recidivas, embora não haver diferença significativa.

**Tabela 3** - Tamanho da lesão x recidiva.

Tamanho	n	%	Tamanho	n	p	95% CI
Sem lesão	0	0	Sem lesão/ Pequena	8		
Pequena	8	11,55				
Média	18	15,3	Média	18	0,255	1,62(0,71-3,73)
Grande	12	17,9	Grande	12	0,123	2,02(0,83-4,95)

\*Teste não-paramétrico de Mann-Whitney,  $p < 0,05$ .

**Tabela 4** - Margens comprometidas endocervical, ectocervical e ambas x recidiva.

Local	Livre				
		178	13 (7,3%)		
	Endocervical comprometida	55	19 (34,6%)	<0,001	5,24 (2,59 – 10,6)
	Ectocervical comprometida	11	2 (18,2%)	0,232	2,48 (0,56 – 11,0)
	Ambas	10	3 (30,0%)	0,032	3,96 (1,13 – 13,9)

\*Teste não-paramétrico de Mann-Whitney,  $p < 0,05$ .

Tabela 5 - Tipo de cirurgia x margens.

	Classif	n	Cirurgia		p*
			CAF	CF	
Margem	Livre	183	121 (66,1%)	62 (33,9%)	<0,001
	Comprometida	76	67 (88,2%)	9 (11,8%)	

\*Teste exato de Fisher,  $p < 0,05$ .

Analisando a reação Ki-67, obteve-se 33,3% na coloração leve, 8,7% na moderada e 20% na forte; na avaliação da espessura epitelial corada, observamos que a escala de valor obteve, a 1 foi de 16,7%, a 2 foi de 14,9% e a 3 apresenta um porcentagem maior de recidiva de 20,7%, porém sem significância estatística.

## DISCUSSÃO

Muito se tem estudado sobre os motivos de recidiva da lesão intra-epitelial cervical após o tratamento, entre elas o tamanho da lesão colposcópica, idade, comprometimento das margens pela lesão, o grau histológico, envolvimento glandular, imunossupressão<sup>4,5,10,11</sup>.

A recidiva ocorre em média 20,6% e podem variar de 4,6 a 48%, o que é um resultado indesejado para médico e paciente, o médico sente que seu tratamento foi insuficiente e a paciente provavelmente passará por um novo procedimento<sup>4,5,9</sup>. Em nosso estudo observamos uma taxa de recidiva de 14,4%, abaixo da média referida na literatura, enquanto Brockmeyer et al.<sup>5</sup> encontrou 48,1% de recidiva, com 75% das recidivas ocorridas no primeiro ano.

Nós encontramos um intervalo de tempo de recidiva de 22,7 meses, onde 81% das pacientes estavam livres de doença no décimo ano. Dados semelhantes foram encontrados por Serati et al.<sup>10</sup> de tempo médio de recidiva de 26,7 meses, e com 75,4% das pacientes livre de doença no quinto ano de seguimento, enquanto Lili et al. encontrou um tempo médio maior de recidiva de 46,5 meses, fato esse explicado devido diagnóstico de um adenocarcinoma com 59,2 meses<sup>12</sup>.

As pacientes devem ter um seguimento adequado após o tratamento, embora alguns serviços utilizem o teste de HPV<sup>13</sup>, nós seguimos as pacientes com citologia e colposcopia e é importante se notar que tivemos uma perda pequena do seguimento de 2,5%,

pois fizemos busca ativa das pacientes; na literatura a menor perda de seguimento encontrada foi de Gardeil et al., com 6,2%<sup>14</sup>.

Estudos sugerem que o tamanho da lesão deve ser avaliado no manejo da NIC, apesar de ser um assunto pouco abordado na literatura, ele é considerado um fator no risco de progressão da lesão e recidiva, visto que citologias falso negativas ocorrem mais comumente em pequenas lesões, além do mais a exata localização e extensão da lesão é fator crucial para escolha do tratamento, CF ou EZT<sup>14,15</sup>.

Em nosso estudo o tamanho da lesão colposcópica não teve significância estatística para prever recidiva, embora uma tendência foi observada onde as lesões pequenas tiveram uma recidiva de 11,8%, as médias de 15,3% e as grandes 17,9% e nos casos onde a lesão não foi visualizada, não teve casos de recidiva e a indicação do procedimento se deu por repetidas citologias alteradas.

Kawano et al.<sup>16</sup> cita que a lesão envolvendo mais que 2 quadrantes é fator de risco para margens comprometidas e conseqüentemente para recidiva, embora temos que ressaltar que a visualização dos quadrantes pelo profissional é um método subjetivo; em relato feito por Hopman et al 1995<sup>17</sup>, apenas em 68% das vezes há concordância inter observadores quanto ao número de quadrantes afetados pela lesão.

A idade das pacientes também é considerada fator de risco para recidiva da lesão, a menopausa induz atrofia de endométrio e endocervice, o que ocasiona a retração da zona de transformação para dentro do canal, com isso a lesão se estabelece dentro do canal<sup>16</sup>.

Zhu et al. observou a idade acima de 35 anos como único fator isolado de recidiva, porém ele selecionou 275 pacientes com margens comprometidas dentro de uma população de 4.336 EZT<sup>18</sup>.

Nosso estudo não mostrou associação de recidiva com idade da paciente, o que pode ser explicado

pelo fato de indicarmos CF todas as vezes que a junção escamo colunar não era visualizada, com isso um volume maior do colo foi obtido.

Nosso trabalho envolveu 2 tipos de cirurgias, conização com o bisturi a frio e EZT. Encontramos 97,3% de recidiva na EZT, porém a análise estatística não foi possível devido à baixa frequência nos índices de recidiva na categoria CF, assim como nosso estudo, El-nashar et al.<sup>19</sup> encontraram mais que o dobro de recidiva em EZT.

Como já citado, a CF retira uma peça bem maior de tecido, assim diminuindo o risco de margens comprometidas e consequentemente a recidiva, sendo essa técnica preferível nos casos de suspeita de lesão glandular ou microinvão e nos casos em que a junção escamo colunar não é visível<sup>2,3</sup>.

No presente estudo é mostrado um valor significativo de margens comprometidas na EZT em 88,2% versus 11,8% no CF. Outros autores também encontraram valores mais que o dobro de comprometimento nas margens da EZT, como Chen et al.<sup>20</sup> e Murta et al.<sup>3</sup> que encontraram 33,3% de margens comprometidas na EZT e 24,9% em CF, entretanto em meta-análise de Li; Chen; Jiang<sup>21</sup>, não foi encontrada diferença significativa entre as duas técnicas.

O fato de haver mais comprometimento nas margens da EZT se deve ao fato das alças utilizadas para o procedimento muitas vezes não abrangerem a largura da lesão, por este fato é importante a escolha correta do método cirúrgico, pois como afirma Ayhan<sup>22</sup>, margens comprometidas são melhores preditivos de persistência da doença ou doença residual, o que representa um problema para médico e paciente quando planejam o seguimento e futura terapia.

Uma série de fatores são relacionados com margens comprometidas, entre eles: idade, tamanho da lesão, tipo de cirurgia, nível de treinamento do cirurgião<sup>20</sup>.

Na literatura é bastante variável a taxa de comprometimento das margens cirúrgicas de peças de colo, entre 6% a 49% de comprometimento, com uma média em torno de 25%, o que está de acordo com nossos relatos<sup>9,13,23,24</sup>.

Nosso estudo encontrou 28% de margens comprometidas, 67,5% de margens livres sendo que

4,4% das margens restantes foram prejudicadas para leitura; dados semelhantes ao da literatura, como mostrou Lili et al.<sup>12</sup>, que em um estudo envolvendo 569 procedimentos com EZT e 235 de CF encontrou 28% de margens comprometidas, enquanto Bittencourt et al.<sup>23</sup> em uma série de 118 EZT, relatou 11,8% de margens comprometidas e 2,5% de margens prejudicadas para leitura, sendo que a baixa frequência das margens comprometidas pode ser justificada pelo fato do procedimento ter sido realizado por um único profissional com vasta experiência na técnica da EZT bem como amplo conhecimento de patologia do trato genital inferior.

O comprometimento das margens tem um impacto na recidiva da lesão, principalmente quando esse comprometimento é na margem endocervical. Em nossa análise, a margem endocervical comprometida foi responsável por 34,6% das recidivas, enquanto nas margens livres a recidiva ocorreu em 7,3%<sup>5,9,13,14,22</sup>. De Mello e Silva et al.<sup>4</sup> mostraram que mulheres com recidiva o risco da margem endocervical ser afetada é 6,5 maior ( $p=0,00002$ ) enquanto o risco da margem ectocervical estar afetada é 6 x maior (0,00004). Gardeil et al.<sup>14</sup> em um estudo com 225 mulheres submetidas a EZT, encontrou margens comprometidas em 105 pacientes, onde a margem endocervical estava afetada em 72% e a incidência de recidiva em seu trabalho foi de 16,5% nas margens comprometidas e 1,9% nas margens livres.

A margem endocervical geralmente se mostra mais comprometida nos casos em que a lesão adentra o canal cervical ou não é possível visualizar totalmente a JEC (junção escamo colunar) ou se a lesão é extensa<sup>3,11,14,20,22</sup>.

Arbyn et al.<sup>11</sup> em uma revisão de 44.446 pacientes tratadas por NIC, cita que o status das margens tem uma sensibilidade de 55,8% e especificidade de 84,4% para prever recidiva.

Segundo meta-análise de Ghaem-Maghani et al.<sup>25</sup> com 27.785 cirurgias de colo, foi encontrado 18% de recidiva em margens comprometidas e 3% de recidiva nas margens livres.

Porém, mesmo com margens positivas, devido à baixa taxa de recidiva, estas pacientes não precisam ser reoperadas, segundo Chen et al.<sup>20</sup> a reação inflamatória após o procedimento pode eliminar a doença residual.

Para melhor acompanhamento, testes de biologia molecular para pesquisa do DNA-HPV vem sendo utilizado na prática clínica; no entanto nosso trabalho utilizou imunomarcadores nas peças cirúrgicas, para avaliar possível fator de risco para recidiva.

O presente estudo utilizou os biomarcadores p16 e Ki-67, sendo o p16 uma proteína de supressão tumoral pertencendo a família INK (cyclin-dependent-kinase). O p16 vem sendo usado nos casos de Ascus e lesão intra-epitelial de baixo grau na citologia, tem alto valores de sensibilidade e especificidade para lesão de alto grau<sup>6,7,26,27</sup>.

O Ki-67 é um marcador de proliferação e replicação do DNA. No epitélio normal é expressado nas camadas basais e parabasais no terço inferior do epitélio, a superexpressão é associada com inflamação ou atípicas. A associação positiva de ambas pode diferenciar reações benignas como atrofia e metaplasia de lesão pré-cancerígena. É utilizado para prognóstico e predição de tumores, bem como auxiliar o diagnóstico de câncer e pré-câncer<sup>6,7,26,27</sup>.

Quanto à relação dos marcadores com recidiva da lesão, nosso trabalho não mostrou significância dos biomarcadores em prever a recidiva da lesão cervical.

Fonseca et al.<sup>24</sup>, não encontraram associação do p16 na recidiva, porém os autores estudaram peças de EZT com lesão de baixo, alto grau e adenocarcinoma onde não excluíram pacientes imunossuprimidas, o que pode alterar o real motivo da recidiva.

Leite et al.<sup>28</sup> em um estudo com 68 pacientes submetidas à EZT onde foram incluídos casos de lesões

de baixo grau, alto grau e HIV positivas, concluiu não haver associação dos biomarcadores p16 e Ki-67 com recidiva da lesão.

As lesões de baixo grau possuem uma evolução diferente das lesões de alto grau, grande parte delas regridem espontaneamente<sup>29</sup>, sendo assim as análises de resultados de lesões de baixo grau devem ser feitas separadas das de alto grau, bem como o estudo de pacientes HIV+, que apresentam maior risco de recidiva após o tratamento<sup>30</sup>.

Nosso estudo teve algumas limitações, como desenho retrospectivo, o qual pode ter variáveis confundidoras e perda de mais de 50% das amostras no momento na escolha dos blocos que possuíam material insuficiente para realizar o tissue microarray.

Porém, ele avalia fatores de recidiva de lesão intraepitelial cervical, em uma população de mulheres com lesão intra epitelial de alto grau, que foram submetidas à cirurgia com supervisão de 2 ginecologistas com ampla experiência nas técnicas cirúrgicas e avaliação imuno-histoquímica prospectiva.

## CONCLUSÃO

O comprometimento das margens endocervicais permanece o principal fator de risco para recidiva após o tratamento das lesões intraepiteliais cervicais de alto grau, os demais, idade, tamanho da lesão colposcópica, tipo de cirurgia e imunomarcadores p16 e Ki-67 não indicaram serem fatores de risco.

## ABSTRACT

**Objectives:** to evaluate whether the colposcopic lesion size, age, kind of surgery, the status of the surgical margins and the expression of the p16 and Ki-67 immunomarkers are risk factors for persistence or recurrence of the lesion. **Methods:** a cross-sectional, observational, retrospective study of patients submitted to cold knife conization (CKC) or the loop electrosurgical excision procedure for cervical intraepithelial neoplasia 2 or 3. The colposcopic lesion size, age, surgical method, involvement of the surgical margins, and p16/Ki-67 immunomarker expression were analyzed in relation to lesion persistence and recurrence. **Results:** seventy-one women were treated with cold knife conization and 200 were treated with loop electrosurgical excision. Of these, 95 had cervical intraepithelial neoplasia 2, 173 had cervical intraepithelial neoplasia 3, 183 had free surgical margins, 76 had compromised margins, and 12 showed damage by processing artifact or fragments. Among the 76 cases with positive margins, 55, 11, and 10 showed endocervical margin involvement, ectocervical margin involvement, and both endocervical and ectocervical margin involvement, respectively. Of the 264 followed-up patients, 38 had persistent or recurrent disease. A multiple logistic regression indicated that positive endocervical margins are the only independent risk factor for the persistence/recurrence of cervical intraepithelial neoplasia. No significant association was identified between the colposcopic lesion size, age, surgery type, or p16/Ki-67 immunomarker expression and lesion persistence or recurrence.

**Keywords:** Biomarkers. Cervix. Neoplasms. Recurrence. Surgical Procedures.

## REFERÊNCIAS

1. INCA [Internet]. 2021. Available from: <https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>
2. Miroshnichenko GG, Parva M, Holtz DO, Klemens JA, Dunton CJ. Interpretability of Excisional Biopsies of the Cervix. *J Low Genit Tract Dis*. 2009;13(1):10–2. doi: 10.1097/LGT.0b013e31817ff940.
3. Murta EFC, Conti R, Rodovalho J, Barcelos ACM, Adad SJ, de Souza H. Outcome after treatment of high-grade squamous intraepithelial lesions: relation between colposcopically directed biopsy, conization and cervical loop excision. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2004;25(5):587–90.
4. de Mello Silva MV, Coutinho IC, de Andrade Heráclio S, Fittipaldi HM, Katz L. Factors associated with the persistence/recurrence of CIN2/3 in women submitted to loop electrosurgical excision procedure in a teaching hospital in northeastern Brazil: a case-control study. *J Low Genit Tract Dis*. 2014;18(4):286–90. doi: 10.1097/LGT.000000000000014.
5. 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. doi: 10.1016/j.ajog.2004.12.044.
6. Gupta N, Srinivasan R, Rajwanshi A. Functional biomarkers in cervical precancer: An overview. *Diagn Cytopathol*. 2010;38(8):618-23. doi: 10.1002/dc.21270.
7. Conesa-Zamora P, Doménech-Peris A, Orantes-Casado FJ, Ortiz-Reina S, Sahuquillo-Frías L, Acosta-Ortega J, et al. Effect of human papillomavirus on cell cycle-related proteins p16, Ki-67, cyclin D1, p53, and ProEx C in precursor lesions of cervical carcinoma: A tissue microarray study. *Am J Clin Pathol*. 2009;132(3):378-90. doi: 10.1309/AJCPO0WY1VIFCYDC.
8. Louwers J, Kocken M, van der Bijl C, Berkhof J. Colposcopic Characteristics of High-Risk Human Papillomavirus-Related Cervical Lesions *J Low Genit Tract Dis*. 2010;14(1):49-55. doi: 10.1097/LGT.0b013e3181b0fb8e.
9. Debarge VH, 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. doi: 10.1016/s0090-8258(03)00372-x.
10. Serati M, Siesto G, Carollo S, Formenti G, Riva C, Cromi A, et al. Risk factors for cervical intraepithelial neoplasia recurrence after conization: A 10-year study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2012;165(1):86-90. doi: 10.1016/j.ejogrb.2012.06.026.
11. Arbyn M, Redman CWE, Verdoordt F, Kyrgiou M, Tzafetas M, Ghaem-Maghani S, et al. Incomplete excision of cervical precancer as a predictor of treatment failure: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol*. 2017;18(12):1665-1679. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30700-3.
12. Lili E, Chatzistamatiou K, Kalpaktsidou-Vakiani A, Moysiadis T, Agorastos T. Low recurrence rate of high-grade cervical intraepithelial neoplasia after successful excision and routine colposcopy during follow-up. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(4):e9719. doi: 10.1097/MD.00000000000009719.
13. Leguevaque P, Motton S, Decharme A, Soulé-Tholy M, Escourrou G, Hoff J. Predictors of recurrence in high-grade cervical lesions and a plan of management. *Eur J Surg Oncol*. 2010;36(11):1073-9. doi: 10.1016/j.ejso.2010.08.135.
14. Gardeil F, Barry-Walsh C, Prendiville W, Clinch J, Turner MJ. Persistent intraepithelial neoplasia after excision for cervical intraepithelial neoplasia grade III. *Obstet Gynecol*. 1997;89(3):419-22. doi: 10.1016/S0029-7844(96)00505-4.
15. Jarmulowicz MR, Jenkins D, Barton SE, Goodall AL, Hollingworth A, Singer A. Cytological status and lesion size: a further dimension in cervical intraepithelial neoplasia. *Br J Obstet Gynaecol*. 1989;96(9):1061-6. doi: 10.1111/j.1471-0528.1989.tb03381.x.
16. Kawano K, Tsuda N, Nishio S, Yonemoto K, Tasaki K, Tasaki R, et al. Identification of appropriate cone length to avoid positive cone margin in high grade cervical intraepithelial neoplasia. *J Gynecol Oncol*. 2016;27(5):e54. doi: 10.3802/jgo.2016.27.e54.
17. Hopman EH, Voorhorst FJ, Kenemans P, Meyer CJLM, Helmerhorst TJM. Observer Agreement on Interpreting Colposcopic Images of CIN. *Gynecol Oncol*. 1995;58(2):206-9. doi: 10.1006/

- gyno.1995.1212.
18. Zhu M, He Y, Baak JP, Zhou X, Qu Y, Sui L, et al. Factors that influence persistence or recurrence of high-grade squamous intraepithelial lesion with positive margins after the loop electrosurgical excision procedure: a retrospective study. *BMC Cancer*. 2015;15:744. doi: 10.1186/s12885-015-1748-1.
  19. El-Nashar SA, Shazly SA, Hopkins MR, Bakkum-Gamez JN, Famuyide AO. Loop Electrosurgical Excision Procedure Instead of Cold-Knife Conization for Cervical Intraepithelial Neoplasia in Women With Unsatisfactory Colposcopic Examinations: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Low Genit Tract Dis*. 2017;21(2):129-36. doi: 10.1097/LGT.000000000000287.
  20. Chen Y, Lu H, Wan X, Lv W, Xie X. Factors associated with positive margins in patients with cervical intraepithelial neoplasia grade 3 and postconization management. *Int J Gynaecol Obstet*. 2009;107(2):107-10. doi: 10.1016/j.ijgo.2009.05.027.
  21. Li L, Chen C-X, Jiang Y-M. Meta-analysis of cold-knife conization versus loop electrosurgical excision procedure for cervical intraepithelial neoplasia. *Onco Targets Ther*. 2016;9:3907-15. doi: 10.2147/OTT.S108832.
  22. Ayhan A, Boynukalin FK, Guven S, Dogan NU, Esinler I, Usubutun A. Repeat LEEP conization in patients with cervical intraepithelial neoplasia grade 3 and positive ectocervical margins. *Int J Gynaecol Obstet*. 2009;105(1):14-7. doi: 10.1016/j.ijgo.2008.11.015.
  23. Bittencourt DD. Number of fragments , margin status and thermal artifacts of conized specimens from LLETZ surgery to treat cervical intraepithelial neoplasia. *Sao Paulo Med J*. 2012;130(2):92-6. doi: 10.1590/s1516-31802012000200004.
  24. Fonseca FV, Tomasich FDS, Jung JE, Maestri CA, Carvalho NS de. The role of P16ink4a and P53 immunostaining in predicting recurrence of HG-CIN after conization treatment. *Rev Col Bras Cir*. 2016;43(1):35-41. doi: 10.1590/0100-69912016001008.
  25. Ghaem-Maghami S, Sagi S, Majeed G, Soutter WP. Incomplete excision of cervical intraepithelial neoplasia and risk of treatment failure: a meta-analysis. *Lancet Oncol*. 2007;8(11):985-93. doi: 10.1016/S1470-2045(07)70283-8.
  26. Tay TKY, Lim KL, Hilmy MH, Thike AA, Goh ST, Song LH, et al. Comparison of the sensitivity and specificity of p16/Ki-67 dual staining and HPV DNA testing of abnormal cervical cytology in the detection of histology proven cervical intraepithelial neoplasia grade 2 and above (CIN 2+). *Malays J Pathol*. 2017;39(3):257-65.
  27. Mandal R, Ghosh I, Banerjee D, Mittal S, Muwonge R, Roy C, et al. Correlation Between p16/Ki-67 Expression and the Grade of Cervical Intraepithelial Neoplasias. *Int J Gynecol Pathol*. 2020;39(4):384-90. doi: 10.1097/PGP.0000000000000617.
  28. Leite P, Tafuri L, Costa M, Lima M, Simões R. Evaluation of the p16 and Ki-67 Biomarkers as Predictors of the Recurrence of Premalignant Cervical Cancer Lesions after LEEP Conization. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2017;39(6):288-93. doi: 10.1055/s-0037-1598643.
  29. Melnikow J. Natural history of cervical squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis. *Obstet Gynecol*. 1998;92(4 Pt 2):727-35. doi: 10.1016/s0029-7844(98)00245-2.
  30. Huchko MJ, Leslie H, Maloba M, Bukusi EA, Cohen CR. Factors associated with recurrence of cervical intraepithelial neoplasia 2+ after treatment among HIV-infected women in Western Kenya. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2014;66(2):188-92. doi: 10.1097/QAI.0000000000000130.

Recebido em: 06/02/2023.

Aceito para publicação em: 08/09/2023.

Conflito de interesses: não.

Fonte de financiamento: CAPES.

#### Endereço para correspondência:

Dulcimary Dias Bittencourt

E-mail: dulcidiasbitte@gmail.com

