

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE – UFCSPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

Aniúscia Vieira dos Santos

**Rastreamento citológico:
Progressão e Regressão de lesões
cervicais**

UFCSPA

Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre

**Porto Alegre
2017**

Aniúscia Vieira dos Santos

Rastreamento citológico: Progressão e Regressão de lesões cervicais

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do grau de Mestre

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Claudia Giuliano Bica
Co-orientador: Prof. Dr. João Carlos Prolla
Co-orientadora: Dr^a Giovana Tavares dos Santos

**Porto Alegre
2017**

Agradecimentos

Primeiramente,

Agradeço a CAPES pelo apoio financeiro, e a UFCSPA pela oportunidade de realizar este mestrado.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Patologia Geral e Experimental, em especial a Prof. Dra. Claudia Giuliano Bica e a Dra. Giovana Tavares dos Santos, pela paciência, confiança e orientação durante esta trajetória acadêmica, oferecendo-me uma oportunidade impar de crescimento profissional e humanístico.

Agradeço aos meus colegas e amigos pelo carinho, paciência e compreensão, e aos alunos de iniciação científica e jovens talentos, pela dedicação e apoio para com este trabalho.

À equipe do laboratório de patologia do Complexo Hospitalar Santa Casa, em especial Dr. João Carlos Prolla, os citotécnicos Rosicler Brackmann e Altemar Acunha, que mesmo em dias difíceis me apoiaram e auxiliaram ao longo deste mestrado.

Agradeço eternamente aos meus pais, Ana Maria Vieira dos Santos e João Abrilino Costa dos Santos, aos meus irmãos, Claiton Fabiano e Carla Fernanda, e aos demais membros da minha família, pelo amor e apoio incondicional. A eles além deste agradecimento especial, dedico cada vitória da minha vida.

A todos os que de alguma forma colaboraram para que este trabalho fosse realizado, os meus sinceros agradecimentos.

Sumário

I. Lista de abreviaturas	V
II. Lista de figuras	VI
III. Lista de tabelas e quadros	VII
IV. Resumo da Dissertação	VIII
1. INTRODUÇÃO	9
1.1 Epidemiologia do câncer do colo do útero.....	9
1.2 Câncer do colo do útero e o Papilomavírus Humano.....	11
1.3 Fatores de Risco	14
1.3.1 Infecção viral.....	14
1.3.2 Perfil socioeconômico e comportamental	15
1.3.3 Características genéticas, imunológicas e hormonais	16
1.4 Diagnóstico	18
1.4.1 Classificação citopatológica e histopatológica do câncer do colo do útero e lesões precursoras.....	20
1.4.2 Evolução das anormalidades cervicais: Progressão e Regressão	23
1.5 Tratamento	25
1.6 Justificativa	27
1.7 Referências Bibliográficas	28
2. OBJETIVOS.....	34
2.1 Objetivo geral.....	34
2.2 Objetivos específicos	34
3. ARTIGO CIENTÍFICO	35
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
Anexo 1: Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da ISCMPA	56
Anexo 2: Emenda de inclusão da UFCSPA como instituição participante	60
Anexo 3: Normas da Revista Asian Pacific Journal of Cancer Prevention	63

I. Lista de abreviaturas

AGC - Atipias em células glandulares

AGUS – Atipias em células glandulares de significada indeterminado

AIS – Adenocarcinoma endocervical in situ

ASC – Atipias em células escamosas

ASC US - Atipias em células escamosas de significado indeterminado

ASC H - Atipias em células escamosas, não podendo excluir lesão de alto grau

CAF – Exérese por cirurgia de alta frequência

DATASUS - Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde

HSIL - Lesão intra-epitelial escamosa de alto grau

HSV 2 - Herpes simplex tipo 2

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana

HPV – Papilomavírus Humano

IARC - Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer

ISCMPA - Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre

INCA – Instituto Nacional de Câncer

LSIL – Lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau

NIC – Neoplasia Intra-epitelial Cervical

OMS - Organização Mundial da Saúde

TBS – Sistema Bethesda

II. Lista de figuras

Figura 1. Ilustração da infecção pelo vírus HPV no colo uterino.	12
---	----

III. Lista de tabelas e quadros

Quadro 1. Nomeclaturas citopatológica e histopatológica utilizada em exames diagnósticos das lesões cervicais e suas equivalências.	21
Quadro 2. Sistema Bethesda para anormalidades em epitélio glandular cervical.	22
Quadro 3. Probabilidades de regressão, persistência e progressão da lesões cervicais.	24

IV. Resumo da Dissertação

Introdução: O câncer do colo do útero é a terceira neoplasia mais incidente e a terceira causa de óbitos por câncer em mulheres brasileiras. Quando identificadas precocemente, as anormalidades no colo uterino podem ser tratadas ainda em estágios iniciais, aumentando as chances de regressão das lesões e cura da paciente. Nesse contexto, ressalta-se a importância da avaliação dos eventos de progressão e regressão das anormalidades cervicais, e possíveis fatores de risco. **Objetivos:** Analisar a frequência, progressão e a regressão de lesões precursoras do câncer do colo do útero, bem como sua associação com a idade e diagnóstico citológico, em um serviço de saúde de referência em oncologia. **Materiais e Métodos:** estudo de coorte histórica, com população dinâmica, realizado a partir de resultados de exames citopatológicos e anatomopatológicos do colo uterino. A coorte incluiu pacientes com diagnóstico citológico anormal no período de 2010 a 2014, e que foram acompanhadas entre janeiro de 2010 e julho de 2016. **Resultados:** Foram analisados 42.389 esfregaços cervicais, sendo que 4.427 foram elegíveis para análise da evolução das anormalidades cervicais. Na análise dos desfechos, observamos que pacientes com diagnóstico citológico de atipias em células glandulares apresentaram maior risco de progressão da anormalidade cervical (*Hazard Ratio* 2,0 e 95%IC 1,36 – 3,48). Também verificamos que pacientes com idade inferior a 25 anos apresentaram maior probabilidade de regressão de atipias e lesões cervicais (*Hazard Ratio* 1,4 e 95%IC 1,20 – 1,74). **Conclusão:** A avaliação dos eventos de progressão e regressão das atipias e lesões cervicais são fundamentais para maior compreensão sobre a evolução do câncer do colo do útero. Os resultados encontrados neste estudo contribuem para as atuais evidências e recomendações de rastreamento citológico, e refletem a importância de estudos adicionais que avaliem outros (co)fatores de risco relacionados principalmente a anormalidades em epitélio glandular cervical.

Palavras-chave: Câncer do colo do útero, Progressão, Regressão, Incidência.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia do câncer do colo do útero

O câncer do colo uterino é o quarto tipo de câncer mais comum entre as mulheres no mundo, com cerca de 528.000 novos casos diagnosticados anualmente. Esta neoplasia ocorre principalmente em regiões menos desenvolvidas nas quais representa 12% de todos os cânceres femininos (IARC, 2012).

Segundo o Globocan (2012), a incidência de câncer do colo uterino pode variar de 4,4 casos novos a cada 100 mil mulheres, na Ásia Ocidental, até 42,7 casos novos a cada 100 mil mulheres, na África Oriental, definindo a doença como um grave problema de saúde pública.

Em relação à taxa de mortalidade, houve uma estimativa de 266.000 mortes por câncer cervical em 2012, representando 7,5% de todas as mortes no mundo por câncer feminino. Porém, assim como a incidência, a taxa de mortalidade tem uma alta variabilidade entre as regiões, podendo variar em até 18 vezes, com taxas de menos de 2 óbitos a cada 100 mil mulheres, na Ásia Ocidental e de mais 27 óbitos a cada 100 mil mulheres na África oriental (IARC, 2012).

As maiores taxas de prevalência dessa neoplasia, cerca de até 9% dos casos de câncer cervical, ocorrem em mulheres na faixa etária de 29 a 65 anos e que estão atuantes no mercado de trabalho, resultando em um prejuízo social e econômico considerável. A sobrevivência em cinco anos para esse tipo de câncer varia de 50% a 70% (IARC, 2012).

No Brasil, o câncer do colo uterino é a terceira neoplasia mais incidente e a terceira causa óbitos por câncer em mulheres. Sem considerar os tumores de pele não melanoma, o câncer do colo do útero é o primeiro mais incidente na região Norte. Nas regiões Centro-Oeste e Nordeste ocupa a segunda posição mais frequente, na região Sudeste a terceira e na região Sul a quarta posição (INCA, 2016).

Avaliando exclusivamente o estado do Rio Grande do Sul, foram estimados, para o ano de 2016, cerca de 870 casos novos de câncer do colo uterino, com um risco estimado de 15,14 casos a cada 100 mil mulheres, sendo que para a capital, Porto Alegre, as taxas são maiores ainda, representando 19,47 casos para cada 100 mil mulheres (INCA, 2016). Entretanto, destacamos aqui, que em geral, as capitais sediam centros de referência em diagnóstico e tratamento, onde muitos pacientes dos municípios interioranos do estado são direcionados aos referidos centros.

A última informação para mortalidade no Brasil aponta que ocorreram 129.538 mortes por câncer do colo do útero, no periododo entre 1979 e 2014, sendo 5.448 mortes somente em 2014, representando uma taxa de mortalidade ajustada para a população mundial de 4,88 óbitos para cada 100 mil mulheres (INCA, 2017). Em relação à sobrevida em cinco anos, para o período de 2005 a 2009, a taxa foi de 61% (INCA, 2016).

Apesar de essa neoplasia apresentar bom prognóstico quando diagnosticada precocemente e tratada rapidamente, as taxas de incidência e mortalidade permanecem elevadas no país. Nesse contexto, acredita-se que a baixa cobertura de exames de rastreamento em populações suscetíveis (ou seja, com maior prevalência de determinados fatores de risco), falhas na

condução dos casos com lesões suspeitas, e a baixa adesão ao tratamento das lesões cervicais, podem influenciar no elevado número de novos casos e óbitos por câncer do colo uterino (Wang, Luo e McLafferty, 2010; Andrade, 2012; Plummer e cols., 2016).

1.2 Câncer do colo do útero e o Papilomavírus Humano

A história natural do câncer do colo uterino está fortemente relacionada à infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV), que se apresenta muito bem documentada na literatura (Bosch e cols., 1995; IARC, 2007; zur Hausen, 2009; de Sanjose e cols., 2010).

O vírus HPV é um iniciador do processo de alterações celulares no colo uterino, interrompendo o controle normal do ciclo celular, promovendo a divisão celular descontrolada e o acúmulo de danos genéticos (Crosbie e cols., 2013). Essa capacidade de promover alterações celulares está relacionada às características estruturais e genéticas do vírus, que permitem principalmente a regulação da replicação e transcrição viral, a estimulação da proliferação celular e a promoção da genese tumoral (Muñoz e cols., 2006).

Além disso, a infecção viral também requer a disponibilidade de células epiteliais epidérmicas ou mucosas que ainda são capazes de proliferar (células das camadas basais), geralmente acessadas pelo vírus através de microlesões no tecido, principalmente em regiões de transição ou junção entre o epitélio escamoso e o epitélio glandular do colo uterino, como demonstrado na figura 1 (zur Hausen, 2002).

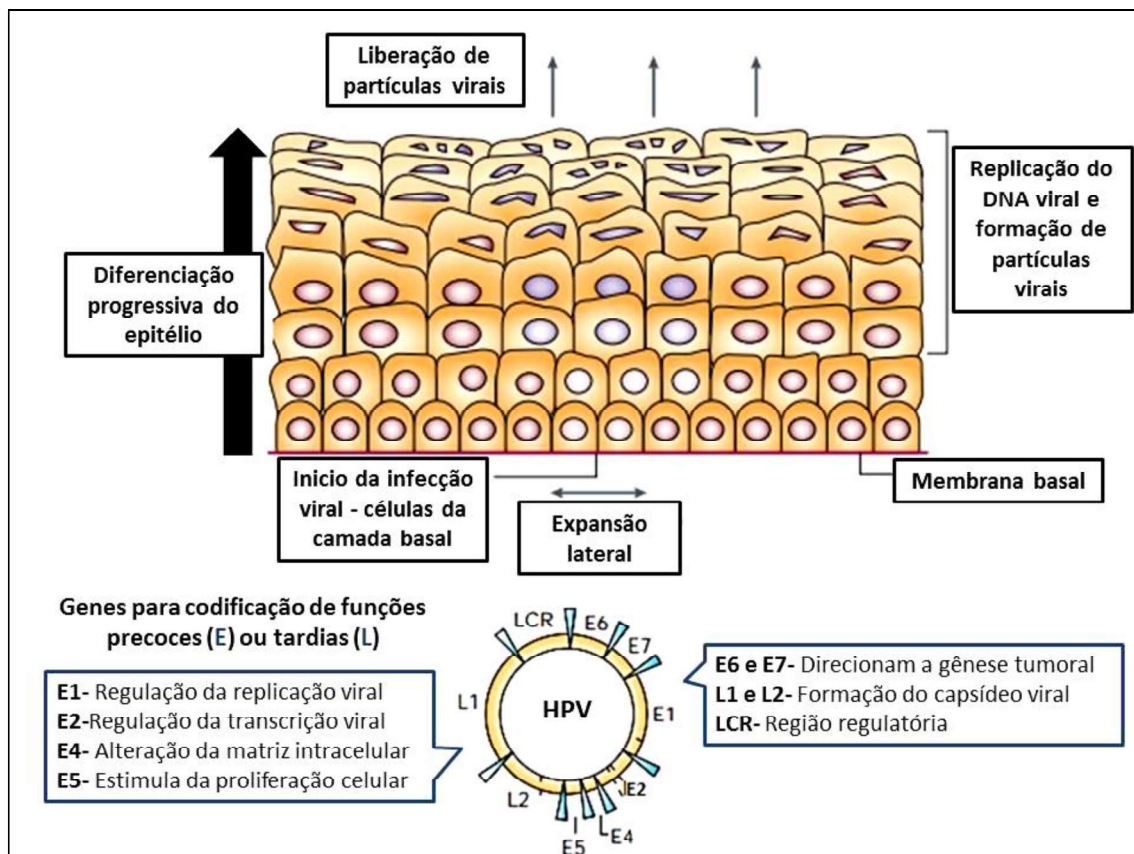


Figura 1. Ilustração da infecção pelo vírus HPV no colo uterino. Adaptado de: zur Hausen, 2002.

A expressão de genes virais precoces (tais como E5, E6 e E7) é amplamente suprimida na camada basal, mas suficiente para induzir um aumento da proliferação das células infectadas pelo HPV, as quais se expandem lateralmente no epitélio (zur Hausen, 2002; Muñoz e cols., 2006).

Após atingir as camadas suprabasais, inicia-se a expressão genética viral "tardia" (L1, L2 e o gene precoce E4) na qual o genoma viral em formato circular é replicado, com posterior formação de proteínas estruturais. Quando alcançam as camadas superiores da epiderme ou da mucosa, as partículas virais completas são montadas e liberadas das células, podendo infectar tecidos adjacentes (zur Hausen, 2002).

À medida que as anormalidades cervicais evoluem para câncer do colo do útero, o DNA viral episossomal permanece integrado no DNA da célula

hospedeira, com a perda associada ou modificação do gene E2, e regulação positiva subsequente de E6 e E7. Dessa forma os genes virais E6 e E7 e as suas respectivas proteínas auxiliam na transformação maligna do epitélio, atuando na gênese tumoral (zur Hausen, 2002; Woodman, Collins e Young, 2007).

Este entendimento inicial sobre o ciclo do vírus e a correlação com as lesões cervicais foi de considerável relevância para elaboração dos atuais programas de saúde pública ao redor do mundo (IARC, 2005; IARC, 2007).

Além disso, estudos sobre o vírus HPV também forneceram suporte epidemiológico para as observações clínicas de que a transmissão sexual é o modo predominante de aquisição do vírus, e que a neoplasia do colo uterino possui também o perfil de uma doença iniciada por uma infecção sexualmente transmissível (IST) (IARC, 2005).

Estima-se que 291 milhões de mulheres no mundo sejam portadoras do HPV, e que 80% das mulheres sexualmente ativas serão infectadas por este vírus em algum momento de suas vidas (de Sanjose e cols., 2007; Chesson e cols., 2014).

Apesar do consenso entre os pesquisadores que a infecção viral é um fator essencial para o desenvolvimento do câncer do colo uterino, ressalta-se que a presença do vírus HPV não é suficiente para a evolução das lesões pré-neoplásicas (Walboomers e cols., 1999; zur Hausen, 2002; Woodman, Collins e Young, 2007). Dessa forma, nem toda mulher infectada pelo vírus HPV irá desenvolver uma neoplasia cervical, sendo importante a presença de outros fatores (Segnan, 1997; Castellsagué e Muñoz, 2003; Denis, Hanz e Alain, 2008; WHO, 2012).

1.3 Fatores de Risco

O desenvolvimento do câncer do colo uterino é definido como um processo longo e multifatorial, envolvendo fatores virais, socioeconômicos, comportamentais, genéticos, imunológicos e hormonais (Zekan, Sirotkovic-Skerlev e Skerlev, 2011). Estes (co)fatores de risco podem ser divididos em três grandes grupos, conforme abaixo apresentados:

1.3.1 Infecção viral

Até o presente momento são conhecidos mais de 200 subtipos diferentes de HPV, sendo que aproximadamente 45 destes possuem tropismo pelo epitélio do trato genital inferior (American Cancer Society, 2014). Entretanto, devido à variabilidade do DNA do HPV, cada subtipo viral possui uma determinada capacidade de causar anormalidades no tecido infectado, apresentando um baixo ou alto risco oncogênico (Gravitt, 2011).

Os HPVs de baixo risco (como os subtipos 6 e 11) estão relacionados principalmente a lesões benignas, enquanto que os HPVs de alto risco (como os subtipos 16 e 18) estão associados majoritariamente às neoplasias e lesões pré-neoplásicas (de Sanjose e cols., 2010).

No mundo, 5% de todos os casos de câncer são associados à HPVs de alto risco oncogênico, sendo que os subtipos 16 e 18 são responsáveis por 70% dos casos de carcinoma invasivo do colo uterino (de Martel e cols., 2012).

Além da infecção por um subtipo de alto risco oncogênico, a persistência da infecção viral também se faz necessária para a evolução das anormalidades cervicais (CDC, 2012). A maioria das mulheres elimina o vírus

espontaneamente em um período de 1 a 2 anos. Entretanto, a presença de outros fatores não virais pode impedir a eliminação do vírus e facilitar a persistência da infecção (Mittal e cols., 2017).

1.3.2 Perfil socioeconômico e comportamental

Além das características da infecção viral, existe uma gama (co)fatores relacionados ao perfil do hospedeiro, que podem aumentar as chances de exposição ao vírus HPV e influenciar na evolução das anormalidades cervicais (NHI, 2017).

Entre esses (co)fatores destaca-se o menor nível socioeconômico e de escolaridade, relacionados principalmente a dificuldade de acesso a serviços de saúde básicos, a não realização de consultas ginecológicas ou a falta de periodicidade dos exames de rastreamento citológico. Esses fatores dificultam a detecção e/ou tratamento de anormalidades cervicais ainda em estágios iniciais, influenciando no desenvolvimento do câncer do colo uterino (Wang, Luo e McLafferty, 2010).

Além disso, o comportamento sexual também pode influenciar na aquisição e infecção pelo vírus HPV, sendo mais provável de ocorrer em indivíduos com múltiplos parceiros sexuais ou que possuem contato sexual com um indivíduo que tem mais de um parceiro sexual (Winer e cols., 2008).

Ressalta-se que por ser uma infecção comum, a maioria das pessoas se infecta pouco tempo depois da primeira atividade sexual, sendo que o início precoce das relações sexuais pode aumentar o tempo de exposição ao vírus HPV e o risco de câncer cervical (Plummer e cols., 2012).

Esse aumento do risco de câncer do colo uterino também está associado ao histórico de outras infecções sexualmente transmissíveis [*Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*), herpes simplex tipo 2 (HSV-2), e Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV)], e doenças autoimunes, principalmente pelo desequilíbrio imunológico já existente e pelos danos na barreira da mucosa do colo uterino causada por agentes infecciosos, facilitando a infecção e depuração do vírus HPV (Becker e cols., 1994; Smith e cols., 2002; Yetimalar e cols., 2012; Silva, Cerqueira e Medeiros, 2014).

O estilo de vida também pode influenciar na infecção pelo HPV e no processo carcinogênico no colo uterino (NHI, 2017). O tabagismo, por exemplo, é um dos fatores mais relacionados à infecção por HPV de alto risco oncogênico e a evolução de anormalidades cervicais. Mulheres HPV positivas apresentam maior risco de desenvolverem lesões cervicais de alto grau quando tabagistas a longo prazo (≥ 10 anos) ou quando apresentam tabagismo intenso (≥ 20 cigarros / dia) (Jensen e cols., 2012).

Além disso, o uso de contraceptivos orais por um longo período de tempo e o número elevado de filhos também estão relacionados ao câncer do colo uterino (NIH, 2017). As alterações hormonais relacionadas a estes fatores podem aumentar a maturação do epitélio cervical, promovendo a replicação celular e apoiando a persistência da infecção viral (Brinton e cols., 1989; Nielsene cols., 2010; Jensen e cols., 2013).

1.3.3 Características genéticas, imunológicas e hormonais

Na última década, tornou-se cada vez mais evidente que as características genéticas, imunológicas e hormonais do hospedeiro podem

desempenhar um papel igualmente importante na carcinogênese cervical (White e cols., 2012; de Freitas, Coimbra e Leitão, 2014).

As variações polimórficas entre hospedeiros podem contribuir para as diferenças interindividuais na susceptibilidade ao câncer cervical, principalmente para polimorfismos de genes hospedeiros envolvidos nas vias complexas carcinogênicas e / ou anti-carcinogênicas (Yu e cols., 2013; Zhang e cols., 2014).

Em relação ao aspecto imunológico, a maioria das infecções pelo HPV se resolve como resultado da ação de uma célula de resposta imune mediada. Porém, a incapacidade de induzir uma resposta imunológica eficaz (Ex: pacientes imunossuprimidos - transplantados, em tratamento com corticóides ou HIV positivos) pode facilitar a persistência viral e tornar o ambiente anti-HPV tolerante, uma característica-chave da infecção pelo HPV de alto risco oncogênico (Crosbie e cols., 2013).

Além disso, quando células efectoras específicas para o antígeno de HPV possuem sua atividade desregulada ou são mal recrutadas para o foco da infecção viral, as células cervicais displásicas (infectadas pelo HPV e contendo queratinócitos cervicais expressando níveis elevados de E6 e E7) podem não ser mortas, resultando na continuação da proliferação celular e progressão da lesão cervical (Stanley, 2008).

Apesar de a imunossupressão duradoura representar um fator de risco para a persistência do DNA viral e para a progressão lesional, os fatores que determinam a persistência da infecção pelo HPV em outras mulheres imunocompetentes não estão completamente definidos (Stanley, 2008).

Outro fator importante são os mecanismos hormonais que também podem atuar na infecção viral, aumentando a expressão de oncogenes E6 e E7, estimulando a degradação de genes supressores de tumor (p53), aumentando a capacidade do DNA viral em transformar as células do colo uterino, e induzindo a carcinogênese cervical (International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer, 2006).

Apesar de determinados fatores de risco serem identificados por estudos como fatores independentes para câncer do colo uterino, é importante destacar que os fatores podem estar atuando em conjunto nas diversas vias da carcinogênese cervical (NIH, 2017). Dessa forma, fazem-se necessários mais estudos sobre a influência destes fatores na evolução de lesões cervicais.

1.4 Diagnóstico

O diagnóstico do câncer do colo de útero ainda em estágios iniciais é desafiante, uma vez que a doença se apresenta de forma assintomática nesta fase (Basil e Horowitz, 2001). Devido ao surgimento dos sintomas em fases mais tardias, o diagnóstico da doença na forma invasora geralmente é demorado, acarretando baixas taxas de cura (Basil e Horowitz, 2001). O câncer do colo do útero pode ser diagnosticado através de três exames clássicos: citologia cervico-vaginal (citopatológico ou teste de Papanicolaou), colposcopia e histopatológico (WHO, 2014b).

O exame citopatológico (ou exame Papanicolaou) é reconhecido mundialmente como um método seguro e eficiente para o rastreamento do câncer do colo uterino e lesões precursoras, permitindo a identificação de

células anormais do colo uterino com um custo relativamente baixo, o que propicia a sua utilização em políticas públicas (INCA, 2011).

Em alguns países, a implementação de programas estruturados de rastreamento citológico, em faixas etárias alvo e em intervalos de tempo pré-estabelecidos, resultou na redução da incidência e mortalidade por câncer do colo uterino (Anttila e cols., 2009).

No Brasil, recomenda-se que este exame seja realizado nas mulheres que já tiveram ou têm atividade sexual, na faixa etária de 25 a 64 anos de idade, sendo os dois primeiros exames realizados com um intervalo anual e, se ambos os resultados forem negativos, os próximos exames realizados a cada três anos (INCA, 2016).

Para as mulheres sem história prévia de doença neoplásica pré-invasiva, os exames citopatológicos devem ser interrompidos quando essas mulheres tiverem pelo menos dois exames negativos consecutivos nos últimos cinco anos. Para mulheres com mais 64 anos de idade e que nunca se submeteram ao exame citopatológico, recomenda-se dois exames com intervalo de um a três anos. Se ambos os exames forem negativos, essas mulheres podem ser dispensadas de exames adicionais (INCA, 2016).

Outro método utilizado é a colposcopia, que possui o objetivo de detectar anormalidades teciduais através da visualização do colo uterino, vagina e vulva. Este tipo de exame é realizado quando no esfregaço citológico é identificada a presença de células atípicas e, também nos casos em que a paciente tenha sido submetida, anteriormente, a tratamento de lesões cervicais relacionadas à infecção pelo HPV, como parte do acompanhamento da paciente (Stofler e cols, 2011; WHO, 2014b).

A técnica padrão ouro para o diagnóstico do câncer do colo uterino é a histopatológica (ou exame anatomopatológico). Este exame se baseia no aspecto morfológico, arquitetural e celular de uma amostra tecidual do colo uterino, avaliando características histológicas relativas à diferenciação, maturação e estratificação das células, e anormalidades nucleares. As informações diagnósticas fornecidas por este exame auxiliam na elaboração da conduta terapêutica, juntamente com os exames citopatológicos e colposcópicos (WHO, 2014a).

O diagnóstico a partir das anormalidades na morfologia celular e arquitetura tecidual, relacionadas a infecções por HPV, é extremamente importante, uma vez que na forma clínica da doença a presença de coilócitos sugere a infecção pelo vírus HPV (Wroclawski e cols., 2005).

Entretanto, para a identificação do genoma do vírus HPV e a classificação do vírus conforme o subtipo específico foi necessário à introdução de novos exames moleculares, que permitem o diagnóstico de infecção viral na ausência de alterações morfológicas e também, auxiliam na triagem de mulheres com maior risco de câncer do colo uterino (Wroclawski e cols., 2005; INCA, 2016).

1.4.1 Classificação citopatológica e histopatológica do câncer do colo do útero e lesões precursoras

Ao longo dos anos diversas classificações citopatológicas e histopatológicas foram elaboradas a fim de facilitar a interpretação das anormalidades no colo uterino. Entre essas classificações destaca-se a

classificação citológica de Papanicolaou, a classificação histológica da OMS, classificação histológica de Richart, a classificação pelo Sistema Bethesda (TBS) e a classificação citológica brasileira (INCA, 2016; IARC, 2017).

Para a elaboração das categorias de anormalidades cervicais, cada sistema de classificação utilizou um critério específico, como o risco de uma paciente apresentar câncer do colo uterino (classe de I até V), o grau de displasia do epitélio (leve, moderado e acentuado), o grau de Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC I, II, e III) e mais recentemente o grau de lesão intraepitelial (baixo - LSIL ou alto - HSIL) e de atipia celular cervical (IARC, 2017). O quadro a seguir expõe essas nomenclaturas para o diagnóstico das lesões cervicais em epitélio escamoso e suas equivalências (Quadro 1).

Quadro 1. Nomeclaturas citopatológica e histopatológica utilizada em exames diagnósticos das lesões cervicais e suas equivalências.

Classificação citológica de Papanicolaou (1941)	Classificação histológica da OMS (1952)	Classificação histológica de Richart (1967)	Sistema Bethesda (2001)	Classificação citológica Brasileira (2006)
Classe I	-	-	-	-
Classe II	-	-	Alterações benignas	Alterações benignas
-	-	-	Atipias de significado indeterminado	Atipias de significado indeterminado
Classe III	Displasia leve Displasia moderada a acentuada	NIC I NIC II e NIC III	LSIL HSIL	LSIL HSIL
Classe IV	Carcinoma <i>in situ</i>	NIC III	HSIL Adenocarcinoma <i>in situ</i> (AIS)	HSIL AIS
Classe V	Carcinoma invasor	Carcinoma invasor	Carcinoma invasor	Carcinoma invasor

Adaptado de: INCA, 2016.

A evolução dos sistemas de descrição e interpretação citológica dos esfregaços Papanicolaou, em resposta principalmente aos avanços no campo da patologia cervical, resultou na atualização contínua do Sistema Bethesda, a classificação atualmente mais utilizada e que é voltada a três princípios básicos (Solomon e cols., 2002): (1) comunicar informações clinicamente relevantes a partir do laboratório para o médico responsável pelo atendimento do paciente; (2) ser uniforme, razoavelmente reprodutível e bastante flexível para se adaptar a uma grande variedade de situações laboratoriais e localizações geográficas; (3) e refletir a compreensão mais atual da neoplasia cervical.

No TBS, após a criação da categoria “Atipias celulares” (inicialmente apenas para células escamosas – ASC) esta foi subdivida em atipias celulares de significado indeterminado (ASC-US), e atipias celulares em que não é possível excluir uma lesão de alto grau (ASC-H). Os ASC-US refletem o diagnóstico diferencial entre alterações benignas (reativas ou inflamatórias) e LSIL, enquanto que ASC-H reflete o diagnóstico diferencial entre metaplasia imatura reativa (processo benigno) e HSIL (Solomon e cols., 2002).

Atualmente além do adenocarcinoma *in situ* (AIS), as atipias em células glandulares também possuem uma classificação, equivalente às anormalidades em epitélio escamoso, que são apresentadas no Quadro 2.

Quadro 2. Sistema Bethesda para anormalidades em epitélio glandular cervical.

Anormalidades em epitélio glandular
Célula glandular atípica (AGC):
<ul style="list-style-type: none"> • Células endocervicais, endometriais ou glandulares sem outras especificações (SOE) – também denominadas de “<i>atypical glandular cells of undetermined significance – AGUS</i>”; • Células endocervicais ou glandulares possivelmente neoplásicas;
Adenocarcinoma endocervical <i>in situ</i> (AIS);
Adenocarcinoma (endometrial, endocervical, SOE).

Fonte: Adaptado de INCA, 2016.

No Brasil, a Diretriz Brasileira para Rastreio do Câncer do Colo do Útero recomenda a utilização da Classificação Citológica Brasileira para laudos cervicais oriundos do sistema público de saúde, a qual é semelhante à classificação pelo TBS (INCA, 2016).

A nomenclatura para os exames histopatológicos amplamente utilizada é a da Organização Mundial da Saúde (OMS) (Scully e cols., 1994), entretanto, apesar de elaborado para a notificação citológica, o TBS é igualmente utilizado para informar sobre achados histopatológicos (Solomon e cols., 2002).

É importante destacar que a notificação dos achados citológicos implica em desafios consideráveis, porém, a citologia permanece como um dos pilares para programas de rastreio e acompanhamento de pacientes com anormalidades no colo uterino (IARC, 2017). Desta forma, as classificações e recomendações promovem a reprodutibilidade diagnóstica, com critérios padronizados e aceitos consensualmente.

1.4.2 Evolução das anormalidades cervicais: Progressão e Regressão

Apesar da exposição frequente das mulheres ao vírus HPV, a evolução das anormalidades para neoplasia cervical não ocorre em todos os casos de mulheres HPV positivas. Estudos sobre a história natural das neoplasias intraepiteliais cervicais, com ênfase na regressão, persistência e progressão da doença demonstraram que a maioria das lesões de baixo grau são transitórias; e que elas tendem a regridir ao normal em períodos relativamente curtos ou não progredir a formas mais graves (McIndoe e cols., 1984; Ostor, 1993; Mitchell e cols., 1994; Melinkow e cols., 1998; Holowaty e cols., 1999).

Esses estudos também demonstraram que as lesões de alto grau, por outro lado, tem uma probabilidade muito maior de progredir à neoplasia invasiva, embora uma porcentagem de tais lesões também regrida ou persista. Etima-se que o intervalo médio para a progressão de lesões precursoras cervicais à neoplasia invasiva é de 10 a 20 anos (Soutter, Sasieni, e Panoskaltis, 2006).

As taxas de progressão à neoplasia invasiva variaram de 29% a 36%, para estudos que fizeram o seguimento de pacientes com lesões intraepiteliais escamosas por biópsia (McIndoe e cols., 1984). Os resultados de uma análise combinada de estudos publicados entre 1950 e 1993 sobre o comportamento das lesões, os quais utilizaram a classificação histológica de Richart, são exibidos no Quadro 3 (Ostor, 1993).

Quadro 3. Probabilidades de regressão, persistência e progressão da lesões cervicais.

Categoria da NIC	Regressão	Persistência	Progressão a NIC 3	Progressão a neoplasia invasiva
NIC 1	57%	32%	11%	1%
NIC 2	43%	35%	22%	1,5%
NIC 3	32%	56%	-	12%

Fonte: Adaptado de Ostor et al, 1993; IARC, 2017.

Em uma revisão realizada por Mitchell e cols (1994), foram demonstradas as probabilidades acumulativas para a evolução das lesões cervicais, tanto por citologia como histologia, sendo de 45% para regressão, 31% para persistência e 23% para progressão.

As análises do risco relativo para progressão e regressão, foram calculadas por Holowaty e cols (1999), referente a dois anos de seguimento para displasias moderadas e graves, sendo a displasia leve usada como

categoria de referência nas comparações, evidenciando um risco relativo para lesão cervical foi de 8,1 para displasia moderada e 22,7 para displasia grave.

Embora esses estudos tenham limitações, eles ofereceram um entendimento inicial sobre o comportamento biológico dessas lesões (IARC, 2017). Entretanto, ressalta-se que o longo período de latência entre a infecção viral inicial e a doença (neoplasia e lesões pré-neoplásicas) indica que vários fatores de risco, ainda não totalmente conhecidos (por exemplo, diferenças genéticas, efeitos hormonais, tabagismo ou inflamação crônica), podem ser necessários para a progressão da doença (IARC, 2017).

Além disso, a regressão espontânea da atipias e lesões cervicais também pode sugerir que muitas mulheres não estão expostas a esses (co)fatores, principalmente de modo contínuo. Dessa forma, a diversidade de fatores de risco e a presença ou ausência dos mesmos podem influenciar nas taxas de progressão e regressão das anormalidades cervicais conforme a população estudada (Omar e cols., 2011).

Sabendo que a maioria dos estudos realizados sobre a evolução das anormalidades cervicais avalia somente lesões em epitélio escamoso, torna-se necessário e clinicamente relevante avaliar em conjunto as atipias celulares e lesões em epitélio glândular cervical, que embora menos frequentes do que as lesões em epitélio escamoso, também podem apresentar risco de progressão para câncer do colo uterino (Cheng e cols., 2011; Wang e cols., 2016).

1.5 Tratamento

A escolha do método de tratamento depende de diversas características, tais como: o número e a topografia das lesões, da associação

ou não com a neoplasia do colo uterino, do histórico individual de lesão cervical, e do perfil imunológico da paciente (Wiebe, Denny e Thomas, 2012).

Os tratamentos mais utilizados atualmente para lesões precursoras do câncer do colo uterino são a Exérese da Zona de Transformação ou Cirurgia de Alta Frequência, Conização com bisturi frio, eletrodo-agulha ou laser (Wiebe, Denny e Thomas, 2012; WHO, 2014a). A crioterapia, eletrocoagulação, coagulação fria e ablação a laser são métodos de tratamento ablativo das lesões cervicais (WHO, 2014a).

Para o tratamento do câncer do colo uterino, são utilizadas principalmente a cirurgia, a radioterapia e a quimioterapia (Wiebe, Denny e Thomas, 2012). No caso do tratamento cirúrgico, a finalidade é a promoção do controle local, com mutilação mínima e a obtenção de informações a respeito da biologia do tumor e de seu prognóstico, modulando assim, o tratamento adjuvante (INCA, 2002).

Outro recurso terapêutico é a radioterapia (externa - teleterapia ou interna - braquiterapia), que através da capacidade de penetração da radiação, elimina ou reduz significativamente o tumor (Benedet e cols., 2000). A quimioterapia, ao contrário da radioterapia, não é o tratamento de escolha para o carcinoma escamoso, mas vários protocolos atuais têm recomendado o uso concomitante com a radioterapia, aumentando a resposta individual ao tratamento (INCA, 2002).

Destaca-se que quando identificadas precocemente, principalmente por programas de rastreio citológico, as alterações no colo uterino podem ser tratadas ainda em estágios iniciais ou em fases precursoras da neoplasia,

aumentando a probabilidade de regressão das alterações cervicais e de cura da paciente (WHO, 2014b).

Neste contexto, a avaliação das taxas de progressão ou regressão das atipias e lesões no colo uterino, tanto em epitélio escamoso quanto em epitélio glandular, podem contribuir para a escolha e avaliação da conduta terapêutica, assim como para avaliação de programas e estratégias de controle do câncer do colo uterino.

1.6 Justificativa

Frente ao exposto, em função da elevada incidência e mortalidade relacionada ao câncer do colo do útero, e da alta taxa de cura desta neoplasia quando detectada e tratada precocemente, propomos através deste estudo aprofundar os conhecimentos sobre os eventos de progressão e regressão das anormalidades cervicais, avaliando o risco destes eventos conforme a idade e o diagnóstico citológico da paciente.

1.7 Referências Bibliográficas

American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2014. Atlanta: 2014. Accessed February 25, 2014. Disponível em: <http://www.thebedisdead.org/wp-content/uploads/2014/02/ACS-2014-F-F-pdf.pdf>. Acessado em: 14 de Janeiro de 2017.

Andrade JM. Limitações para o sucesso do rastreamento do câncer de colo no Brasil. **Rev Bras Ginecol Obstet**. 2012 Jun;34(6):245-7.

Anttila A, von Karsa L, Aasmaa A, Fender M, Patnick J, Rebolj M, et al. Cervical cancer screening policies and coverage in Europe. **Eur J Cancer**. 2009 Oct;45(15):2649-58.

Basil JB, Horowitz IR. Cervical carcinoma—contemporary management. **Obstet Gynecol Clin**. 2001 Dec; 28(4):727-742.

Becker TM, Wheeler CM, McGough NS, Parmenter CA, Jordan SW, Stidley CA, et al. Sexually Transmitted Diseases and Other Risk Factors for Cervical Dysplasia Among Southwestern Hispanic and Non-Hispanic White Women. **JAMA**. 1994 Apr;271(15):1181-1188.

Benedet JL, Bender H, Jones H 3rd, Ngan HY, Pecorelli S. FIGO staging classifications and clinical practice guidelines in the management of gynecologic cancers. FIGO Committee on Gynecologic Oncology. **Int J Gynaecol Obstet**. 2000 Aug;70 (2):209-62.

Bosch FX, Muñoz N, Manos MM, Sherman M, Jansen AM, Peto J, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group. **J Natl Cancer Inst**. 1995 Jun;87(11):796–802.

Brinton LA, Reeves WC, Brenes MM, Herrero R, de Brilton RC, Gaitan E, et al. Parity as a risk factor for cervical cancer. **Am J Epidemiol**. 1989 Sep; 130 (3): 486-96.

Castellsagué X, Muñoz N. Chapter 3: Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis--role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking. **J Natl Cancer Inst Monogr**. 2003;(31):20-8.

CDC. Center for disease control and prevention. Human papillomavirus: Associated cancers United States 2004 – 2008. Morbidity and Mortality Weekly Report 2012; 61(15):258-261.

Cheng WF, Chen YL, You SL, Chen CJ, Chen YC, Hsieh CY, et al. Risk of gynaecological malignancies in cytologically atypical glandular cells: follow-up study of a nationwide screening population. **BJOG**. 2011 Jan; 118(1):34-41.

Chesson HW, Dunne EF, Hariri S, Markowitz LE. The estimated lifetime probability of acquiring human papillomavirus in the United States. **Sexually Transmitted Diseases**. 2014 Nov; 41(11):660-664.

Crosbie EJ, Einstein MH, Franceschi S, Kitchener HC. Human papillomavirus and cervical cancer. **Lancet**. 2013 Sep;382(9895):889-99.

de Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, Clifford G, Bruni L, Muñoz N, Bosch FX. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. **Lancet Infect Dis**. 2007 Jul;7(7):453-9.

de Sanjosé S, Quint WG, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. **Lancet Oncol**. 2010 Nov;11(11):1048-56.

de Freitas AC, Coimbra EC, Leitão Mda C. Molecular targets of HPV oncoproteins: potential biomarkers for cervical carcinogenesis. **Biochim Biophys Acta**. 2014 Apr;1845(2):91-103.

de Martel C, Ferlay J, Franceschi S, Vignat J, Bray F, et al. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: A review and synthetic analysis. **Lancet Oncol**. 2012 Jun; 13(6):607-15.

Denis F, Hanz S., Alain S. Clearance, persistence and recurrence of HPV infection. **Gynecol Obstet & Fertil**. 2008 Apr;36(4):430-40.

Gravitt PE. The known unknowns of HPV natural history. **J Clin Invest**. 2011 Dec;121(12):4593-9.

Holowaty P, Miller AB, Rohan T, To T. Natural history of dysplasia of the uterine cervix. **J Natl Cancer Inst**. 1999 Feb 3;91(3):252-8.

IARC. International Agency for Research on Cancer. Globocan 2012. Estimated Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide, 2012. Disponível em: <http://globocan.iarc.fr>. Acessado em: 11 de outubro de 2016.

IARC. International Agency for Research on Cancer. IARC Handbook of Cancer Prevention Volume 10. Cervix Cancer Screening. Lyon, 2005.

IARC. International Agency for Research on Cancer. Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Human papillomaviruses. **IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum**. 2007; 90:1-636.

IARC. International Agency for Research on Cancer. HPV and Cervical Cancer Curriculum. Disponível em:

<http://screening.iarc.fr/cxcaccurrriculum.php?lang=1> <http://screening.iarc.fr/colpoc hap.php?lang=4&chap=2>. Acessado em 24 de janeiro de 2017.

INCA. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Falando sobre câncer do colo do útero. Rio de Janeiro: 2002. Disponível em: http://www.inca.gov.br/publicacoes/falando_cancer_colo_uterio.pdf. Acessado: 01 de fevereiro de 2017.

INCA. Instituto Nacional de Câncer. Estimativa 2016. Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: 2016.

INCA. Instituto Nacional de Câncer. Sistema de informação de mortalidade. Atlas de Mortalidade por Câncer. Disponível em: <https://mortalidade.inca.gov.br/MortalidadeWeb/>. Acessado em: 24 de fevereiro de 2017.

International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer. Cervical carcinoma and reproductive factors: collaborative reanalysis of individual data on 16,563 women with cervical carcinoma and 33,542 women without cervical carcinoma from 25 epidemiological studies. **Int J Cancer**. 2006 Sep;119(5):1108–24.

Jensen KE, Schmiedel S, Frederiksen K, Norrild B, Iftner T, Kjaer SK. Risk for cervical intraepithelial neoplasia grade 3 or worse in relation to smoking among women with persistent human papillomavirus infection. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**. 2012;21(11):1949-55.

Jensen KE, Schmiedel S, Norrild B, Frederiksen K, Iftner T, Kjaer SK. Parity as a cofactor for high-grade cervical disease among women with persistent human papillomavirus infection: a 13-year follow-up. **Br J Cancer**. 2013 Jan;108(1):234-9.

McIndoe WA, McLean MR, Jones RW, Mullins PR. The invasive potential of carcinoma in situ of the cervix. **Obstet Gynecol**. 1984 Oct;64(4):451-8.

Melnikow J, Nuovo J, Willan AR, Chan BK, Howell LP. Natural history of cervical squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis. **Obstet Gynecol**. 1998 Oct;92(4 Pt 2):727-35.

Mitchell MF, Hittelman WN, Hong WK, Lotan R, Schottenfeld D. The natural history of cervical intraepithelial neoplasia: an argument for intermediate endpoint biomarkers. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**. 1994 Oct-Nov;3(7):619-26.

Mittal S, Basu P, Muwonge R, Banerjee D, Ghosh I, Sengupta MM, et al. Risk of high grade precancerous lesions and invasive cancers in high risk HPV positive women with normal cervix or CIN 1 at baseline – a population based cohort study. **Int. J. Cancer**. 2017 Apr; 140(8):1850-1859.

Muñoz N, Castellsagué X, de González AB, Gissmann L. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. **Vaccine**. 2006 Aug;24(3):1-10.

Nielsen A, Kjaer SK, Munk C, Osler M, Iftner T. Persistence of high-risk human papillomavirus infection in a population-based cohort of Danish women. **J Med Virol.** 2010 Apr;82(4):616-23.

NIH. National Institutes of Health. National Cancer Institute. HPV e Câncer. Disponível em: <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk/infectious-agents/hpv-fact-sheet>. Acessado em: 28 de janeiro de 2017.

Omar T, Schwartz S, Hanrahan C, Modisenyane T, Tshabangu N, Golub JE, et al. Progression and Regression of Pre-malignant Cervical Lesions in HIV-infected Women from Soweto: A Prospective Cohort. **AIDS.** 2011 Jan; 25(1): 87–94.

Ostör AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. **Int J Gynecol Pathol.** 1993 Apr;12(2):186-92.

Plummer M, de Martel C, Vignat J, Ferlay J, Bray F, Franceschi S. Global burden of cancers attributable to infections in 2012: a synthetic analysis. **Lancet Glob Health.** 2016 Sep;4(9):e609-16.

Plummer M, Peto J, Franceschi S, International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer S. Time since first sexual intercourse and the risk of cervical cancer. **Int J Cancer.** 2012 Jun;130(11):2638-44.

Scully RE, Bonfiglio TA, Kurman RJ, Silverberg SG, Wilkinson EJ. Histological typing of female genital tract tumors. 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag, 1994

Segnan N. Socioeconomic status and cancer screening. **IARC Sci Publ.** 1997;(138):369-76.

Silva J, Cerqueira F, Medeiros R. Chlamydia trachomatis infection: implications for HPV status and cervical cancer. **Arch Gynecol Obstet.** 2014 Apr;289(4):715-23.

Smith JS, Herrero R, Bosetti C, Muñoz N, Bosch FX, Eluf-Neto J, et al. Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. **J Natl Cancer Inst.** 2002 Nov 6;94(21):1604-13

Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting the results of cervical cytology. **JAMA.** 2002 Apr; 287(16):2114-9.

Soutter WP, Sasieni P, Panoskaltis T. Long-term risk of invasive cervical cancer after treatment of squamous cervical intraepithelial neoplasia. **Int J Cancer.** 2006 Apr 15;118(8):2048-55.

Stanley M. Immunobiology of HPV and HPV vaccines. **Gynecol Oncol.** 2008 May; 09(2 Suppl):S15-21

Stofler ME, Nunes RD, Rojas PF, Junior AT, Schneider IJ. Avaliação do desempenho da citologia e colposcopia comparados com a histopatologia no rastreamento e diagnóstico das lesões do colo uterino. **Arquivos Catarinenses de Medicina**. 2011 Sep;40(3):31-36.

Zekan J, Sirotkovic-Skerlev M, Skerlev M. Chapter 27: Oncogenic Aspects of HPV Infections of the Female Genital Tract. *Oncogenic Aspects of HPV Infections of the Female Genital Tract. DNA Replication-Current Advances*. 2011. ISBN 978-953-307-593-8.

Zhang X, Zhang L, Tian C, Yang L, Wang Z. Genetic variants and risk of cervical cancer: epidemiological evidence, meta-analysis and research review. **BJOG**. 2014 May;121(6):664–74.

zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers – a brief historical account. **Virology**. 2009 Feb;384(2):260-5.

zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. **Nature Rev. Cancer**. 2002 May;2(5):342–350.

Wang J, Andrae B, Sundström K, Ström P, Ploner A, Elfström KM, et al. Risk of invasive cervical cancer after atypical glandular cells in cervical screening: nationwide cohort study. **BMJ**. 2016 Feb;352:i276.

Wang F, Luo L, McLafferty S. Healthcare access, socioeconomic factors and late-stage cancer diagnosis: an exploratory spatial analysis and public policy implication. **Int J Public Pol**. 2010 Dec; 5(2-3):237-58

Woodman CB, Collins SI, Young LS. The Natural History of Cervical HPV Infection: Unresolved Issues. **Nat Rev Cancer**. 2007 Jan;7(1):11–22.

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 Sep; 189(1):12–19

Winer RL, Feng Q, Hughes JP, O'Reilly S, Kiviat NB, Koutsky LA. Risk of female human papillomavirus acquisition associated with first male sex partner. **J Infect Dis**. 2008 Jan; 197(2):279-82

White EA, Sowa ME, Tan MJ, Jeudy S, Hayes SD, Santha S, et al. Systematic identification of interactions between host cell proteins and E7 oncoproteins from diverse human papillomaviruses. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 2012 Jan;109(5):E260–7.

WHO. World Health Organization. Guidelines for Treatment of Cervical Intraepithelial Neoplasia 2–3 and Adenocarcinoma in situ: Cryotherapy, Large Loop Excision of the Transformation Zone, and Cold Knife Conization. Geneva: 2014a. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK206769/> Acessado em: 10 de Fevereiro de 2017.

WHO. World Health Organization. Comprehensive Cervical Cancer Control: A Guide to Essential Practice. 2nd edition. Geneva: 2014b.

Wiebe E, Denny L, Thomas G. Cancer of the cervix uteri. **Int J Gynaecol Obstet**. 2012 Oct;119(Suppl 2):S100–9.

Wroclawski ER, Rosenblatt C, Lucon AM, Pereyra, EAG. HPV na Prática Clínica. 1nd. Ed. Atheneu: 2005.

Yetimalar H, Kasap B, Cukurova K, Yildiz A, Keklik A, Soyly F. Cofactors in human papillomavirus infection and cervical carcinogenesis. **Arch Gynecol Obstet**. 2012 Mar;285(3):805-10.

Yu Z, Liu Q, Huang C, Wu M, Li G. The interleukin 10–819C/T polymorphism and cancer risk: a HuGE review and meta-analysis of 73 studies including 15,942 cases and 22,336 controls. **OMICS**. 2013 Apr;17(4):200–14.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Analisar a frequência, a progressão e a regressão de lesões precursoras do câncer do colo do útero, e a associação com a idade e o diagnóstico citológico, em um serviço de saúde de referência em oncologia.

2.2 Objetivos específicos

- a) Identificar a taxa de anormalidades cervicais, nos epitélios escamoso e glandular, conforme o diagnóstico citológico, na população estudada;
- b) Verificar a incidência dos eventos de progressão e regressão das anormalidades cervicais, através de informações de exames citopatológicos e anatomopatológicos;
- c) Avaliar o risco dos eventos de progressão e regressão das anormalidades cervicais e associação com a faixa etária e o diagnóstico citológico inicial.

3. ARTIGO CIENTÍFICO

Follow-up of women with cervical cytological abnormalities: Progression and regression events

Aniúscia Vieira dos Santos, Giovana Tavares dos Santos, Rosicler Luzia
Brackmann, João Carlos Prolla, Claudia Giuliano Bica.

Enviado para publicação na Revista
“Asian Pacific Journal of Cancer Prevention”

Title: Follow-up of women with cervical cytological abnormalities: Progression and regression events

Running Head: Progression and regression of cervical abnormalities

Authors:

Aniúsca Vieira dos Santos¹, Giovana Tavares dos Santos², Rosicler Luzia Brackmann³, João Carlos Prolla⁴, Claudia Giuliano Bica⁵.

1 Msc. Pathology Research Laboratory, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Email address: aniusca.vieira@gmail.com

2 PhD. Pathology Research Laboratory, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Email address: santos.giovanat@gmail.com

3 Msc. Laboratory of Pathology, Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Email address: rosiclerm@yahoo.com

4 M.D, PhD. Laboratory of Pathology, Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Email address: jcprolla@yahoo.com

5 PhD. Department of Basic Health Sciences, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Email address: claudia@ufcspa.edu.br

Corresponding author

Address: Department of Basic Health Sciences, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. Street Sarmiento Leite, 245, class 304. E-mail: claudia@ufcspa.edu.br

Phone: 55 (51)3303-8760

Fax: 55 (51) 3303-8810

Abstract

Abnormalities in the cervix, when identified early by Pap smear, can be treated in the early stages or in the precursor stages of the neoplasia, which may increase the chances of regression of the lesion. The aim to verify the rate of cervical abnormalities and to evaluate the risk of progression or regression associated with age and cytological diagnosis.

Methods: The study was conducted in a referral hospital in Southern Brazil, based on the results of pathology and cytopathology laboratory tests of uterine cervix. The historical cohort included patients with an abnormal cytology diagnosis in the period from January 2010 to December 2014, followed until July 2016.

Results: A total of 42,389 cervical smears were analyzed, 4,427 of which were eligible for analysis of the evolution of cervical abnormalities. In progression and regression events analysis, we observed that patients with a cytological diagnosis of atypical glandular cells presented a higher risk of cervical abnormality progression (Hazard Ratio: 2.0 and 95% confidence intervals 1.36–3.48). We also observed that patients younger than 25 years old were more likely to regress the cervical lesions (Hazard Ratio:1.4 and 95% confidence intervals 1.20–1.74).

Conclusions: The associations found between the events (progression and regression), age and cytological diagnosis, highlights the importance of cytological screening in populations at risk of precursor of cervical cancer lesions, especially in women older than 25 years.

Keywords: Cervical Cancer, Screening, Diagnosis, Progression, Regression.

1. Introduction

Worldwide, cervical cancer is the neoplasm that most affects the female genital tract, with approximately 530,000 new cases and 265,000 deaths per year (1). More than 85% of diagnosed cases occur in underdeveloped or developing countries (2). Among these countries, Brazil stands out, with cervical cancer in third place in the ranking of the most common neoplasms among women (3).

These high rates are related to the main risk factor of the disease, the genital Human Papillomavirus (HPV) infection, one of the most common sexually transmitted infection, and which makes cervical cancer a serious public health problem (4-8). However, there are other factors that may influence the acquisition and persistence of viral infection, as well as regression, stabilization or progression of cervical lesions and atypia, modulating different rates of disease around the world (9-12).

In this context, screening programs based on cytology examinations continue to be the mainstay of cervical cancer prevention, above all in underdeveloped or developing countries. When identified early, abnormalities in the uterine cervix may be treated in the early stages or in the precursor phases of the neoplasm, increasing the lesion regression chances (3, 12).

From the results of cytological for the diagnosis of cervical cancer, it is possible to update indicators of rates of progression or regression of cervical abnormalities, to re-evaluate the effectiveness of health programs, and to develop strategies to reduce the incidence of and mortality from this disease. The objective of this study was to analyze the frequency, progression and

regression of cervical cancer precursor lesions associated with age and cytological diagnosis in a reference health service in oncology.

2. Methods

Data

The study was conducted in a referral hospital for oncology in southern Brazil, with a historical cohort and dynamic population. This population was not included in the public health strategy of vaccination against HPV.

Through computerized hospital system we had retrieved information of all cervical cytological examinations - primary smears of screening programs, opportunistic screening, and secondary tests - regardless of whether they are taken under the public system or private healthcare, released from January 2010 to December 2014.

In the all abnormal cytology tests was verified corresponding patient of the cervical smear, through coded data. For each patient, the type of cervical lesion and the evolution of abnormalities in the uterine cervix (progression or regression) were analyzed. The evolution of abnormalities was observed during the follow-up period, between January 2010 and July 2016, through cytological and histopathological.

Study Definitions

In order to define the progression or regression status of cervical abnormalities all cervical diagnosis in follow up was verified, regardless of the treatment strategies. We considered as a regression the cases in which, after the first cytological diagnosis, there was a second diagnosis with normal results during the follow-up. Cases in which a second abnormal diagnosis occurred,

after the first cytology diagnosis, but with a higher degree of cervical damage, were considered a progression of the abnormality.

We categorized the cervical diagnoses according to the Bethesda System for Cervico-vaginal Cytopathology (13) and standardized for Neoplasms: CA, cervical adenocarcinoma; CC, cervical carcinoma, and for Abnormalities precursor of the neoplasm: AGC, atypical glandular cells; ASC, atypical squamous cells; LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesions; HSIL, high-grade squamous intraepithelial.

Quality Assurance

The pathology laboratory of our referral hospital is submitted to some quality assurance procedures. In the cytology unit, all cytological exams are analyzed by two independent cytologists with great expertise, reducing interobserver variable mistakes. In addition, every case of abnormal cytology is reviewed daily and 10% of negative cytology cases are randomly reviewed. In addition, an external quality control of the cytological exams linked to the public health system is performed by an External Quality Monitoring Unit (UMEQ), following recommendations of the Brazilian National Cancer Institute José Alencar Gomes da Silva (INCA), the Brazilian Society of Pathology (SBP), and the Brazilian Society of Clinical Cytology (SBCC).

Statistical analysis

The incidence rate was calculated for each event (regression and progression of cervical lesions), in the period between 2010 and 2016, by age-specific rate and age-standardized per 100.000 person-months (ASR), according to the world's female population (15). To compare the mean age, according to the cervical lesion in the initial cytological diagnosis, the ANOVA

test was used and the Tukey's test was used for multiple comparisons. The Kaplan–Meier curves and the Log-Rank test were used to verify the occurrence time of each event (progression or regression) with comparisons between the levels of the factors analyzed (baseline characteristics of age at event and cytology smear results).

The hazard ratio (HR) of the events was also determined by COX Regression test, depending on the initial cytology diagnosis and the age group of the patient in the event (<25 years, 25–60 years, > 60 years), with crude results (HR) was adjusted for age during the initial study follow-up (aHR), in addition to multiple analysis in the regression model. The statistical significance of the data was considered when $p < 0.05$ and confidence intervals 95% were presented. All data were compiled in a spreadsheet and analyzed using the Statistical Package for Social Sciences (SPSS 23.0® New York / USA).

Ethics approvals

This study was in accordance with the Declaration of Helsinki, the Universal Declaration on Bioethics and Human Rights, and Resolution 466/12 of the National Health Council of Brazil. It was approved by the Research Ethics Committees of the reference institutions (Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre and Complexo Hospitalar Santa Casa), respecting the ethical and legal aspects. This article does not contain any studies with animals performed by any of the authors.

3. Results

From the total of 42,389 cytological samples screened for cervical cancer and precursor lesions between January 2010 and December 2014, 4,709 (11.1%)

with abnormal cytology tests (annual average 2.75%) were identified. From these tests, 4,427 abnormal tests with complete data were selected, which correspond to 3,693 women (with at least one abnormal cytological examination).

This group of women was eligible as the historical cohort, being followed up by the examinations performed in the period between January 2010 and July 2016. However, in the analysis of individual disease history, only 1,996 (54%) women had follow-up examinations (Figure 1). The analysis of the initial cytological diagnosis of each group and follow-up is shown in Table 1.

By the study, the mean age at the beginning of the follow-up was associated with diagnoses of LSIL and AGC ($p < 0.05$), being that group with a cytology diagnosis of atypical glandular cells (AGC) were the oldest in the cohort, with a mean age of $48.4 \text{ years} \pm 11.0$.

On the other hand, women with a cytological diagnosis of low-grade squamous intra-epithelial lesions (LSIL) were the youngest, with a mean age of $33.17 \text{ years} \pm 11.9$. Women with a cytology diagnosis of ASC or high-grade squamous intra-epithelial lesions (HSIL) did not present statistically significant differences relating to age.

We observed that there were no statistically significant differences for the regression event in the comparison of the free-event survival between the age group at the time of the event and the pathology variable by the beginning of the study (Table 2).

However, for the progression event, we found that women with a cytology diagnosis of AGC had the shortest time to progression of cervical abnormalities

(49 months). By contrast, women with a cytological diagnosis of ASC had the longest time to progression events (62.4 months) (Table 3).

In the hazard ratio analyses, after adjusting for age at the time of the initial cytological diagnosis (aHR), women of the <25 years old group presented a risk of 1.4 for regression of cervical abnormalities when compared to women of the 25–65 years old group ($p < 0.01$ and 95% CI 1.20–1.74). The hazard ratio for regression did not present statistically significant differences related to cytological diagnosis (Table 2).

For the progression events, we found that women with a cytological diagnosis of AGC had a 1.9-fold increased risk for progression of cervical abnormalities when compared to women with a cytological diagnosis of ASC (95% CI 1.24–3.13 $p < 0.01$). This found remained after the bivariate and multivariate analyses (Table 3).

The women diagnosed with AGC presented a twofold increased risk of progression of cervical abnormalities in relation to women with an initial diagnosis of ASC in the bivariate analysis (95% CI 1.36–3.48 and $p < 0.01$). In the multiple analysis, 2.1 aHR for progression event was identified for women diagnosed with AGC (95% CI 1.3–3.4 and $p < 0.01$), but no statistically significant differences were found in relation to age (Table 3). The figure 2 shows the survival curves for progression and regression events, according to baseline characteristics of age and cytological diagnosis, after age adjustment.

4. Discussion

In our study, a significant association between cytology diagnosis and progression of cervical abnormalities was found, in addition to, women diagnosed with AGC presented a higher risk of progression of cervical

abnormalities compared with women with ASC diagnosis. We also found that women with an initial cytology diagnosis of AGC presented the progression event in a shorter period of time than women with a cytology diagnosis of ASC, LSIL or HSIL.

Although, the bivariate analysis indicated that the two factors isolated (age group and cytological diagnosis) were related to the progression event. When we performed a multiple analysis in the regression model, we found that only the initial cytological diagnosis of AGC remained statistically significant (aHR 2.1). It is noteworthy that abnormalities in cervical glandular epithelium are relatively uncommon, comprising less than 5% of cervical smear test results in our study. Nevertheless, a strong association between initial cytological diagnosis of AGC and the progression event was found.

Our findings are in accordance to the results of a recent study by Wang J (16), which found that cytological diagnosis of AGC found in cervical screening was associated with a persistent high risk of cervical cancer for up to 15 years, particularly for cervical adenocarcinoma. Similar results were also observed by Cheng et al (17), whereupon women with a first cytological diagnosis of AGC had significantly increased rates of gynecological neoplasms, being 17,85 times more suitable for cancer of the cervix, in comparison to the general screening population.

Regarding the regression event, after adjustment for age in the cytologic diagnosis, we observed a significant association with age, with women younger than 25 years presenting a higher regression rate of the abnormalities than women aged between 25 to 65 years (aHR of 1.4). This association between regression of cervical abnormalities and young patients was also identified in

other studies, with a variability in the regression rates of 59.5% to 84%, according to the characteristics of the population studied (type of cervical lesion and the specific age group) and the time of follow-up (18-20).

The risk of regression evaluation according to the patient's age has a fundamental role in the elaboration of cytological screening strategies, assisting the definition of the target population. Due to the high regression rate of cervical abnormalities in young patients, studies suggest that screening in women with less than 25 years old has no impact on reducing the incidence or mortality of cervical cancer, and that cytological screening for cervical cancer would be less efficient when compared to cytological screening in older women (21).

However, there are still divergences in the recommendations for the age group of cytological screening, especially in countries that use complementary strategies to control cervical cancer, such as prophylactic vaccination for HPV subtypes and identification of the virus in the female population but is not the reality in underdeveloped or developing countries (3, 22, 23).

The studies that evaluate the evolution of cervical abnormalities are fundamental in the epidemiological surveillance of cervical cancer, mainly in underdeveloped or developing countries. The relevance of this study is evidenced for being one of the most current studies on progression and regression of atypias and precursor lesions of cervical cancer, through cytology and pathological data, in a Brazilian hospital reference center, of 42,389 cytological samples screened for cervical cancer.

We conclude that our findings about the risk for abnormalities cervical regression and progression according to age group contribute to current recommendations for cytology screening tests for cervical cancer and precursor

lesions. Moreover, the identified association between cytology diagnosis of AGC in initial follow-up and the increased risk of progression of cervical abnormality shows the importance of further studies, which assess other (co) risk factors related to the evolution of abnormalities in cervical glandular epithelium.

Conflict of interest

The authors declare they have no conflicts of interest.

Acknowledgments

This research was supported by Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). The authors gratefully acknowledge to the technical assistance of Cristiane Bündchen and André Nasi, and supported to the students of Scientific Initiation Estefany Ghisio, Deborah Lumi, Ana Carolina Saraiva and Yuri Machado during the course of this research.

References

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015;136(5):E359-86.
2. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*. 2015;65(2):87-108.
3. *INCA. [Estimativa 2016: Incidência de Câncer no Brasil]* Estimativa 2016: Incidência de Câncer no Brasil. 2015. p. 122.
4. Human papillomaviruses. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*. 2007;90:1-636.

5. Koshiol J, Lindsay L, Pimenta JM, Poole C, Jenkins D, Smith JS. Persistent human papillomavirus infection and cervical neoplasia: a systematic review and meta-analysis. *Am J Epidemiol*. 2008;168(2):123-37.
6. zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers - a brief historical account. *Virology*. 2009;384(2):260-5.
7. de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol*. 2010;11(11):1048-56.
8. CDC. Cancer Gynecologic – Module 2 Cervical Cancer. Screening Recommendations and Considerations. Cervical Cancer Screening Guidelines. 2015 [Centers for Disease Control and Prevention]. Available from: <https://www.cdc.gov/cancer/cervical/pdf/guidelines.pdf>.
9. zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer*. 2002;2(5):342-50.
10. Castellsagué X, Muñoz N. Chapter 3: Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis--role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2003(31):20-8.
11. de Freitas AC, Gurgel AP, Chagas BS, Coimbra EC, do Amaral CM. Susceptibility to cervical cancer: an overview. *Gynecol Oncol*. 2012;126(2):304-11.
12. WHO. Comprehensive Cervical Cancer Control: A Guide to Essential Practice. 2014. 2nd. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK269622/>.
13. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA*. 2002;287(16):2114-9.
14. Richart, R.M. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia. *Clinical Obstetrics and Gynecology*. 1967;10(4):748-84.
15. Population Division (2015) World Population Prospects: The 2015 Revision. [Internet]. 2015. Available from: <https://esa.un.org/unpd/wpp/Download/Standard/Population/>.
16. Wang J, Andrae B, Sundström K, Ström P, Ploner A, Elfström KM, et al. Risk of invasive cervical cancer after atypical glandular cells in cervical screening: nationwide cohort study. *BMJ*. 2016;352:i276.

17. Cheng WF, Chen YL, You SL, Chen CJ, Chen YC, Hsieh CY, et al. Risk of gynaecological malignancies in cytologically atypical glandular cells: follow-up study of a nationwide screening population. *BJOG*. 2011;118(1):34-41.
18. van Oortmarssen GJ, Habbema JD. Epidemiological evidence for age-dependent regression of pre-invasive cervical cancer. *Br J Cancer*. 1991;64(3):559-65.
19. Morrison BJ, Coldman AJ, Boyes DA, Anderson GH. Forty years of repeated screening: the significance of carcinoma in situ. *Br J Cancer*. 1996;74(5):814-9.
20. Munro A, Powell RG, A Cohen P, Bowen S, Spilsbury K, O'Leary P, et al. Spontaneous regression of CIN2 in women aged 18-24 years: a retrospective study of a state-wide population in Western Australia. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2016;95(3):291-8.
21. Vicus D, Sutradhar R, Lu Y, Elit L, Kupets R, Paszat L, et al. The association between cervical cancer screening and mortality from cervical cancer: a population based case-control study. *Gynecol Oncol*. 2014;133(2):167-71.
22. Smith RA, Andrews KS, Brooks D, Fedewa SA, Manassaram-Baptiste D, Saslow D, et al. Cancer screening in the United States, 2017: A review of current American Cancer Society guidelines and current issues in cancer screening. *CA Cancer J Clin*. 2017;67(2):100-21.
23. Lees BF, Erickson BK, Huh WK. Cervical cancer screening: evidence behind the guidelines. *Am J Obstet Gynecol*. 2016;214(4):438-43.

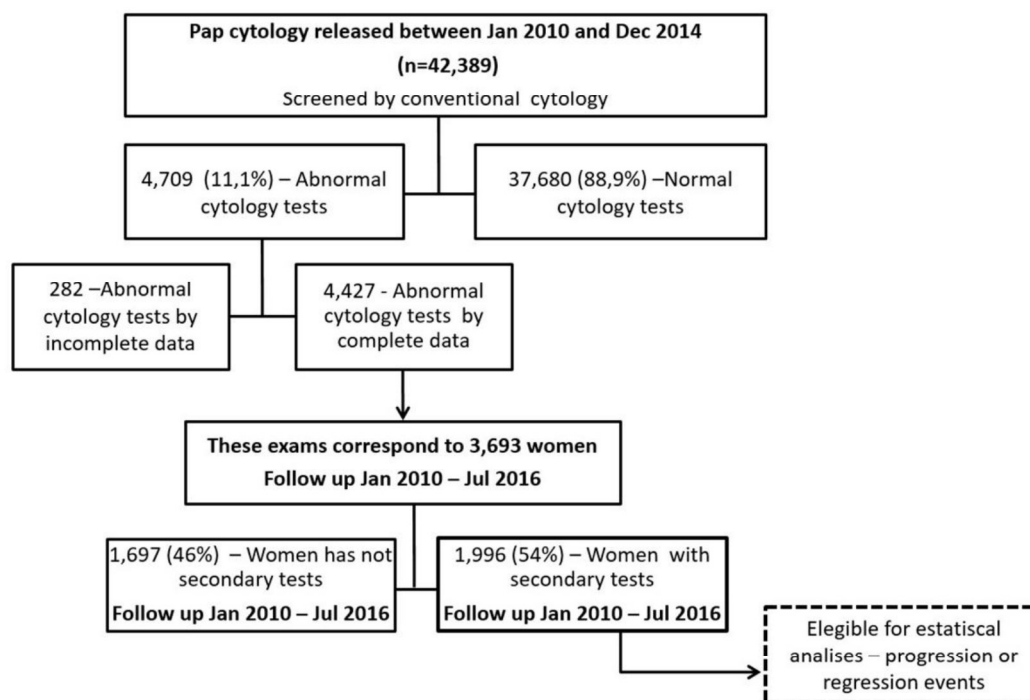
Figure 1 Study population - Details on retrospective cohort.

Table 1. Results of all cervical smears and complete range of follow-up results.

	N	%
Total women	3693	100,0
Pap Cytology		
AGC	123	3,3
CA	0	0,0
CC	2	0,1
HSIL	65	1,8
LSIL	570	15,4
ASC	2933	79,4
Followed up women ¹	1996	54,0
Loss of follow-up	1697	46,0
Follow up results	1996	100,0
<i>Pap Cytology</i>		
AGC	87	4,4
CA	0	0,0
CC	2	0,1
HSIL	48	2,4
LSIL	303	15,2
ASC	1556	78,0
<i>Progression or Regression events</i>		
Non Events	17	0,9
Events	1979	99,1

Abbreviations: AGC, atypical glandular cells; CA, cervical adenocarcinoma; CC, cervical carcinoma; HSIL, high-grade squamous intraepithelial lesions; LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesions; ASC, atypical squamous cells

¹Period of follow-up between January 2010 and July 2016.

Table 2. Regression rates after follow-up between 2010 and 2016, according to age group and cytology diagnosis.

Regression event						
(N= 1727 cases Incidence= 8.6 per 100.000 ASR ¹ = 6,803.4 pm)						
	Mean Time (in months)	SE (95% CI)	Univariate HR Crude (95%CI)	p-Value	Bivariate aHR (95%CI)	p-Value
Age in years						
<25	12,4	0,7 (11,1 - 13,8)	1,0 (0,9 - 1,2)	0,36	1,4 (1,2 - 1,7)	< 0,01
25-65	13,5	0,3 (12,9 - 14,1)	(ref)		(ref)	
>65	11,4	1.3 (8,8 - 14,0)	1,2 (0,9 - 1,5)	0,13	0,8 (0,6 - 1,1)	0,18
Pap Cytology²						
ASC	13,1	0,3 (12,5 - 13,7)	(ref)		(ref)	
LSIL	14,6	0,8 (13,0 - 16,3)	0,8 (0,7 - 1,0)	0,06	1,0 (0,8 - 1,2)	0,87
HSIL	15,1	2,5 (10,0 - 20,2)	0,9 (0,6 - 1,2)	0,61	0,9 (0,7 - 1,2)	0,68
AGC	13,3	1,6 (9,9 - 16,6)	1,0 (0,8 - 1,3)	0,75	0,9 (0,6 - 1,4)	0,83

Abbreviations: ASC, atypical squamous cells; LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesions; HSIL, high-grade squamous intraepithelial lesions; AGC, atypical glandular cells. SD, standard deviations; SE, standard error; CI, confidence interval; HR, hazard ratio; aHR, Hazard ratio adjusted of age; Ref, Reference variable.

¹ASR, Age-standardized incidence rate per 100.000 person-months. All person-months observation (regression event): 19.859

²Only pre-malignant cervical lesions.

Table 3. Progression rates after follow-up between 2010 and 2016, according to age group and cytology diagnosis.

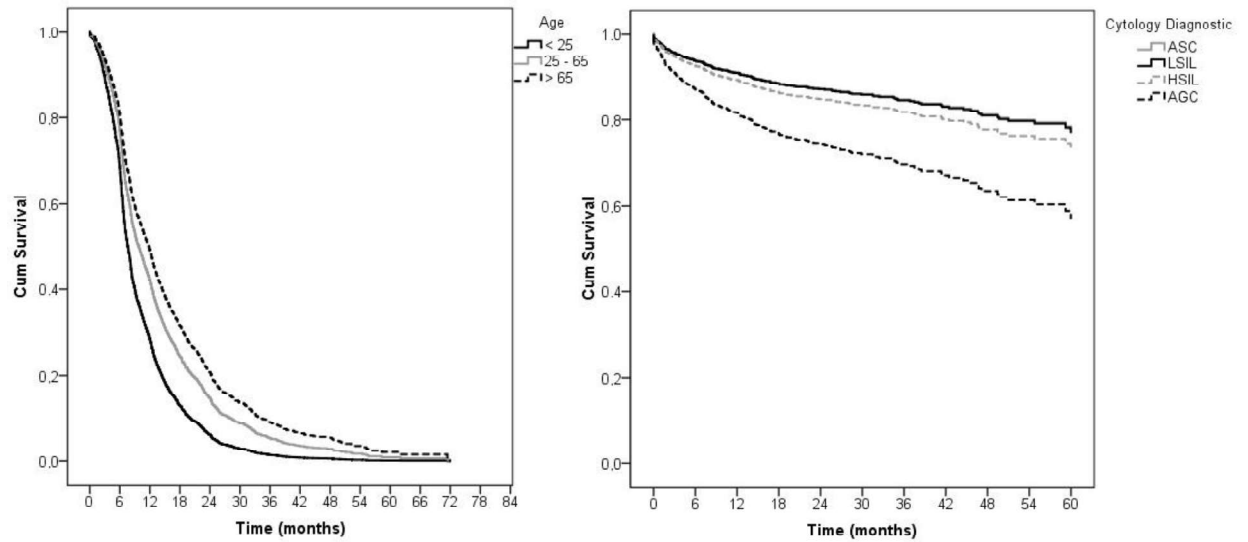
Progression event								
(N= 252 cases Incidence= 9.3 per 100.000 ASR ¹ = 101,089.2 pm)								
	Mean Time (in months)	SE (95%CI)	Univariate HR Crude (95%CI)	p-Value	Bivariate aHR (95%CI)	p-Value	Multiple analysis aHR (95%CI)	p-Value
Age in years								
<25	50,3	2,7 (44,9 - 55,7)	1,6 (1,1 - 2,4)	< 0,01	1,3 (0,8 - 2,0)	0,21	1,3 (0,8 - 2,0)	0,19
25-65	62,6	0,7 (61,1 - 64,2)	(ref)		(ref)		(ref)	
>65	57,5	2,7 (52,1 - 62,9)	1,2 (0,7 - 2,3)	0,39	1,8 (0,9 - 3,6)	0,90	1,8 (0,9 - 3,6)	0,09
Pap Cytology²								
ASC	62,4	0,8 (60,8 - 64,1)	(ref)		(ref)		(ref)	
LSIL	61,9	1,7 (58,4 - 65,4)	1,1 (0,7 - 1,5)	0,52	1,0 (0,7 - 1,4)	0,93	0,9 (0,6 - 1,3)	0,93
HSIL	54,0	2,9 (48,2 - 59,9)	1,2 (0,5 - 2,8)	0,57	1,2 (0,5 - 2,7)	0,64	1,2 (0,5 - 2,7)	0,62
AGC	49,7	3,3 (43,1 - 56,2)	1,9 (1,2 - 3,1)	< 0,01	2,1 (1,3 - 3,4)	<0,01	2,1 (1,3 - 3,4)	< 0,01

Abbreviations: ASC, atypical squamous cells - of undetermined significance or cannot rule out a high grade lesion; LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesions; HSIL, high-grade squamous intraepithelial lesions; AGC, Atypical glandular cells. SD, standard deviations; SE, standard error; CI, confidence interval; HR, hazard ratio; aHR, Hazard ratio adjusted of age; Ref, Reference variable.

¹ASR, Age-standardized incidence rate per 100.000 person-months. All person-months observation (progression event): 2.704

²Only pre-malignant cervical lesions.

Figure 2 A. Hazard risk of regression event in association with group age woman (ref. age 25-65 years). **B.** Hazard risk of progression event in association with cytology diagnostic (ref. cytology diagnostic at AGC).



4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O trabalho aqui apresentado faz parte de um grande projeto intitulado **“Câncer do colo do útero: Caracterização e Rastreamento”**, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da ISCMPA com Parecer N° 1.442.333/16, e tendo como instituição participante a Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), através da ementa sob parecer N° 1.525.061/16.

Desse projeto maior foi desenvolvida a presente dissertação de Mestrado, durante a qual foi possível atuar na prática docente, contribuindo para a experiência profissional no ambiente acadêmico, além de outros projetos em andamento, como trabalhos na modalidade de Iniciação Científica e dissertações de mestrado.

Apresentamos como resultados desta pesquisa, o Artigo intitulado **“Progression and regression of cervix uterine lesions: a cohort study”** no qual verificamos que mulheres com diagnóstico citológico de atipia em epitélio glandular cervical (AGC) podem apresentar duas vezes mais risco de progressão das anormalidades cervicais do que pacientes com diagnóstico citológico de atipias em epitélio escamoso de significado indeterminado (ASCUS).

Também observamos neste estudo que mulheres com idade inferior a 25 anos apresentam maior taxa de regressão das anormalidades cervicais do que mulheres com idade entre 25 a 65 anos. Tais evidências refletem a necessidade de mais estudos sobre a progressão e regressão das anormalidades cervicais e possíveis fatores de risco associados.

Ressalta-se que ao cursar o mestrado no Programa de Pós Graduação em Patologia desta renomada instituição foi possível o envolvimento e a participação em outros projetos e estudos em andamento, relacionados ao Câncer do colo Uterino e ao Papilomavírus Humano, tais como o Projeto Nacional de Extensão Mulheres em Ação e o Projeto Nacional de Pesquisa POP-Brasil.

Anexo 1: Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da ISCMPA

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: CÂNCER DE COLO DE ÚTERO: CARACTERIZAÇÃO E RASTREAMENTO

Pesquisador: Claudia Giuliano Bica

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 50985515.9.0000.5335

Instituição Proponente: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.442.333

Apresentação do Projeto:

Estudo do tipo observacional para avaliar a incidência dos subtipos de vírus do HPV a ser realizado com amostras de 1.000 pacientes, monitorando assim este câncer de colo de útero bem como trabalhar de forma educativa e informativa para adesão ao tratamento, forma de transmissão e prevenção da doença.

Objetivo da Pesquisa:

Identificar os subtipos de vírus do HPV para realizar melhor monitoramento do câncer de colo de útero destas pacientes.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O pesquisador declara sobre:

- Riscos: riscos mínimos para as pacientes pois os pesquisadores tomarão todos os cuidados necessários na garantia de que serão mantidos sigilo e anonimato das informações, ao codificar as amostras coletadas e após o estudo concluído, as amostras serão desprezadas como resíduos biológicos como prevê a RDC 306.
- Benefícios: serão científicos / acadêmicos, onde se pretende obter informações relevantes quanto ao diagnóstico e tratamento para posterior avaliação de condutas, que melhorem as taxas de adesão e seguimento das pacientes em relação ao diagnóstico.

Endereço: R. Profª Annes Dias, 295 Hosp. Dom Vicente Scherer

Bairro: 6º andar - Centro **CEP:** 90.020-090

UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3214-8571 **Fax:** (51)3214-8571 **E-mail:** cep@santacasa.tche.br

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



Continuação do Parecer: 1.442.333

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Não aplicável.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os seguintes documentos foram anexados e estão adequados: Folha de Rosto para Pesquisa envolvendo seres humanos, Formulário de Inscrição de Projetos de Pesquisa – CEP da ISCMPA, Orçamento, Cronograma, Termo de compromisso para utilização de dados de prontuários, Declaração de Confidencialidade do sujeito no estudo, Declaração de autorização da Chefia responsável, Declaração de uso e publicação de dados, Declaração de uso de dados e materiais, Declaração de isenção de ônus à Instituição.

Recomendações:

- Cronograma: no documento anexado à Plataforma Brasil o início está previsto para o primeiro trimestre deste ano. Nas Informações Básicas do Projeto: está como início em 01/02/2016. Iniciar o protocolo após a aprovação neste CEP.
- TCLE para amostras de pacientes do Amazonas: utilizar o TCLE. Caso não seja possível localizar a paciente, realizar registro em documento com as tentativas de contato com a(s) mesma(s).

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não aplicável.

Considerações Finais a critério do CEP:

Após avaliação do protocolo acima descrito, o presente comitê não encontrou óbices quanto ao desenvolvimento do estudo em nossa Instituição e poderá ser iniciado a partir da data deste parecer.

Obs.: 1 - O pesquisador responsável deve encaminhar à este CEP, Relatórios de Andamento dos Projetos desenvolvidos na ISCMPA. Relatórios Parciais (pesquisas com duração superior à 6 meses), Relatórios Finais (ao término da pesquisa) e os Resultados Obtidos (cópia da publicação).

2 - Para o início do projeto de pesquisa, o investigador deverá apresentar a chefia do serviço (onde será realizada a pesquisa), o Parecer Consubstanciado de aprovação do protocolo pelo Comitê de Ética.

Endereço: R. Profª Annes Dias, 295 Hosp. Dom Vicente Scherer
Bairro: 6º andar - Centro CEP: 90.020-090
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3214-8571 Fax: (51)3214-8571 E-mail: cep@santacasa.tche.br

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



Continuação do Parecer: 1.442.333

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PORTO ALEGRE, 08 de Março de 2016

Assinado por:
Carlos Henrique Munhoz Olea
(Coordenador)

Anexo 2: Emenda de inclusão da UFCSPA como instituição participante

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: CÂNCER DE COLO DE ÚTERO: CARACTERIZAÇÃO E RASTREAMENTO

Pesquisador: Claudia Giuliano Bica

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 50985515.9.0000.5335

Instituição Proponente: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.525.061

Apresentação do Projeto:

Conforme descritos no parecer consubstanciado do CEP.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo da notificação:

Solicitar a inclusão da Universidade Federal de Ciências da Saúde (UFCSPA) como instituição participante.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

De acordo.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não se aplica.

Endereço: R. Profª Annes Dias, 295 Hosp. Dom Vicente Scherer
Bairro: 6º andar - Centro **CEP:** 90.020-090
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3214-8571 **Fax:** (51)3214-8571 **E-mail:** cep@santacasa.tche.br

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



Continuação do Parecer: 1.525.061

Considerações Finais a critério do CEP:

Após a avaliação da solicitação a emenda da inclusão de instituição participante referente ao estudo acima descrito, o presente Comitê não encontrou óbices quanto à implementação das mesmas.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PORTO ALEGRE, 02 de Maio de 2016

Assinado por:
Carlos Henrique Munhoz Olea
(Coordenador)

Anexo 3: Normas da Revista Asian Pacific Journal of Cancer Prevention

SUBMISSION GUIDELINES

GENERAL INFORMATION

- All manuscripts must be submitted electronically through our website available at “Submit Paper” menu.
- Submit text files only in .DOC or .DOCX file formats — other file formats are not accepted.
- Authors are required to email or upload any permission that may have been obtained for figures or tables, or any permission required for patient consent after they have received the official acceptance letter.

Accepted Manuscript Types

The APJCP accepts the following manuscript types:

Research Articles: Scientific reports of original research. The text for research articles is limited to 5,000 words including the title page, abstract, text, references, figures, and tables.

Review Articles including mini-review: A timely, in-depth treatment of an issue. Review articles are generally solicited by the editors, but unsolicited materials may also be considered. Authors intending to submit a review article must send an email in this regard to the Editor-in-Chief at journal@waocp.org with the subject line of “Request to send a review for APJCP”. The author must also explain his intent and present supporting documents of his/her competency in the subject. His request will be assessed and he/she will be notified of the results of the editorial assessment, and then he may proceed accordingly.

Systematic Review and Meta-analysis: A systematic review answers a defined research question by collecting and summarizing all empirical evidence that fits pre-specified eligibility criteria. A meta-analysis is the use of statistical methods to summarize the results of these studies.

Methodological papers: Manuscripts containing a description of novel methods and significant improvements to tried-and-tested basic research techniques related to cancer are welcome. The manuscript has to provide readers with new tools and skills to improve their methodology and/or conduct their research.

Editorials: Opinions of recognized leaders in cancer specialties. Editorials are generally solicited by the Editor-in-Chief and are related to a manuscript on the same issue. The length should not exceed 2,400 words and with no more than 20 references.

Commentaries: Presents a point of view of general interest not related to an article in the same issue of the APJCP.

Short Communications: Brief notes on selected topics from recognized cancer organizations such as the Asian Pacific Organization for Cancer Prevention. The length should not exceed 2,000 words and with no more than 2 tables and figures, and no more than 20 references.

In Memoriam: Memorialization of recently deceased individuals who have made notable contributions to the field of cancer prevention in the Asia Pacific region.

Correspondence: Letters to the Editor related to papers previously published in the APJCP. Letters must be submitted within six months of the online publication date of the article. The authors of the original publication will be given the opportunity to respond in the same issue of the journal. Letters and responses must not exceed 750 words in length. Financial associations or other potential conflicts of interest must be declared.

Case series: Reports of single cases will not be considered; however, the APJCP encourages large case series from Asian countries/populations (minorities, ethnicities, and populations with a particular attribute), in which not much data on cancer is available.

Protocol: Manuscript of ongoing or starting large well-designed studies such as clinical trials and cohorts can be considered for publication if the manuscript follows the Protocol Items for Randomized Trials (SPIRIT)) articulation. Prospective authors are advised to visit the [SPIRIT site](http://www.spirit-statement.org) at "http://www.spirit-statement.org" and read the convention and prepare their manuscript using the SPIRTI recommendations. The manuscript should present all items listed in the SPIRTI checklist. The protocol must have ethical approval and be officially registered (for clinical trials) before being considered for publication.

Fees

The APJCP does not charge any submission, page, or color fees. However, to defray costs of formatting and preservation, server maintenance, etc., there is a minimal publication charge based on country of residency's World Bank classification for accepted manuscripts. The charges are as follow:

- Low-income economies 150 US dollars
- Lower-middle-income economies: 200 US dollars
- Upper-middle-income economies: 300 US dollars
- High-income: 400 US dollars

To find the category of your country, please download [World Bank Calcification Table](#).

Country of residence is determined by the affiliation of the corresponding author. If more than one corresponding author from different categories of

World Bank classification, the charge will be based on the higher income category.

Students (MS, Ph.D., Research fellows)/ visiting faculties from low and lower categories who study/visit in the upper and high income categories can pay the same as the country of their origin if they are considered as *international students* (they must provide a certificate from the international office of the university).

Important Notice: Starting from July 1, 2017, all manuscripts accepted for publication will be assessed for quality of English writing. Those that do not pass our required quality score will be monitored for improvement by our editorial assistants before being published. There is extra 20 US dollars charge of monitoring cost for these manuscripts. **Please click here and read more about this notice.**

Pre-submission Inquiries

Due to the high volume of submissions we receive, the *APJCP* does not consider presubmission inquiries. Instead, please submit full manuscripts online.

APOCP's Cancer Control Conviction

The APJCP will not consider any work that is funded directly or indirectly by tobacco companies or their subsidiaries. Any such work will be editorially rejected. Please note that this does not include work from organizations that sponsor research from funds won as part of tobacco settlements that are intended to promote research and care toward alleviating the suffering of individuals affected by tobacco products.

Simultaneous Submission and Online Posting

The APJCP will not consider manuscripts that are concurrently submitted elsewhere or have been published previously (including online publications). The presentation of research results at scientific conferences or in the abstract book of the conference does not constitute a previously published article. A manuscript cannot be posted on the author's or institutional website when it has been submitted to the APJCP EMMS. Accepted manuscripts cannot be posted online until after the paper has been fully published in the APJCP.

Cell Line Authentication

To ensure the highest standards of quality and accuracy, the *APJCP* strongly encourages the authentication of cell lines used in the research submitted to the journal. Manuscripts based on research using cell lines must include a statement addressing the following points in the Methods section of the manuscript:

1. Where the cells were obtained from.

2. Whether the cell lines have been tested and authenticated.
3. The method by which the cells were tested.

If cells were obtained directly from a cell bank that performs cell line characterizations and had a passage in the user's laboratory for fewer than 6 months after receipt or resuscitation, re-authorization is not required. In these cases, please include the method of characterization used by the cell bank. If the cell lines were obtained from an alternate source, authors must provide authentication of the origin and identity of the cells. This is best achieved by DNA (STR) profiling. The DNA profile should be cross-checked with the DNA profile of the donor tissue (in the case of a new cell line), or with the DNA profile of other continuous cell lines.

Clinical Trial Registry

The APJCP requires that all prospective, randomized, controlled trials be registered in a national or international registry such as:

(actr.org.au, clinicaltrials.gov, ISRCTN.org, umin.ac.jp/ctr/index/htm, and trialregister.nl)

Randomized Controlled Trials

Reports of Randomized Controlled Trials (RCTs) must clearly state the method of randomization. The title and abstract must specify that the manuscript is a report of randomized controlled trials. Authors reporting RCTs manuscript are advised to provide the CONSORT checklist as a supplemental file (download a copy of the CONSORT checklist).

Authorship Responsibility

The authors' names listed in a manuscript indicate that each author has participated sufficiently in the work to take public responsibility for the content. Authorship should be established based on the following criteria and responsibilities:

Substantial contributions to conception and design, or analysis and interpretation of research.

Participate critically in revising intellectual contents of the paper.

- Author has approved the final version of the paper.
- Accept responsibility for all aspects of the work.

Author status must carefully be reviewed prior to submitting a manuscript. Changes to the names on the author list (adding or deleting) may not be permitted or may require extra charges for corresponding authors.

Authors' Professional and Ethical Responsibilities

The *APJCP* reserves the right to forward any claim of scientific misconduct to the sponsoring or funding institution, or to other appropriate authorities for investigation — the *APJCP* does not investigate or make determinations of misconduct. The author will be notified if the *APJCP* forwards any manuscript to the sponsoring or funding institution for such a claim.

Permission to use copyrighted materials

Use of previously published or copyrighted material reproduced from another source must be properly cited. The corresponding author is responsible for obtaining written permission from the appropriate authors and/or copyright holders to use previously published or copyrighted material. Signed permission statements from the copyright holder for both print and online reproduction, must be sent to the *APJCP* Editorial Office upon manuscript submission. Permission statements must also be obtained from at least one author when citing in press articles.

Observational Studies

Observational studies (cohort, case-control, or cross-sectional designs) must be reported according to the STROBE Statement. Authors reporting Observational studies are advised to provide the STOBE Statement as a supplemental file (download a copy of the STOBE statement).

Reports of Diagnostic Tests

Authors reporting diagnostic tests studies are advised to provide the STARD flow diagram and checklist as a supplemental file (download a STARD Follow Diagram).

Statistical Analysis

The following guidelines should be followed:

- Report the effective sample size for each study and each subgroup analysis.
- Describe the power analysis to justify the sample size if appropriate.
- Identify all statistical methods and verify the assumptions for all statistical tests.
- Provide alpha (the probability of a Type I error) for all statistical tests.
- Specify whether tests are one- or two-sided.
- Report the descriptive statistics (n, mean, median, and standard deviation) for all continuous variables.
- Adequately explain complex statistical procedures such a multivariate logistic regression and the Cox proportional hazard regression model, and verify the assumptions of each such procedure.
- Report the actual P-values and explain what is meant by statistical significance.

Classification and Staging

In reporting clinical staging of cancer UICC TNM Classification and Stage groupings should be used. If another staging system is stated, UICC TNM equivalent must also be provided. When a stage or classification is used in the manuscript, a reference citing the staging system must be provided.

Drugs and Devices

Use the generic drug name (or generic name followed by trade name in parentheses). Include manufacturer and their location (city and country) for drugs and devices.

Abbreviations

Use only standard abbreviations and spell out all abbreviations at first use in the text, followed by the abbreviation in parentheses.

Protection of Human and Animal Subjects

The APJCP endorses the principles governing the protection of human subjects in research embodied in the Declaration of Helsinki and expects that all investigations involving human subject have been performed in accordance with these principles.

Recommended standards

Use the following standard when appropriate to report data and information:

- Cancer Staging: UICC TNM Classification of Malignant Tumors.
- Histological classification of tumors: International Classification of Disease Oncology (ICD-O) from the international disease classification system of the World Health Organization.
- Drug naming: Both generic and brand name.
- Chemical terms: Naming and Indexing of Chemical Substances for Chemical Abstracts.
- Terms relating to diseases, operations, and procedures: Use the International Classification of Diseases (ICD) of the World Health Organization.
- Units of measure: Use Système International (SI) or metric system.

REQUIRED INFORMATION, FILES AND FORMATTING GUIDELINES

Submission to journal includes:

1) Filling out the metadata form

When you submit your manuscript, you need to have the following items of information ready:

Corresponding author's contact information: You need to provide the complete contact information of the corresponding author including e-mail, phone number, institutional address.

Running Head: Prepare a running head of 40 characters or less for your manuscript.

Abstract: Prepare an abstract of your manuscript according to the author's guideline. Normally Research Articles, Review Articles, Meta-analysis, and case series, should include an abstract.

Keywords: Prepare three to ten keywords. Keywords are used for optimizing search engines — appropriate keywords are therefore important.

Co-authors Information: For a successful upload, you need to have the full name, affiliation, and emails of all authors.

Candid reviewer: During manuscript submission, you are asked to candid at least one reviewer for your manuscript. You need to have the name, affiliation, and email for one reviewer. Make sure the reviewer of your choice is competent in the subject of your manuscript.

2) uploading your files

You need to have at least two files prepared for uploading: **the cover Letter, the manuscript.** Both files must be either Microsoft Word, OpenOffice, or PDF file. If you have supplementary or supporting data (SSD) files you can upload it at this stage of submission.

How to prepare the files:

Please read carefully and prepare your files (especially the manuscript file) as instructed here. The manuscript that does not follow the format, will be returned to the author before undergoing any screening or review process.

The Cover Letter

A cover letter is a simple letter to the editor with the corresponding author's signature. The cover letter contains two parts: 1) A statement that the work has not been published or is currently under review for publication in another journal, and 2) A very brief (not more than three sentences) explanation of the significance and novelty of the work and the problem that is being addressed.

The Manuscript

Your manuscript is a single file (a text file with embedded figures, tables etc.). You may either prepare your manuscript using a word processing program and save it as a .doc or .rtf file, remembering to insert your figures and tables into the document.

A typical manuscript includes the following items:

1. Title page (including title, author's name, author's affiliation, address and contact info, all disclosure and support statements).
2. Abstract.
3. Keywords (at least 3 to 10 keywords).
4. The body of the manuscript with headings of Introduction, Material and Methods, Results, and Discussion.

5. References.
6. Acknowledgments (if needed).
7. Tables (each table on a separate page).
8. Figures (each figure on a separate page).

You can download the manuscript template "[Template-APJCP.docs](#)" file as a guide.

Title Page

The following items are required on the title page:

- Manuscript title.
- Running title: A short version of the title (up to 40 characters including spaces).
- Each author's name, academic degrees, and affiliation.
- Complete mailing address, telephone, fax, and e-mail for corresponding authors.
- Any disclosure (conflict of interest disclosure).

Abstract:

A Research Article, Systematic Review and Meta-analysis, Methodological Paper, and Case Series, must each contain a structured abstract of approximately 300 words. The structured abstract must have four specified subtitles: Background, Methods, Results, and Conclusion(s). Abstracts are not required for Editorials, Commentaries, Short Communications, or Correspondence.

Keywords:

Three to 10 keywords or terms to be used as index terms. Use terms from the medical subject headings list of nlm.nih.gov/mesh. The keywords are listed after the abstract on the same page.

The body of the manuscript:

The body of the manuscript should be divided into four sections: (*Introduction, Material and Methods, Results, and Discussion*). The *Materials and Methods* and *Results* section can have sub-headings based on author's choice (no subheading for *Introduction* and *Discussion*). The section headings and sub-headings should be typed on a separate line. While the body does not contain a conclusion heading, the last paragraph of the discussion will state the study's conclusion.

References:

It is very important to cite the references according to the journal rules and format. A manuscript that does not follow the reference citation of the journal,

will be returned to the author before undergoing any review or initial screening. References citations must be provided as follows:

Citation in the text:

Rule # 1) If you report the name of the author in the text, cite as “Yellow (2000)”. For example; **As Yellow (2000) reported in his previous work** — please note that just the LAST NAME of the first author is used.

Rule # 2) If the name of the author is not part of the text, follow these rules:

1. References with one author should be cited as (Last name, year) such as **“It has been reported (Yellow, 2000)”**.
2. References with two authors should be cited in the text as (Last name of the first author and last name of the second author followed by a comma and then the year, such as **(Brown and Pink, 2000)**. Please note that the LAST NAMES of both authors are used.
3. References with more than two authors should be cited in the text as (last name of the first author with et al., followed by a comma and then the year) such as **(Black et al., 2000)**. Please note that only the LAST NAMES are used — no initial(s) or first name.

If more than one reference is used for the same data or information, the references should be chronologically listed and separated by a semicolon such as **(Yellow et al., 1995; Red et al., 2010)**. Rule # 2 applies to references between semi-colons, separated by semi-colons.

In the reference list:

Rule # 1) List references in alphabetical order of the first author’s last name (surname).

Rule # 2) If two or more references have the same author, the list should be organized based on author’s name and year of publication (references of the same author must be listed sequentially with the earlier publication listed first).

Rule # 3) Provide the names of **all authors** if there are 5 or fewer authors.

Rule # 4) If there are more than 5 authors, provide the names of the first three authors, followed by **et al.**,

Rule # 5) In writing the names of the authors, the rule is to use the last name and then the initials for the first and/or middle names. No period or space between the initials: For example, (Blue AB, Pink B, Green CJ, et al (2000).

Rule # 6) The volume number has to be in boldface.

Rule # 7) in writing the name of the journal, the rule is to use the standard abbreviation of the Journal’s name. You can download an Excel file that

contains abbreviation for many journals so that you can check if you have the right abbreviation for the journals' name.

For Journals: Author's name according to the reference list rules 1 to 5, then TITLE followed by YEAR inside the parenthesis, followed by the standard abbreviation of the journal name, volume number (in bold), followed by starting page, then – ending page. The ending page should be just the last digit: 322-24 or 322-324 is wrong — 322-4 is the correct use in this case.

An example for Journal: Blue A, Pink B, Green C, et al (2000). TITLE. Asian Pac J Cancer Prev, **Volume**, 322-4.

For Books: The same formatting rules for name and page numbering. A book reference should include (Authors, book title, chapter title, publisher's name and address, and page number).

An example for a book: Brown A, Pink B, Black CD, et al (2000). Cancer Prevention. In 'Neoplasia', Eds Blue D and Red E. Asian Pacific Education Press, Bangkok pp 1-10 Numbers 322-4

Important notice: We encourage authors to use a reference management system, and develop or obtain a journal style, and then format the references. You can find EndNote style for the journal by clicking here.

Try not to use references that are not standard or references that are not registered in international registration systems such as non-English publications that do not provide an English citation format.

Acknowledgment section:

A manuscript may include an “Acknowledgment” section. The acknowledgment section should be on a separate page after the references section. In this section, authors acknowledge all contributions from other persons, funding agencies, and any individual or organization who have contributed to the research that was done, or in the compilation of the manuscript, etc.

Tables:

Tables should be formatted as single-spaced on separate pages in the word processing program. The following guidelines need to be adhered to in preparing tables:

- Tables imported into the word-processing program from spreadsheet programs (e.g., Microsoft Excel), should be left in table format and not converted to text. Gridlines should be retained and the spreadsheet file should be provided as well).
- Do not embed tables as a graphics file.
- Limit the number of tables to three and try to avoid redundancy of findings in different tables.

- Cite all tables in the text. Number tables consecutively, using Arabic numerals, in the order cited in the text. The table number is followed by a brief descriptive title.
- Include table number, “continued,” and table sub-headings on each page if a table exceeds one manuscript page.
- Define all abbreviations used in the table in footnotes to the table.
- Obtain written permission to reproduce the previously published tabular material. Credits for the reproduced work are included as a footnote to the table and must include author(s), title, either publisher and city/country, or periodical name, volume, page, and year. Signed permission forms must be sent to the Editorial Office upon acceptance.

Figures:

The following guidelines need to be adhered to in preparing figures and legends:

- Submit only publication quality high-resolution figures.
- The following resolutions are required: 1200 dpi for line art; 300 dpi for halftones/color (RGB); 600 dpi for combination halftones/color.
- Figures should be sized to either one-column width (19 picas, 3.25 inches), or two-column width (40 picas, 6.75 inches), as appropriate.
- Figures must be numbered in the text. Number all figures sequentially with Arabic numerals in the order cited in the text.
- Provide double-spaced legends on a separate page to include the figure number and a brief description of the figure.
- For typeface within figures, use 6-pt to 12-pt Times or Times New Roman font.
- Figures with multiple parts should be labeled and referred to as (a), (b), (c), etc.
- Obtain written permission to reproduce previously published figures. Credits for the reproduced work are included in the figure legend and must include author(s), title, either publisher' city, and country or periodical name, volume, page, and year. Signed permission forms must be sent to the *APJCP* Editorial Office upon submission.
- Embed each figure in a Microsoft PowerPoint slide and upload as a separate file.
- Mask any patient identification in photographs; otherwise, a signed permission statement is required.

Supplement and Supporting Data(SSD)

Supplement and supporting data (SSD) will be published and uploaded as a linkable file in the online version of the article. SSD is mentioned in the article text and published online in its original format, along with the article. SSD will undergo peer review with the rest of the manuscript, but will not be copy-edited or changed from its original format. It must be relevant, but not integral to the paper. It may contain additional tables, data sets, figures, movie files, audio clips, 3D structures, and other related nonessential multimedia files. Like the

manuscript accompanying it, it should be original and not previously published. If previously published, it must be submitted with the necessary permissions.

PRIVACY STATEMENT

The names and email addresses entered into this journal site will be used exclusively for the stated purposes of this journal, and will not be made available for any other purpose or to any other party.

To submit your paper, You need to **register** first then submit your paper.