



FMUC FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

FILIPE JORGE PENCAS ALFAIATE

***Orientação das lesões intraepiteliais cervicais de alto grau na
gravidez***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE GINECOLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROFESSORA DOUTORA MARIA MARGARIDA DE OLIVEIRA FIGUEIREDO DIAS

DR^a TERESA MARIA REBELO FERREIRA

NOVEMBRO/2018

ORIENTAÇÃO DAS LESÕES INTRAEPITELIAIS CERVICAIS DE ALTO GRAU NA GRAVIDEZ

Artigo de Revisão

Filipe Jorge Pencas Alfaiate¹

¹ Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

¹ (filipe.alfaiate19@gmail.com)

Orientadora: Professora Doutora Maria Margarida de Oliveira Figueiredo Dias, Professora Auxiliar com Agregação da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra e Diretora da Clínica Universitária de Ginecologia.

Co-Orientadora: Dr^a Teresa Maria Rebelo Ferreira, Assistente da Unidade Curricular de Ginecologia-Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.

Trabalho final do 6.º ano médico com vista à atribuição do grau de mestre no âmbito do ciclo de estudos do Mestrado Integrado em Medicina.

Área científica: Ginecologia

Novembro de 2018 | Coimbra

Resumo

Introdução: O cancro do colo do útero é uma das neoplasias mais frequentemente diagnosticadas durante a gravidez. Esta tem-se mostrado como um momento conveniente para a realização do rastreio, na medida em que a mulher pode ainda não o ter realizado e as lesões intraepiteliais cervicais de alto grau (HSIL) apresentam um pico de incidência em simultâneo à idade reprodutiva. Diversos fatores fisiológicos intrínsecos à gravidez, como alterações no colo do útero e imunossupressão local, tornam difícil a interpretação da citologia e colposcopia, assim como aumentam a possibilidade do risco de evolução das lesões.

Objetivos: Este trabalho tem como objetivo definir quais os aspetos clínicos mais significativos para orientação de lesões HSIL durante a gravidez.

Metodologia: Foi realizada uma pesquisa de artigos científicos na “PubMed”, publicados entre 2008 e 2018, com os termos MeSH: “Cervical intraepithelial neoplasia”, “Pregnancy outcome”, “Squamous intraepithelial lesions of the cervix”.

Resultados: O diagnóstico precoce de HSIL na gravidez é de extrema importância, pois pode evitar a progressão para doença invasiva. A utilização combinada do uso de biomarcadores (e.g. Ki-67, p16, e glicodelina), juntamente com exames de citologia, genotipagem do HPV e colposcopia, permite um diagnóstico mais preciso, com implicações no controlo destas lesões. Na pesquisa científica realizada está descrita a comparação entre as várias técnicas excisionais e destrutivas, tendo em conta a idade da grávida, profundidade da excisão e complicações da gravidez.

Conclusões: O diagnóstico e terapêutica de lesões HSIL durante a gravidez a ser motivo de discussão. Apesar de alguns estudos sugerirem que os procedimentos excisionais são seguros, principalmente no primeiro trimestre da gravidez, a maioria refere que um eventual tratamento pode ser diferido para o pós-parto. Esta opinião, mais consensual, é baseada na elevada taxa de regressão deste tipo de lesões e nas complicações que decorrem durante a gravidez, resultantes da realização de técnicas excisionais.

Palavras-chave

Gravidez, Neoplasia cervical intraepitelial, Lesões intraepiteliais cervicais de alto grau

Abstract

Introduction: Cervical cancer is one of the most frequently diagnosed neoplasms during pregnancy. This has been shown to be a convenient time to perform the screening, in so far as the woman has not yet performed it, and high-grade cervical intraepithelial lesions (HSIL) have a peak incidence at the same time as reproductive age. Several physiological factors intrinsic to pregnancy, such as changes in the cervix and local immunosuppression, make it difficult to interpret cytology and colposcopy, as well as increase the possibility of progression of the lesion.

Objectives: The aim of this study is to define the most significant clinical aspects concerning the management of HSIL lesions during pregnancy.

Methods: A review of scientific articles in PubMed, published between 2008 and 2018, was performed using the follow MeSH terms: Cervical intraepithelial neoplasia, Pregnancy outcome, Squamous intraepithelial lesions of the cervix.

Results: Early diagnosis of HSIL in pregnancy is extremely important as it may prevent progression to invasive disease. The combined use of biomarkers (eg Ki-67, p16, and glycodelin), together with cytology, HPV genotyping and colposcopy, allows a more accurate diagnosis, with implications for the control of these lesions. The scientific research carried out describes the comparison between the various excisional and destructives techniques, considering the age of the pregnant woman, depth of excision and complications of pregnancy.

Conclusions: The diagnosis and treatment of HSIL lesions remains a major subject if clinical discussion. Although some studies suggest that excisional procedures are safe, especially in the first trimester of pregnancy, the majority agree that any treatment may be delayed postpartum. This main consensual view is based on the high rate of regression of this type of lesions and the complications that occur during pregnancy when performing excisional techniques.

Keywords

Cervical intraepithelial neoplasia, Pregnancy outcome, Squamous intraepithelial lesions of the cervix

Índice

Resumo.....	2
<i>Abstract</i>	3
Lista de Abreviaturas e Siglas	5
1. Introdução	6
2. Materiais e Métodos	8
3. Classificação citológica e histológica das lesões pré-malignas do colo do útero	9
4. Etiologia e fatores de risco para o aparecimento de HSIL	10
5. O colo do útero na mulher grávida.....	13
6. Rastreamento e diagnóstico de HSIL	14
7. Tratamento de HSIL	18
8. Follow-up.	21
9. Conclusão	22
Agradecimentos	24
Referências bibliográficas	25

Lista de Abreviaturas e Siglas

ASC-H – Atipia de Células Escamosas de significado indeterminado sem excluir lesão de Alto grau

ASC-US – Atipia de Células Escamosas de Significado Indeterminado

BPN – Baixo Peso ao Nascimento

BEZT – Biópsia Excisional da Zona de Transformação

CCU – Cancro do Colo do Útero

CKC – Conização Cervical a Frio

CIN – Neoplasia Intraepitelial Cervical

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

E – Early

hCG – Gonadotrofina coriônica humana

HIV – Vírus Imunodeficiência Humana

HPV – Vírus do Papiloma Humano

HSIL – Lesão Intraepitelial de Alto Grau

L – Late

LAST – Lower Anogenital Squamous Terminology

LLETZ – Excisão Alargada da Zona de Transformação

LEEP – Excisão Eletrocirúrgica por Ansa Diatérmica

LSIL – Lesão intraepitelial de Baixo Grau

MCM – *Minichromosome Maintenance Protein*

MHC – Complexo *Major* de Histocompatibilidade

NETZ – Excisão com Agulha da Zona de Transformação

NILM – Lesão Intraepitelial ou Neoplasia Maligna

PPT – Parto Pré-Termo

RPM – Rotura Precoce de Membranas

TRL – *Toll-like receptor*

ZT – Zona de Transformação

1. Introdução

O cancro do colo do útero (CCU) tem sido alvo de vários estudos, na medida em que é o segundo cancro mais frequente em mulheres. (1) Em Portugal, a mortalidade tem vindo a apresentar a uma taxa decrescente, cerca de 2,4/100,000 mulheres em 2017, acompanhada da diminuição da sua incidência, com valores de 10,4/100,000 mulheres em 2010. (2,3)

Atualmente, sabe-se que aproximadamente 100% dos casos de CCU estão relacionados com a infeção pelo Vírus do Papiloma Humano (HPV), sendo este, portanto, um dos seus grandes fatores de risco. (4) Assim, a prevenção deste tipo de cancro tem como base a identificação e rastreio de lesões precursoras que antecedem a doença invasiva. (5) A classificação ou sistema de *Bethesda* é utilizada em Portugal para classificar as alterações citológicas causadas pelo HPV. Destas, foram destacadas para este trabalho as anomalias das células pavimentosas cervicais, nomeadamente, as lesões intraepiteliais cervicais de alto grau (HSIL) e o carcinoma *in situ*. (6)

Em relação ao rastreio organizado, que abrange cerca de 76% da população em Portugal, realiza-se entre os 25 e os 64 anos, através de citologia em meio líquido, de 3 em 3 anos usando-se o procedimento de colheita com *cervex-brush*, ou teste de genotipagem do HPV. (2,7,8)

Para além da janela temporal anteriormente indicada, a gravidez tem-se mostrado como um momento oportuno para a realização do rastreio, sendo que a incidência de citologia cervical anormal durante a gravidez é tão elevada quanto a descrita em mulheres não grávidas, visto que cerca de 1% da população de mulheres grávidas examinadas anualmente é diagnosticada com lesões cervicais de vários graus. (9) Durante a gravidez vários fatores fisiológicos tais como aumento do volume cervical, edema estromal, hiperplasia glandular, reação decidual e o aumento da produção de muco por estimulação hormonal, tornam difícil a interpretação da citologia e de outros procedimentos como a colposcopia. (10)

Com o diagnóstico, e tendo em conta fatores como o grau da lesão, idade gestacional, a idade da mulher, o serotipo do HPV envolvido, e modo de parto e acesso aos cuidados de saúde, o tratamento poderá acarretar riscos acrescidos tanto para a grávida, como para o embrião/feto. A salientar que os procedimentos que envolvem mais riscos são os procedimentos excisionais *major*, como excisão a laser e procedimento de excisão eletrocirúrgica com ansa. (11) No entanto, é de assinalar a baixa taxa de conversão de lesões cervicais em cancro invasivo, situando-se esta entre 2,7% a 9,7%. (12)

Existem, então, múltiplos fatores envolvidos nesta problemática que poderão dificultar o diagnóstico e tratamento, sendo de extrema importância a sua clarificação no sentido de um tratamento mais individualizado e com o menor risco possível tanto para a grávida como para o embrião/feto. Pretende-se, com este artigo de revisão, definir quais os aspetos significativos na orientação e diagnóstico de HSIL nos diferentes períodos da gravidez, tendo em conta a sua etiologia, métodos de diagnóstico e terapêutica.

2. Materiais e métodos

Para este artigo revisão foi executada uma pesquisa na base de dados eletrónica *PubMed* e *Clinical Key*, com a finalidade de identificar todos os artigos científicos e de revisão publicados entre os anos de 2008 e 2018, de língua inglesa, espanhola e portuguesa e realizados na espécie humana. Foram utilizados os seguintes termos *MeSH*: “*Cervical Intraepithelial Neoplasia*”, “*Pregnancy*”, “*Pregnancy outcome*”, e “*Squamous Intraepithelial Lesions of the Cervix*”. Todos os artigos de interesse foram analisados, assim como as referências destes mesmos artigos que evidenciaram relevância para o cumprimento dos objetivos deste artigo de revisão. Dos 57 artigos selecionados, foram excluídos 21. Para fundamentação da tese, nomeadamente etiologia, alterações do colo do útero na gravidez e diagnóstico, foram pesquisados artigos e livros que evidenciaram relevância, tendo sido selecionados um total de 78 referências bibliográficas.

Os artigos excluídos incluíam estudos realizados em mulheres que apresentavam o diagnóstico de lesão intraepitelial cervical de alto grau antes ou depois da gravidez, assunto de extrema importância, mas que não satisfazia os critérios de inclusão para a realização deste artigo de revisão.

Consultou-se o website da OMS e da Direção Geral de Saúde.

3. Classificação citológica e histológica das lesões pré-malignas do colo do útero

Para classificar as lesões pré-malignas do colo do útero existem várias nomenclaturas. A nível citológico, dentro das lesões de células escamosas, o Sistema de *Bethesda* classifica como atipia de células escamosas de significado indeterminado (ASC-US), atipia de células escamosas de significado indeterminado sem excluir lesão de alto grau (ASC-H), lesão intraepitelial de baixo grau (LSIL), lesão intraepitelial de alto grau (HSIL) e carcinoma espino-celular. (13)

A classificação histológica foi usada na classificação das neoplasias intraepiteliais cervicais (CIN). CIN1 representou a displasia ligeira e evidência citológica de infeção por HPV (atipia coilocítica) (14); CIN2 displasia moderada; CIN3 englobou a displasia grave e carcinoma *in situ*. Em 2012 surgiu a nomenclatura LAST (Lower Anogenital Squamous Terminology) que se baseia na marcação p16, gene supressor tumoral celular como biomarcador de disrupção do HPV na via do Rb, para classificar o CIN2. As lesões CIN2 p16-negativo em conjunto com CIN1 englobam as LSIL, um sinal histológico de infeção pelo HPV. Por outro lado, CIN2 p16-positivo juntamente com o CIN3 formam as HSIL. (13, 15)

4. Etiologia e fatores de risco para o aparecimento de HSIL

Atualmente, está bem definido que o HPV é a causa do aparecimento de cerca de 100% dos casos de CCU. (4) O HPV é um vírus, sem invólucro, composto por DNA de dupla cadeia. (16) Este DNA é composto por 3 regiões: uma região precoce, uma região tardia e uma região de controlo, situando-se esta última entre as anteriores de modo a controlar a transcrição génica e replicação viral. (16) A região precoce (E – *early*), com expressão génica numa fase inicial da replicação viral, é composta por 6 genes: E1, E2, E4, E5, E6 e E7, dos quais se destacam E5, E6 e E7. Estes ao sofrerem mutações, permitem que, por um lado, a célula infetada não seja destruída e, por outro, a manutenção contínua do ciclo celular, levando ao processo de oncogénese. (16) A região tardia (L – *late*) tem genes, L1 e L2, que codificam proteínas essenciais à conformação do vírus, nomeadamente da cápside viral. Dos 5 géneros de HPV conhecidos destacam-se o alfa papilomavirus, que infeta o epitélio das mucosas. (16, 17)

Há mais de 100 subtipos de HPV conhecidos, dos quais cerca de 40 estão relacionados com a infeção anogenital, podendo dividir-se em HPV de alto ou baixo risco, consoante a sua associação com o cancro. (17) Os subtipos de baixo risco, como o 6 e o 11, causam lesões de baixo grau (CIN1) e verrugas condilomatosas genitais benignas. Já os subtipos de alto risco, como o 16 e 18, são usualmente associados a lesões de alto grau (CIN 2/3). Os subtipos 26, 53 e 66 são considerados, por alguns autores, como subtipos de risco intermédio (18,19)

A transmissão do HPV faz-se por via sexual. Este vírus infeta as células do colo do útero, nomeadamente as do epitélio escamoso estratificado. (18) O colo do útero corresponde à parte mais inferior do útero, podendo ser dividido em endocolo e exocolo. A nível histológico é constituído por um epitélio colunar, designado de endocolo, e um escamoso não queratinizado, designado de exocolo. (19)

A região de junção dos dois tipos de epitélio é designada de junção escamosa-colunar. A sua localização, em relação ao orifício externo, varia com idade, estado menstrual, gravidez, entre outros, sendo semelhante na vida intrauterina à da perimenarca, puberdade e início do período reprodutivo. Nesta fase é designada de junção escamo-colunar original. (19, 20) Durante a puberdade e período reprodutivo ocorre o crescimento do colo do útero sob a influência dos estrogénios. Com um aumento da acidez do meio, origina-se a zona de transformação (ZT). (20) Esta é de grande importância clínica visto que é bastante vulnerável às alterações oncogénicas. (21)

As células do colo do útero variam de tamanho e forma consoante idade, *status* hormonal e número de filhos (paridade). (20) A infecção deste pelo HPV pode ou não resultar em lesões neoplásicas. A maioria das infecções são transitórias, indicando que o sistema imune é capaz de erradicar o vírus, não existindo um processo de oncogénese. (20)

Há vários fatores de risco que aumentam o aparecimento de HSIL, como comportamentos sexuais de risco, por exemplo início da atividade sexual antes dos 20 anos e múltiplos parceiros; tabagismo; imunodepressão em mulheres com o vírus da imunodeficiência humana (HIV), transplantadas ou com história de linfoma de Hodgkin; multiparidade; e baixa adesão aos rastreios. (20)

Tanto a atividade sexual antes dos 20 anos, nomeadamente sem proteção, como múltiplos parceiros sexuais, acarretam o aumento do risco de infecção por HPV. (14)

Em relação ao tabaco, tem sido demonstrado que existe associação entre o tabagismo e o CCU, havendo uma duplicação do risco de desenvolver CIN3/Cis. (22) Há estudos que evidenciam que o aparecimento de lesões pré-malignas é mais comum entre fumadoras do que em não fumadoras. (23) Também está identificado na literatura que alguns compostos carcinogénicos derivados da nicotina estão presentes no muco cervical de mulheres fumadoras. (24) Estes têm um efeito imunossupressor no epitélio das células do colo do útero, promovendo, assim, a oncogénese. A diminuição das células de *Langerhans* e dos linfócitos T CD4+ na zona de transformação do colo do útero, poderá levar a uma resposta menos intensa pelas células T promovendo a persistência da infecção. (25, 26)

Está também documentado que existe um aumento do risco de lesões pré-malignas e CCU em mulheres grávidas com HIV, doenças autoimunes ou transplantadas de órgãos, principalmente se tratadas com imunossupressores, não tendo a capacidade de eliminar a infecção pelo HPV. (27, 28, 29)

Para entender a resposta imune, que está associada à infecção por HPV, é necessário salientar: o HPV é um vírus não lítico, isto é, não provoca a morte de células hospedeiras. (30) A libertação de partículas virais ocorre durante a apoptose dos queratinócitos, aquando da sua descamação. (30) Inicialmente, a quantidade de vírus e suas proteínas não são suficientes para a sua deteção pelos queratinócitos parabasais do hospedeiro, apenas em fases posteriores da infecção por HPV, começando aqui a produção de citocinas pró-inflamatórias que ativam as células apresentadoras de antígenos. (30) A salientar que as oncoproteínas do HPV têm mecanismos moleculares que facilitam o seu não reconhecimento pelo sistema imune, havendo uma redução de células de *Langerhans*, inibição do complexo *major* de histocompatibilidade (MHC) tipo 1 e alteração da expressão TLR-9. (30) A infecção

genital persistente por HPV tem sido associada a uma resposta específica por células T CD4+ e CD8+ relacionada com a regressão espontânea da doença cervical. (31)

Numa mulher grávida, a imunossupressão local no colo do útero, permite um ambiente mais permissivo à transformação neoplásica induzida pelo HPV. (29, 32) Durante este período, hormonas como estradiol, progesterona e a gonadotrofina coriónica humana (hCG) são conhecidas por conferirem capacidade de imunossupressão às células imunes e inatas. (32) Também são responsáveis pela eversão do epitélio colunar para o exocolo – ectrópion – o que expõe a junção escamo-colunar, mantendo-se a ZT no exocolo, facilitando a exposição direta ao HPV. (32) Os estrogénios poderão também estimular a expressão dos genes do HPV, influenciando a resposta imune cervical e estimular a proliferação celular da zona de transformação. (32)

5. O colo do útero na mulher grávida

Como referido anteriormente, o colo do útero é constituído por endocolo, exocolo e zona de transformação (ZT). Com uma forma cilíndrica, possui aberturas em cada extremidade - orifício interno e externo - conectadas pelo canal endocervical. (20) Tendo em conta as grandes transformações que se verificam no corpo da mulher durante a gravidez, importa conhecer detalhadamente as modificações no colo do útero neste período.

A superfície cervical que circunda o orifício externo denomina-se exocolo e é revestida, maioritariamente, por epitélio escamoso estratificado não queratinizado. Por sua vez, o canal endocervical é coberto por uma camada única de epitélio colunar, composto por glândulas secretoras de mucina. (33)

Durante a gravidez, ocorre uma eversão do epitélio endocervical colunar para o exocolo – ectrópion. (27) Este tecido aparece com tonalidade avermelhado e aveludado, sangrando com pequenos traumas, como pode ocorrer no procedimento de colheita com *cervex-brush*. (33)

O estroma cervical é composto principalmente, por colagénio, elastina e proteoglicanos, bem como algum músculo liso. (33) No início da gravidez, associado a alterações na rede de colagénio devido à variação hormonal, ocorre a hipertrofia e hiperplasia das glândulas cervicais. Com o aumento da vascularização do estroma do colo do útero, este ganha uma tonalidade azul (sinal de *Chadwick*). (34) Há que a realçar, também, o sinal de *Goodell* associado ao edema cervical. (33)

Embora o colo do útero possua uma pequena quantidade de músculo liso, o seu principal componente é tecido conjuntivo. (33) Ao longo da gravidez, a maturação cervical envolve a remodelação do tecido conjuntivo, que reduz as concentrações de colagénio e proteoglicano, e eleva o conteúdo de água. (33) As glândulas do colo do útero sofrem proliferação acentuada e, no final da gravidez, ocupam até metade de toda a região cervical. (34)

Histologicamente, as células basais perto da ZT podem, também, sofrer alterações, nomeadamente em relação ao seu tamanho, forma e qualidade de coloração. Essas alterações são induzidas pelo estrogénio. (35) Além disso, a gravidez está associada a modificações do epitélio do endométrio em que se verificam hiperplasia glandular e hiperpigmentação nuclear e vacuolização do citoplasma, relacionados com a presença de tecido coriónico (reação *Arias Stella*). Deste modo, pode ser difícil determinar quais as células precursoras de doença microinvasiva ou invasiva. (35)

6. Rastreo e diagnóstico de HSIL

O diagnóstico de lesões no colo do útero está bem definido nas diferentes normas ou orientações clínicas existentes. Sabendo a etiologia destas lesões, já descrita neste trabalho, e tendo em conta que a incidência do CCU na gravidez é baixa (menos 5/100,000), a sua prevenção pode ser feita através de vacinação (prevenção primária) e realização do teste rastreio (prevenção secundária). (36)

O teste de rastreio, atualmente, é realizado com citologia em meio líquido, onde poderá ser usado o teste HPV em casos de suspeita de lesão pré-maligna. (37, 38) De salientar que o teste HPV tem revelado uma sensibilidade superior à citologia (8 a 30%), mas uma especificidade inferior (4 a 12%) na deteção de lesões de alto grau. (39) A combinação do teste HPV com a citologia em meio líquido revela uma sensibilidade ligeiramente superior em relação ao uso isolado de qualquer dos dois exames. (39) No entanto, muitos autores consideram que a ligeira melhoria na sensibilidade, obtida ao utilizar os dois testes em conjunto, não é suficiente para o seu uso em rastreios organizados, uma vez que aumenta os custos e não há uma evidente redução da incidência e mortalidade do CCU. (40) É muito pouco provável que uma mulher com teste HPV e citologia negativos venha a apresentar qualquer lesão de alto grau ou cancro nos 5 a 10 anos seguintes. (41)

Os rastreios podem ser efetuados de duas formas: de um modo organizado e de um modo oportunista. O rastreio organizado é realizado a todas as mulheres, a partir dos 25 anos até aos 64 anos, de 3 em 3 anos. Com a introdução da vacinação, o teste de rastreio preferencial é o teste HPV, com início aos 25 anos e uma periodicidade mínima de 5 anos, no caso de testes negativos, visto que a citologia perde especificidade. (39, 42) Por outro lado, o rastreio oportunista pode ser realizado caso a mulher queira engravidar ou já durante a gravidez. (39) O rastreio citológico numa mulher grávida está indicado na ausência de rastreio prévio adequado. (39)

No caso de aparecimento de lesão pré-maligna é necessário ter em consideração a sensibilidade e especificidade do método de rastreio que é usado, a idade da mulher, a história clínica e os resultados dos exames citológicos, teste HPV e dos diagnósticos histológicos. De assinalar que a maioria da sintomatologia associada é autolimitada e pode ser interpretada como estando relacionada com a gravidez. (43)

Se o clínico estiver perante uma citologia em meio líquido ou teste HPV sugestivos de lesão pré-maligna ou doença invasiva, deve ser realizada a colposcopia. Este método permite observar as células do colo do útero, sendo essencial para diferenciar as lesões suspeitas. Como foi referido anteriormente, há alterações no cérvix, durante a gravidez, que podem

dificultar o diagnóstico destas lesões. (33) No caso de suspeita de lesão invasiva é adequado efetuar biópsia numa mulher grávida. (44, 45) É de assinalar que a colposcopia e a biópsia cervical devem ser realizadas por colposcopistas com experiência na observação de alterações cervicais associadas à gravidez. (45, 46) Na realização das técnicas referidas, nomeadamente na biópsia cervical, há um risco significativo de hemorragia, pelo que o clínico deverá estar preparado para este tipo de complicações. (46) A realização de biópsias repetidas ao longo da gravidez não é aconselhável, a menos que numa nova citologia ou colposcopia sugira a progressão para doença invasiva. (46)

Para além das técnicas já descritas, como a citologia em meio líquido, o teste HPV e a colposcopia, têm surgido nos últimos anos estudos com novos marcadores que permitem complementar o estudo deste tipo de lesões. De assinalar que os testes de HPV determinam a presença ou ausência de partículas de vírus. No entanto, os biomarcadores determinam a atividade viral nas células, como a produção de proteínas virais, sendo que essa atividade reflete o risco de progressão para CCU. Estes marcadores incluem proteínas de HPV (E6 e E7), marcadores substitutos (por exemplo a glicodelina) e outros, como Ki-67 e p16, realizados aquando da citologia. (47)

O Ki-67 é uma proteína não histónica, resultante da expressão génica de 15 exões localizados no cromossoma 10. (48) A sua expressão é usada para avaliar a fração de crescimento de uma população de células. O p16 é uma proteína celular codificada por um gene no cromossoma 9p21. (48) No CCU, a expressão do p16 está correlacionada com o aumento da expressão das proteínas oncogénicas E6/E7 do HPV. (48) A expressão intensa do Ki-67 e p16 tem sido evidenciada como indicadora de significado clínico útil, refletindo a gravidade das lesões cervicais causadas pelo HPV aquando de infeções e severidade de lesões cervicais. (48)

Num estudo comparativo entre mulheres grávidas com CIN e mulheres não grávidas com CIN, foi demonstrada uma menor positividade para os marcadores p16 e Ki-67 no grupo de mulheres grávidas. (48) A modulação da expressão de p16 e Ki-67 pode ser atribuída ao aumento dos níveis de progesterona, a hormona essencial à gravidez. Esta influencia os níveis de expressão génica de proteases, fatores de transcrição, moléculas de adesão celular, moduladores das atividades vasculares e reguladores da inflamação. (48) Assim, estes dados demonstram que nas mulheres grávidas poderá existir um comportamento biológico menos agressivo de lesões pré-malignas, do que em mulheres não grávidas, apoiando a estratégia de vigilância das lesões durante a gravidez e tratamento pós-parto. (48)

Para além da influência no Ki-67 e p16, também a progesterona tem uma ação moduladora na glicodelina. (49) Além do efeito estimulador clássico da hCG trofoblástica na secreção de progesterona pelo corpo lúteo, a hCG possui recetores no endométrio e endocolo, onde estimula a secreção de glicodelina. (49) Num estudo citológico comparativo com o Ki-67, onde a sua superexpressão provou ser um indicador útil de infeções clínicas significativas e da gravidade de CIN, demonstrou-se uma relação inversa significativa em relação à coloração com glicodelina, em particular, na gravidez. (48,49) Níveis elevados de glicodelina foram associados a uma menor expressão de Ki-67, e nunca foram encontrados em lesões intraepiteliais de alto grau. (49) Deste modo, reforça-se a hipótese da glicodelina como biomarcador de melhor prognóstico das lesões pré-malignas na gravidez, na medida em que níveis elevados deste marcador não foram encontrados em lesões CIN3. (49).

As proteínas virais E6 e E7 são expressas nas camadas inferiores do epitélio e refletem o início do ciclo celular. (47) As células basais proliferam e o número de cópias virais aumenta. Marcadores como o MCM (*Minichromosome Maintenance Protein*) e Ki-67 são doseáveis e refletem a presença das proteínas virais já referidas. Há proteínas que são também mensuráveis, como a E4. (47, 50) Apesar de não fazer parte da partícula viral, está presente em grandes quantidades durante o ciclo celular normal. (47) No caso de HSIL, o padrão de MCM, p16 e E4 pode ajudar a uma estratificação mais concisa da lesão. (50) Portanto, se E4 estiver ausente e p16 fortemente presente em toda a espessura do epitélio, apoia a hipótese de um CIN3, que morfologicamente poderia ser considerado um CIN2. (47)

Pode-se concluir que o Ki-67 e p16 são marcadores que poderão ser utilizados na interpretação de uma citologia para o diagnóstico de lesões pré-malignas. Devido às modificações hormonais na gravidez, a junção da glicodelina aos marcadores referidos anteriormente, parece ser um biomarcador bastante promissor no apoio diagnóstico de lesões pré-malignas.

Após diagnóstico definido, o clínico tem que ponderar a terapêutica que deve instituir. Nas referências bibliográficas é afirmado que progressão para carcinoma invasivo é bastante rara, podendo ocorrer até aos 0,4%. A maioria das lesões regride, provavelmente, devido ao trauma do parto vaginal e alterações isquémicas transitórias no epitélio cervical, com posterior ativação de inflamação e mecanismos de reparação. (29, 37, 42, 44, 48, 49) Como o risco de progressão das lesões de CIN3 para cancro é muito baixo nas grávidas, essas lesões poderão não representar risco nem para o feto nem para a mulher. (37, 50) No caso de lesões CIN2+, a taxa de regressão é elevada, registando valores entre os 48 a 70%. (37) De salientar, que o tipo de parto poderá afetar a possibilidade de regressão, sendo uma questão que deverá ser estudada no futuro. (50)

Contudo, em estudos mais recentes, os valores de risco de progressão para doença microinvasiva têm vindo a aumentar, rondando os 10%-13%. (51) Assim, e de seguida nesta revisão, é apresentado o tópico relativo à terapêutica de lesões CIN2/CIN3, com discussão das suas vantagens e desvantagens na gravidez.

7. Tratamento de HSIL

Após o diagnóstico de lesões de alto grau pela citologia e colposcopia, e se suspeita de doença microinvasiva, deve ser executada a biópsia. (52)

A finalidade terapêutica das lesões pré-malignas é a interrupção da sua progressão para doença invasiva. (37) Esta pode ser executada de várias formas: excisão da lesão, por técnicas excisionais, destrutivas, ou apenas mantendo uma vigilância da lesão espaçada no tempo. (52)

Com o objetivo diagnóstico e terapêutico, as técnicas excisionais existentes visam a excisão da ZT. Podem ser executadas das seguintes formas: excisão alargada da ZT (LLETZ), procedimento de eletrocirurgia excisional por ansa diatérmica (LEEP), conização cervical a frio (CKC), excisão por laser e excisão com agulha da ZT (NETZ). (52) A LLETZ consiste na excisão do tecido do cérvix realizado com uma ansa diatérmica. A ansa penetra no tecido e, utilizando calor de origem elétrica, promove a excisão da lesão. (37, 52) Na CKC, o tecido é removido usando um bisturi e a excisão é feita em forma de cone. (37, 52) Na excisão por laser, um laser de dióxido de carbono (CO₂) programado para o modo corte, é utilizado para remover o tecido do cérvix com a lesão. (37, 52) Na técnica NETZ a ZT é excisada com uma agulha diatérmica. (37, 52) A excisão da ZT deve ser em cone ou cilindro, em peça única, e que inclua toda a lesão bem referenciada, com margens livres. (37)

Já os métodos destrutivos são usados unicamente com forma terapêutica, onde há a destruição da lesão, com recurso a eletrocoagulação, vaporização por laser CO₂, ou criocoagulação. (37) Na diatermia radical é utilizado um eletrodo em forma de bola e as temperaturas variam entre 50°C a 120°C. (37) Assim, a destruição da lesão em profundidade depende da temperatura e da duração da sua aplicação. (37) Com a técnica de vaporização por laser CO₂, a água dos tecidos absorve a energia laser vaporizando o tecido. (37) É uma técnica onde se consegue adaptar e controlar a profundidade da destruição da lesão, sendo um método muito utilizado. (37) A criocoagulação é realizada com uma sonda metálica, que se adapta ao colo uterino, e que através de um gás refrigerante provoca uma congelação do tecido, com posterior destruição. (37) Estes métodos devem ser utilizados se colposcopia adequada; não existir discrepância entre citologia e/ou colposcopia e/ou biópsia; haver possibilidade de seguimento. (37)

Nas mulheres grávidas, com lesão pré-maligna, as *guidelines* referem que se deve optar por uma vigilância citocolposcópica durante a gravidez e, eventualmente, pelo tratamento no pós-parto. (52, 53) A segurança do adiamento do tratamento está demonstrada em vários estudos de coorte e retrospectivos. (52, 53) A incidência de doença invasiva na

gravidez, como já referido, é baixa e a própria gravidez não mostrou ser um efeito adverso no prognóstico de doença invasiva. (52, 53) O risco de progressão de CIN3 é baixo e a taxa de regressão das lesões pré-malignas, no pós-parto, é elevada. (36, 37, 50, 52-57)

Para além do motivo anteriormente referido, que suporta uma abordagem apenas de observação e acompanhamento da grávida, inúmeros estudos têm documentado a ligação entre o tratamento de CIN e parto pré-termo (PPT), hemorragia, baixo peso ao nascimento (BPN), rotura precoce de membranas (RPM), e mortalidade e morbidade neonatal. (57-75)

Na sua meta-análise *Zhuang et al.* com 27 publicações estudadas, demonstraram, com significância clínica, que os procedimentos de conização cervical a frio e LLETZ aumentam os riscos de PPT, RPM e BPN. (59) Já com a conização a laser e LEEP não se observou o aumento desse risco. (59) A razão para esta diferença foi argumentada com o facto de na CKC se remover mais tecido, do que na LEEP, havendo assim mais riscos. (59, 61, 63)

Numa Cochrane de revisão sistemática de 2017 que englobou sessenta e nove estudos com cerca de sessenta e cinco mil mulheres grávidas tratadas com procedimentos excisionais, verificou-se um aumento de PPT e BPN. (61) Também ficou claro que o risco de PPT foi maior aquando da execução de técnicas excisionais em comparação com as técnicas destrutivas. (61) Nas técnicas excisionais, nomeadamente na CKC, que mostrou maiores complicações associadas, a profundidade da excisão tem influência no aumento ou diminuição dos riscos de complicações na gravidez. (59, 61) Para excisões com uma profundidade igual ou superior a 10 mm ou volume excisado maior que 2,66cm³, o risco de PPT e BPN está aumentado. (60- 62, 64, 66, 67, 70, 71, 73, 74)

Uma justificação para relacionar a profundidade da excisão e os riscos de PPT e BPN, segundo *Stou et al.* é a de que após um procedimento excisional, com a ZT excisada, a normal barreira antimicrobiana das glândulas cervicais está alterada. (66) A perda de metaloproteinases da matriz e a modificação de outros moduladores imunes inatos presentes na ZT, possibilitam a aquisição de infeções ascendentes e, conseqüentemente, probabilidade mais elevada de PPT. (66)

Comparando as técnicas excisionais e destrutivas, as primeiras apresentam um maior risco de complicações na gravidez. (61, 64) Porém, com as técnicas excisionais consegue-se uma avaliação histológica da ZT, permitindo ao patologista reconhecer ou descartar doença microinvasiva, doença glandular, envolvimento de margem e profundidade da lesão, sendo estas, maioritariamente, a escolha do clínico aquando do tratamento (76) No caso de doença microinvasiva ou lesões com envolvimento do canal cervical, as técnicas destrutivas estão contraindicadas. (37)

No entanto, alguns autores referem que a execução de técnicas excisionais podem ser seguras durante a gravidez. (52, 77,78)

Siegler et al. (2017) demonstraram, num estudo com cerca de 93 grávidas, que a utilização de técnicas excisionais nas primeiras 15 semanas, nomeadamente LLETZ, em mulheres com CIN2/CIN3 são seguras. (52) Apontam, também, para um aumento da progressão de doença microinvasiva, justificado pelo aumento da idade materna aquando da gravidez. (52) Em relação ao procedimento excisional que deve ser executado, a LLETZ, nas primeiras 15 semanas, não apresentou complicações, como hemorragias. (52) *Kyrgiou et al* (2014) descreveu que o tratamento de CIN não aumenta o risco de aborto no primeiro trimestre. (77) Já a partir do segundo trimestre, houve um aumento do risco de hemorragia associado ao tratamento. (52, 77)

Na pesquisa de artigos científicos, observou-se um caso clínico onde uma CKC foi realizada no terceiro trimestre de gravidez sem a ocorrência de quaisquer complicações. (78)

Como se pode verificar, a maioria dos artigos científicos apontam para complicações associadas a procedimentos excisionais. De assinalar que foram definidos limites para dimensões de profundidade e volume a partir dos quais se verificava um aumento do risco de complicações.

8. Follow-up

Atualmente, no caso de uma grávida com CIN2 ou CIN3, está recomendada a vigilância colposcópica em cada trimestre da gravidez. (37) Poderá ser necessária a repetição da biópsia se existir agravamento ou alterações dos achados durante a colposcopia. (37) No caso de doença microinvasiva, a biópsia excisional com ansa diatérmica ou a laser é permitida, idealmente entre as 12 e as 18 semanas de gestação. (37) Após o parto, caso se tenha optado pela vigilância, está recomendada a repetição da citologia, colposcopia e eventual biópsia 6 semanas após o parto. Se necessário, poderá ser realizado tratamento de acordo com a lesão. (37, 53)

9. Discussão e Conclusão

A gravidez é um período que deve ser privilegiado na vida da mulher. Para além de todas as alterações fisiológicas e psicológicas que ocorrem, o médico que segue a grávida deve ter em atenção todos os sinais e sintomas que possam levar à suspeita de doença invasiva. Apesar da escassa sintomatologia, o CCU é uma das neoplasias mais frequentemente diagnosticadas durante a gravidez. Uma boa entrevista clínica à grávida deverá ser primordial na medida em que uma relação holística é o enfoque principal.

Na medida em que a gravidez é um período de muitas transformações, esta tem-se mostrado como um momento conveniente para a realização do rastreio, pois a mulher pode ainda não o ter realizado e as HSIL apresentam um pico de incidência em simultâneo à idade reprodutiva.

Nos últimos anos têm-se assistido a um vasto estudo da relação com o CCU e o HPV. O HPV, vírus de DNA, transmite-se por via sexual e é responsável por, aproximadamente, 100% dos casos de CCU. A oncogénese cervical atravessa várias etapas, desde a infeção por HPV, a sua persistência no colo do útero, desenvolvimento de lesão pré-maligna e, por fim, CCU. Conhecidos os seus subtipos, destacam-se os de alto risco (16 e 18), pela sua relação com o CCU. Para além do HPV, há outros cofatores que poderão favorecer o aparecimento de lesões pré-malignas, como o tabaco, e idade materna tardia, imunossupressão, etc.

Se por um lado, fatores fisiológicos intrínsecos à gravidez, como alterações no colo do útero e imunossupressão local, são bem conhecidos, por outro tornam difícil a interpretação da citologia e colposcopia.

No caso de lesões pré-malignas, como HSIL, podem ser diagnosticadas antes de uma gravidez iniciada através do rastreio. No entanto, estas lesões podem ser apenas descobertas durante a gravidez, por esta ter ocorrido antes da mulher ter realizado o seu primeiro rastreio; por não ter cumprido o rastreio, ou por possíveis falsos negativos em citologias anteriores.

Juntamente à citologia e genotipagem, tem-se observado em vários estudos a utilização de biomarcadores para um diagnóstico mais preciso. Os principais são o Ki-67, p16 e glicodelina. Este último surgiu em publicações recentes como sendo um marcador de bom prognóstico clínico, na medida em que valores altos nunca foram encontrados em lesões intraepiteliais de alto grau. De salientar que a colposcopia, realizada após citologia e suspeita de doença microinvasiva, deverá requerer um grande conhecimento técnico, na medida em que as alterações que decorrem no cérvix, aquando da gravidez, dificultam o diagnóstico.

Já em relação ao tratamento, pode ainda ser um motivo de discussão. Se por um lado está descrito que as taxas de regressão da lesão são elevadas e há complicações associadas aos procedimentos excisionais, alguns estudos afirmam que, nomeadamente no primeiro trimestre de gravidez, estes são seguros. Apesar de tudo, o consenso que prevalece é uma vigilância das lesões HSIL durante a gravidez e um tratamento no pós-parto, se necessário.

Nos vários estudos comparativos entre as diferentes técnicas executadas na gravidez, o enfoque incidiu sobre as complicações que poderiam decorrer. Com os métodos excisionais, apesar de estarem associados a um aumento de risco de hemorragia, rutura precoce de membranas e BPM, é possível uma avaliação histológica da ZT, permitindo ao patologista reconhecer ou descartar doença microinvasiva. No caso dos métodos destrutivos, o risco de complicações é mais baixo, mas a lesão é destruída, sendo mais complicada a sua determinação histológica.

Com a análise detalhada dos vários artigos são encontrados vários vieses e limitações, nomeadamente relacionados com o tamanho da amostra e o trimestre de gravidez em que os procedimentos excisionais são realizados. Também deveriam ser melhor estudados cofatores como idade materna, história clínica da grávida, tabaco, infeções prévias, tipo de lesão, tipo de parto, bem como outras comorbilidade. De referir que estes são fatores que podem influenciar a história natural da doença.

Por fim, há que enaltecer a importância da explicação da patologia e decisão terapêutica à grávida. Questões emocionais e altos níveis de ansiedade deverão, dentro dos possíveis, ser evitados ou trabalhados no sentido de proporcionar o melhor momento tanto à grávida como ao feto.

Agradecimentos

*Eles não sabem, nem sonham,
que o sonho comanda a vida,
que sempre que um homem sonha
o mundo pula e avança
como bola colorida
entre as mãos de uma criança.*
António Gedeão

À Senhora Professora Doutora Margarida Dias, por me ter aceite para a realização deste trabalho, pela sua orientação, motivação inesgotável, exigência, apoio e dedicação. Sem dúvida que levo um exemplo formidável de como deve ser um Professor.

À Senhora Dr^a Teresa Rebelo pela sua colaboração valiosa na realização deste trabalho.

À Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, aos meus Professores e Assistentes, aos técnicos e pessoal não docente por toda a aprendizagem, apoio e paciência.

Aos meus pais e irmã, por nunca me deixarem desistir deste sonho. Obrigado por acreditarem em mim e mostrarem que podemos transformar os nossos defeitos em virtudes e, assim, crescer.

Aos meus familiares e amigos que, de certa forma, contribuíram para chegar onde estou hoje. Avó Maria, Jacinto, Paula, Carolina, João, Pedro, Beatriz, Tiago, Miguel, Ana, Maria, Joana e Catarina, a vós muito obrigado por tornarem o caminho mais fácil.

A ti que, mesmo não estando fisicamente presente, serás sempre a minha fonte de inspiração.

Ao que Coimbra encerra. Ao que Coimbra inicia. Ao que Coimbra deu e nunca mais poderá tirar.

Filipe J. Pencas Alfaiate

Referências Bibliográficas

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*, 136(5):E359–86
2. Programa Nacional para as Doenças Oncológicas. (2017) Doenças Oncológicas em números – 2017. Ministério da Saúde - Direção-Geral de Saúde.
3. Programa Nacional para as Doenças Oncológicas. (2016). Doenças Oncológicas em números – 2015. Ministério da Saúde - Direção-Geral de Saúde.
4. Invasion, S., Im, S. S., Wilczynski, S. P., Burger, R. A., & Monk, B. J. (2003). Early Stage Cervical Cancers Containing Human Papillomavirus Type 18 DNA Have More Nodal Metastasis and Deeper Stromal Invasion. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 9(714), 4145–4150.
5. Bjørge, T., Skare, G. B., Bjørge, L., Tropé, A., & Lönnberg, S. (2016). Adverse Pregnancy Outcomes after Treatment for Cervical Intraepithelial Neoplasia. *Obstetrics and Gynecology*, 128(6), 1265–1273.
6. Crum, C. P. (2003). Symposium part 1: Should the Bethesda System terminology be used in diagnostic surgical pathology?: Point. *International Journal of Gynecological Pathology: Official Journal of the International Society of Gynecological Pathologists*, 22(1), 5–12.
7. Consenso sobre Cancro Ginecológico da Sociedade Portuguesa de Ginecologia. www.spginecologia.pt, Out.2010.
8. Direção-Geral da Saúde. (2012). Diagnóstico e Estadiamento do Cancro Invasivo do Colo do Útero: norma da DGS nº 018/2012, de 21/12/2012. Lisboa: DGS.
9. Fader, A. N., Alward, E. K., Niederhauser, A., Chirico, C., Lesnock, J. L., Zwiesler, D. J., ... Moore, K. N. (2010). Cervical dysplasia in pregnancy: A multi-institutional evaluation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 203(2), 113.e1-113.e6.
10. Kyrgiou, M., Mitra, A., Arbyn, M., Paraskevaidi, M., Athanasiou, A., Martin-Hirsch, P. P. L., ... Paraskevaidis, E. (2015). Fertility and early pregnancy outcomes after conservative treatment for cervical intraepithelial neoplasia. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 9(October), CD008478.

11. Cubo-Abert, M., Centeno-Mediavilla, C., Franco-Zabala, P., Merced-Vázquez, C., Castellví, J., García, Á., ... Xercavins, J. (2012). Risk factors for progression or persistence of squamous intraepithelial lesions diagnosed during pregnancy. *Journal of Lower Genital Tract Disease*, 16(1), 34–38.
12. Siegler, E., Amit, A., Lavie, O., Auslender, R., Mackuli, L., & Weissman, A. (2014). Cervical intraepithelial neoplasia 2, 3 in pregnancy: Time to consider loop cone excision in the first trimester of pregnancy? *Journal of Lower Genital Tract Disease*, 18(2), 162–168.
13. Schiffman M, Wentzensen N. (2013). Human papillomavirus infection and the multistage carcinogenesis of cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 22(4):553–60.
14. Wheeler CM. The Natural History of Cervical Human Papillomavirus Infections and Cervical Cancer. Gaps in Knowledge and Future Horizons. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*. Elsevier Inc; 2013. p. 165–76.
15. Schiffman M, Wentzensen N. (2010) From human papillomavirus to cervical cancer. *Obstet Gynecol*, 116(1):177–85.
16. Williams VM, Filippova M, Soto U, Duerksen-Hughes PJ. (2011). HPV-DNA integration and carcinogenesis: putative roles for inflammation and oxidative stress. *Future Virol*. Jan 1;6(1):45–57.
17. Galloway DA, Laimins LA. (2015). Human papillomaviruses: shared and distinct pathways for pathogenesis. *Curr Opin Virol*. Elsevier B.V.; Oct; 14:87–92.
18. Tseng, J. Y., Bastu, E., & Gungor-Ugurlucan, F. (2012). Management of precancerous lesions prior to conception and during pregnancy: A narrative review of the literature. *European Journal of Cancer Care*, 21(6), 703–711.
19. Casanova, R., & Weiss, P. M. (2018). Beckmann and Ling's *Obstetrics and Gynecology*. Lippincott Williams & Wilkins.
20. Trottier, H., Mayrand, M.-H., Baggio, M. L., Galan, L., Ferenczy, A., Villa, L. L., & Franco, E. L. (2015). Risk of Human Papillomavirus (HPV) Infection and Cervical Neoplasia after Pregnancy. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 15(1), 244.
21. IARC Screening Group. Chapter 1: An introduction to the anatomy of the uterine cervix

[Internet]. Colposcopy and Treatment of Cervical Intraepithelial Neoplasia: A Beginner's Manual. [cited 2016 Feb 28]. p. 1–12. Available from: <http://screening.iarc.fr/colpochap.php?lang=1&chap=1>

22. Roura E, Castellsagué X, Pawlita M, Travier N, Waterboer T, Margall N, et al. (2014). Smoking as a major risk factor for cervical cancer and pre-cancer: Results from the EPIC cohort. *Int J Cancer*, 135(2):453–66.

23. Kärrberg, C., Brännström, M., Strander, B., Ladfors, L., & Rådborg, T. (2013). Colposcopically directed cervical biopsy during pregnancy; minor surgical and obstetrical complications and high rates of persistence and regression. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 92(6), 692–699.

24. Kapeu AS, Luostarinen T, Jellum E, Dillner J, Hakama M, Koskela P, et al. (2009). Is smoking an independent risk factor for invasive cervical cancer? A nested case-control study within Nordic biobanks. *Am J Epidemiol*, 169(4):480–8.

25. Oh HY, Kim MK, Seo S-S, Lee J-K. (2016). Association of Combined Tobacco Smoking and Oral Contraceptive Use With Cervical Intraepithelial Neoplasia 2 or 3 in Korean Women. *J Epidemiol*, 1–8.

26. Vaccarella S, Herrero R, Snijders PJF, Dai M, Thomas JO, Hieu NT, et al. (2008). Smoking and human papillomavirus infection: Pooled analysis of the International Agency for Research on Cancer HPV Prevalence Surveys. *Int J Epidemiol*, 37(3):536–46.

27. Maise, H. C., Moodley, D., Sebitloane, M., Maman, S., & Sartorius, B. (2017). Prevalence, risk factors, and pregnancy outcomes of cervical cell abnormalities in the puerperium in a hyperendemic HIV setting. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 140(1), 105–110.

28. Dugue P-A, Rebolj M, Garred P, Lynge E. (2013). Immunosuppression and risk of cervical cancer. *Expert Rev Anticancer Ther*, 13(1):29–42.

29. Freeman-Wang T, Walker P. (2011). Colposcopy in special circumstances: Pregnancy, immunocompromise, including HIV and transplants, adolescence and menopause. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 25(5):653-65.

30. Williams VM, Filippova M, Soto U, Duerksen-Hughes PJ. (2011). HPV-DNA integration and carcinogenesis: putative roles for inflammation and oxidative stress. *Future Virol*, Jan 1;6(1):45–57.

31. Paaso A, Koskimaa H-M, Welters MJ, Grénman S, Syrjänen K, van der Burg SH, et al. (2015). Cell mediated immunity against HPV16 E2, E6 and E7 peptides in women with incident CIN and in constantly HPV-negative women followed-up for 10-years. *J Transl Med*, 13(1):1–11.
32. Jensen KE, Schmiedel S, Norrild B, Frederiksen K, Iftner T, Kjaer SK. (2013). Parity as a cofactor for high-grade cervical disease among women with persistent human papillomavirus infection: a 13-year follow-up. *Br J Cancer*. Nature Publishing Group, 108(1):234–9.
33. Cunningham, F. G., Leveno, K. J., Bloom, S. L., Spong, C. Y., Dashe, J. S., Hoffman, B. L., . . . Sheffield, J. S. (2018). *Williams obstetrics (25th edition.)*. New York: McGraw-Hill Education.
34. Peralta L, Rus G, Bochud N, et al. (2015). Mechanical assessment of cervical remodeling in pregnancy: insight from a synthetic model. *J Biomech* 48:1557.
35. Rosai J, Young RH. (2015). Javier Arias-Stella and his famous reaction. *Int J Gynecol Pathol* 34:314.
36. Mazzone, S. E., Bienenfeld, S. L., Krull, M. B., Metz, T. D., & Alston, M. J. (2015). Perinatal High-Grade Cervical Cytology: A Case Series from a Safety Net Institution. *Journal of Lower Genital Tract Disease*, 19(4), 329–332.
37. Moutinho J VA, Pacheco A, et al. (2014). Consenso sobre infecção por HPV e neoplasia intraepitelial do colo vulva e vagina. *Sociedade Portuguesa de Ginecologia*.
38. Direcção Geral da Saúde. (2013). Diagnóstico e Estadiamento do Cancro Invasivo do Colo do Útero. Norma Da Direcção-Geral Da Saúde, 9. Retrieved from <http://www.dgs.pt/upload/membro.id/ficheiros/i018596.pdf>
39. Cuzick J, Arbyn M, Sankaranayanan R, et al. (2008). Overview of human papillomavirus-based and novel options for cervical cancer screening in developed and developing countries. *Vaccine*, 26 Suppl 10: K29-K41.
40. Naucler P, Ryd W, Törnberg S, Strand A, Wadell G, Elfgrén K, et al. (2009). Efficacy of HPV DNA testing with cytology triage and/or repeat HPV DNA testing in primary cervical cancer screening. *Journal of the National Cancer Institute*, 101(2):88-99.

41. Dilner J, Rebolj M, Birembaut P, et al. (2008). Long term predictive values of cytology and human papillomavirus testing in cervical cancer screening: joint European cohort study. *BMJ*, 337: a1754.
42. Sociedade Portuguesa de Ginecologia. (2017). Consenso Nacional sobre vacinas contra HPV. Retrieved from http://www.spginecologia.pt/uploads/Livro-Consenso-Nacional-sobre-Vacinas-contr-HPV-2017_FINAL.pdf
43. de Haan J, Vandecaveye V, Han SN, Van de Vijver KK, Amant F. (2016). Difficulties with diagnosis of malignancies in pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 33:19-32
44. Massad LS, Einstein MH, Huh WK et al. (2013). 2012 Updated Consensus Guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. *J Lower Genit Tract Dis*, 17(5): S1-S27.
45. Dunn TS, Burke M, Shwayder J. (2003). A “see and treat” management for high-grade squamous intraepithelial lesion Pap smears. *J Lower Gen Tract Dis*, 7:104-106.
46. Owens, G. L., & Kitchener, H. C. (2016). Premalignant disease in the genital tract in pregnancy. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 33, 33–43.
47. Technical, I. (n.d.). Colposcopy and Treatment of Cervical Precancer Colposcopy and Treatment. IARC Technical Publications; 45. 2017
48. Ciavattini, A., Sopracordevole, F., Di Giuseppe, J., Moriconi, L., Lucarini, G., Manciola, F., ... Goteri, G. (2017). Cervical intraepithelial neoplasia in pregnancy: Interference of pregnancy status with p16 and Ki-67 protein expression. *Oncology Letters*, 13(1), 301–306.
49. Ciavattini, A., Sopracordevole, F., Di Giuseppe, J., Lucarini, G., Zizzi, A., Moriconi, L., & Goteri, G. (2016). Glycodelin expression in pregnant patients with cervical intraepithelial neoplasia: A case-control study. *Gynecological Endocrinology*, 32(4), 329–333.
50. Griffin, H., Soneji, Y., Van Baars, R., Arora, R., Jenkins, D., van de Sandt, M., ... Doorbar, J. (2015). Stratification of HPV-Induced Cervical Pathology using the Virally-Encoded Molecular Marker E4 in Combination with p16 or MCM. *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*, 28(7), 977–993.
51. Origoni M, Salvatore S, Perino A, Cucinella G, Candiani M. (2014). Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN) in pregnancy: the state of the art. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.*, 18(6):851-60.

52. Siegler, E., Lavie, O., Amit, A., Vaknin, Z., Auslander, R., & Blumenfeld, Z. (2017). Should the Risk of Invasive Cancer in Pregnancy and the Safety of Loop Electrosurgical Excision Procedure during the First 15 Weeks Change Our Practice? *Journal of Lower Genital Tract Disease*, 21(4), 299–303.
53. Training, C. (2016). Obstetric complications after treatment of cervical intraepithelial neoplasia, 77(8)
54. Henes, M., Neis, F., Rall, K., Iftner, T., Staebler, A., Fehm, T., & Rothmund, R. (2013). Abnormal cytology during pregnancy--a retrospective analysis of patients in a dysplasia clinic. *Anticancer Research*, 33(2), 711–715.
55. Fader, A. N., Alward, E. K., Niederhauser, A., Chirico, C., Lesnock, J. L., Zwiesler, D. J., ... Moore, K. N. (2010). Cervical dysplasia in pregnancy: a multi-institutional evaluation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 203(2), 113.e1–113.e6.
56. Quenby, S. (2010). Obstetric management of women after treatment for CIN. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 117(3), 243–244.
57. Kärrberg, C., Brännström, M., Strander, B., Ladfors, L., & Rådberg, T. (2013). Colposcopically directed cervical biopsy during pregnancy; minor surgical and obstetrical complications and high rates of persistence and regression. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 92(6), 692–699.
58. Jordan, J., Martin-Hirsch, P., Arbyn, M., Schenck, U., Baldauf, J. J., Da Silva, D., ... Prendiville, W. (2009). European guidelines for clinical management of abnormal cervical cytology, Part 2. *Cytopathology*, 20(1), 5–16.
59. Zhuang, H., Hong, S., Zheng, L., Zhang, L., Zhuang, X., Wei, H., & Yang, Y. (2018). Effects of cervical conisation on pregnancy outcome: a meta-analysis. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 0(0), 1–8.
60. van Velthoven, K., Poppe, W., Verschuere, H., & Arbyn, M. (2017). Pregnancy outcome after cervical conisation: A 2nd retrospective cohort study in the Leuven University Hospital. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, 216, 224–231.

61. Kyrgiou, M., Athanasiou, A., Iej, K., Paraskevaidi, M., Mitra, A., Ppl, M., ... Paraskevaidis, E. (2017). Obstetric outcomes after conservative treatment for cervical intraepithelial lesions and early invasive disease. *Cochrane Database of Systematic Review*, (11).
62. Biliatis, I. (2016). Pregnancy outcomes after treatment for preinvasive cervical lesions. *BMJ*, i4027.
63. Liverani, C. A., Di Giuseppe, J., Clemente, N., Carpini, G. D., Monti, E., Fanetti, F., ... Ciavattini, A. (2016). Length but not transverse diameter of the excision specimen for high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2-3) is a predictor of pregnancy outcome. *European Journal of Cancer Prevention*, 25(5), 416–422.
64. Kyrgiou, M., Athanasiou, A., Paraskevaidi, M., Mitra, A., Kalliala, I., Martin-Hirsch, P., ... Paraskevaidis, E. (2016). Adverse obstetric outcomes after local treatment for cervical preinvasive and early invasive disease according to cone depth: systematic review and meta-analysis. *BMJ*, i3633.
65. Danhof, N. A., Kamphuis, E. I., Limpens, J., van Lonkhuijzen, L. R. C. W., Pajkrt, E., & Mol, B. W. J. (2015). The risk of preterm birth of treated versus untreated cervical intraepithelial neoplasia (CIN): a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 188, 24–33.
66. Stout, M., Frey, H., Tuuli, M., Cahill, A., Odibo, A., Roehl, K., & Macones, G. (2014). Loop electrosurgical excision procedure and risk of vaginal infections during pregnancy: an observational study. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 122(4), 545–551.
67. Sozen, H., Namazov, A., Cakir, S., Akdemir, Y., Vatansever, D., & Karateke, A. (2014). Pregnancy outcomes after cold knife conization related to excised cone dimensions. A retrospective cohort study. *The Journal of Reproductive Medicine*, 59(1–2), 81–86.
68. Wuntakal, R., Castanon, A., Sasieni, P. D., & Hollingworth, A. (2013). Pregnancy Outcomes After Treatment for Cervical Intraepithelial Neoplasia in a Single NHS Hospital. *International Journal of Gynecological Cancer*, 23(4), 710–715.
69. Jin, G., LanLan, Z., Li, C., & Dan, Z. (2013). Pregnancy outcome following loop electrosurgical excision procedure (LEEP) a systematic review and meta-analysis. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 289(1), 85–99.

70. He, Y., Wu, Y.M., Wang, T. et al. Perinatal outcomes of pregnant women with cervical intraepithelial neoplasia Arch Gynecol Obstet (2013) 288: 1237.
71. Khalid, S., Dimitriou, E., Conroy, R., Paraskevoidis, E., Kyrgiou, M., Harrity, C., ... Prendiville, W. (2012). The thickness and volume of LLETZ specimens can predict the relative risk of pregnancy-related morbidity. BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology, 119(6), 685–691.
72. Ørtoft, G., Henriksen, T., Hansen, E., & Petersen, L. (2009). After conisation of the cervix, the perinatal mortality as a result of preterm delivery increases in subsequent pregnancy. BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology, 117(3), 258–267.
73. Van de Vijver, A., Poppe, W., Verguts, J., & Arbyn, M. (2009). Pregnancy outcome after cervical conisation: a retrospective cohort study in the Leuven University Hospital. BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology, 117(3), 268–273.
74. Simoens, C., Goffin, F., Simon, P., Barlow, P., Antoine, J., Foidart, J.-M., & Arbyn, M. (2012). Adverse obstetrical outcomes after treatment of precancerous cervical lesions: a Belgian multicentre study. BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology, 119(10), 1247–1255.
75. Ang, C., Mukhopadhyay, A., Burnley, C., Faulkner, K., Cross, P., Martin-Hirsch, P., & Naik, R. (2011). Histological recurrence and depth of loop treatment of the cervix in women of reproductive age: incomplete excision versus adverse pregnancy outcome. BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology, 118(6), 685–692
76. Rambocas, N., & Olah, K. (2010). Microinvasive carcinoma of the cervix. Journal of Obstetrics and Gynaecology, 30(5), 515–516.
77. Kyrgiou, M., Mitra A, Arbyn, M., Stasinou, SM., Martin-Hirsch, P., Bennett, P., Paraskevoidis, E. (2014). Fertility and early pregnancy outcomes after treatment for cervical intraepithelial neoplasia: systematic review and meta-analysis. BMJ 349: g6192.
78. Lee, S. P., Kim, S. Y., Park, H. N., & Shin, J. W. (2014). A case of successful perinatal outcome and management of microinvasive cervical cancer diagnosed in the 3rd trimester of pregnancy. Journal of Obstetrics and Gynaecology, 35(2), 200–201.