

EPITELIÔMETRO COMO INSTRUMENTO COADJUVANTE AO EXAME DE COLPOSCOPIA: ESTUDO DE CASOS EM SANTA CATARINA

P. Bertemes*, J. L. B. Marques**, A. Pogere***, L. F. Sommacal***, D. de C. Dias****, D. Dutra* e A. Paterno*

*Departamento de Engenharia Elétrica-CCT-UDESC, Joinville, Brasil

**Instituto de Engenharia Biomédica-UFSC, Florianópolis, Brasil

***Hospital Universitário-UFSC, Florianópolis, Brasil

****Centro de Pesquisas Oncológicas-CEPON, Florianópolis, Brasil

e-mail: aleksander.paterno@udesc.br

Resumo: Este trabalho relata uma análise preliminar dos dados produzidos por meio do uso de uma sonda de bioimpedância elétrica multifrequencial (epiteliômetro) para auxílio no diagnóstico de lesões em colo do útero de pacientes em hospitais de Santa Catarina, Brasil. Está associado a um projeto em andamento para avaliar o uso de novas tecnologias para detecção do câncer de colo de útero. Neste caso, tal investigação é efetuada durante o exame de colposcopia clínica e poderá servir de auxílio ao diagnóstico. Fica evidenciado por meio de análise multivariada em população de mulheres em Santa Catarina, que métodos de classificação não paramétricos são mais recomendados, pois foi determinado que a distribuição das impedâncias avaliadas em geral não é normal. Os dados foram coletados em pontos de tecido reativo ao ácido acético, de pacientes com diferentes graus de lesões associadas principalmente à neoplasia intra-epitelial cervical. A despeito de já se conhecerem estudos em populações europeias com esse equipamento, estes resultados preliminares indicam que a impedância do colo do útero numa população avaliada de 64 pacientes em Santa Catarina contera informação suficiente para uso em técnicas computacionais de classificação, e também se verificou que o número de parâmetros nessa análise poderá ser reduzido simplificando a eletrônica do sistema, devido a alta correlação entre alguns parâmetros medidos em baixa frequência.

Palavras-chave: Bioimpedância, Neoplasia intra-epitelial cervical, Rastreamento do câncer do colo uterino.

Abstract: This work reports a preliminary analysis of data produced by means of a commercial multi-frequency bioimpedance probe as a coadjunct instrument in the detection of cervical intraepithelial neoplasia in patients from hospitals in the state of Santa Catarina. This study is related to an ongoing project to evaluate the use of new technologies to detect this type of cancer. The investigation is performed simultaneously to the colposcopy examination and it is evidenced by means of multivariate analysis, that bioimpedance data allow a computational algorithm to classify the patient

into a set of classes associated with the cancerous lesions. The reported results in the literature in European trials are extended if considered that in this work 64 patients from a southern Brazilian population have been evaluated such as to help the clinician and a computational algorithm to classify the lesions, justifying the use of a non-parametric classification technique. From the obtained results, the improvement of the hardware can be suggested by reducing the number of points in the impedance frequency scanning interval at low frequencies.

Keywords: Bioimpedance, Cervical Intraepithelial Neoplasia, Cervical Cancer Screening

Introdução

O câncer de colo de útero é o terceiro mais frequente na população feminina no país, e a quarta causa de morte de mulheres por câncer no Brasil[1]. O diagnóstico precoce é fundamental para que a doença possa ser identificada em um estadiamento clínico inicial aumentando as chances de cura. Uma proporção de 44% dos casos diagnosticados são de lesões precursoras do câncer, as neoplasias intraepiteliais. Esse tipo de lesão é localizado, podendo ser detectada por técnicas inclusive automatizadas[2]. Estima-se uma incidência de 15.590 casos novos em 2014 no Brasil[1].

A estratégia inicial para o rastreamento das lesões precursoras do câncer do colo uterino consiste na coleta de amostra de citologia cérvico-vaginal (colpocitologia oncológica ou exame de Papanicolaou). No caso de resultado de colpocitologia oncológica anormal mostrando lesão intraepitelial escamosa de baixo-grau ou atipia de células escamosas de caráter indeterminado possivelmente não neoplásicas, a colpocitologia oncológica deverá ser repetida dentro de 6 meses. Caso persista a anormalidade prévia ou o diagnóstico seja de lesão intraepitelial escamosa de alto-grau ou anormalidade mais grave, impõe-se o estudo colposcópico. Quando a colposcopia identificar uma área de anormalidade, denominada zona de transformação anormal (ZTA), realiza-se a biópsia para estudo histopatológico e, neste trabalho, simultaneamente efetua-se uma série de medidas da

bioimpedância, seguindo um protocolo específico. Neste trabalho, a Espectroscopia de Impedância Elétrica (EIE) foi usada para medir a impedância das células e verificar possíveis alterações teciduais, permitindo a identificação do epitélio normal, de lesões precursoras do câncer do colo e neoplasia do colo uterino invasora. Além disso, pretende-se verificar a variabilidade do conjunto de leituras de impedância de forma a propor alterações na instrumentação eletrônica utilizada. A identificação das lesões precursoras do câncer do colo uterino através da técnica EIE vem sendo investigada há mais de uma década [2,3]. O método da Espectroscopia de Impedância Elétrica (EIE) pode assim ser considerado uma ferramenta eficiente para aumentar a sensibilidade na detecção das lesões associadas à neoplasia intraepitelial cervical (NIC), inclusive permitindo sua classificação em diferentes graus [4]. O impacto desta tecnologia no atual exame de prevenção para o câncer do colo de útero que, por sua vez, é um processo subjetivo, resulta em uma redução significativa da necessidade dos exames de biópsia. Para isso, utiliza-se um método não-invasivo de medição como instrumento coadjuvante para auxiliar na eficácia dos exames de colposcopia reduzindo a necessidade de biópsia, por meio da espectroscopia de impedância elétrica dos tecidos avaliados.

A detecção e classificação de tecidos superficiais normais, pré-cancerígenos e cancerígenos por meio de uma sonda de eletrodos de medição elétrica já foi demonstrada como ferramenta de diagnóstico auxiliar (coadjuvante) em vários estudos (e.g. na detecção dos cânceres de colo de útero[5,6]) em populações europeias. No Brasil há uma carência de estudos para o desenvolvimento e uso de equipamentos baseados em espectrômetros de bioimpedância clínicos nessa área. Assim, utiliza-se aqui um aparelho comercial, chamado aqui de epiteliômetro, para permitir uma análise exploratória de seu desempenho em uma população específica de mulheres produzindo-se dados obtidos de pacientes em uma unidade básica de Saúde (UBS) em São José (SC) e em dois hospitais em Florianópolis (SC). A análise foi efetuada visando dar suporte à especificação de técnicas computacionais para processar a informação adquirida. Adicionalmente, pretende-se permitir a classificação automática dos casos analisados, assim como eventualmente propor a customização da eletrônica do equipamento.

Materiais e métodos

Foram selecionadas 64 mulheres com exames preventivos de cólo de útero anormais (critério de inclusão), excetuando mulheres grávidas e ex-participantes de estudos anteriores até 30 dias antes (critério de exclusão), do Centro de Pesquisas Oncológicas (CEPON), do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago, em Florianópolis-SC, e da Unidade Básica de Saúde Bela Vista III, em São José-SC. As pacientes foram biopsiadas e submetidas ao exame de colposcopia. Após apresentação do

procedimento à paciente, assinava-se o termo de consentimento livre esclarecido do projeto aprovado no comitê de ética para pesquisa em seres humanos da UDESC – no. 11700313.1.0000.0118.

As pacientes foram submetidas à colposcopia e biopsiadas, e o exame de bioimpedância de colo de útero foi efetuado com a sonda APX100 (Zilico). Em média, um conjunto de 11 medidas em cada paciente, em pontos de tecido reativo ao ácido acético (método tipicamente usado para detecção de tecidos com ZTA no cérvix) fossem investigados nesses locais de interesse[7]. A disposição das regiões analisadas foi estabelecida como esquematicamente ilustrado na Figura 1, onde os números indicam a distribuição numerada de 1 a 12 de direções de medidas de impedância efetuadas no esquema ilustrativo da cérvix uterina. Para isso, usou-se uma sonda tetrapolar, de modo que a impedância de contato pele-eletrodo possa ser desconsiderada, já que medidas de tensão são feitas em eletrodos diferentes daqueles da excitação.



Figura 1: Ilustração de cérvix com tecido anormal, esbranquiçada pelo ácido acético no exame de colposcopia. As 12 regiões indicadas são passíveis de análise com a sonda de bioimpedância (epiteliômetro – Zedscan/APX100) pelo colposcopista, permitindo no mínimo 10 pontos de medição.

A impedância de transferência foi calculada em 14 diferentes frequências f_k dadas em hertz a seguir: 76,29395; 152,5879; 305,1758; 610,3516; 1220,703; 2441,406; 4882,813; 9765,625; 19531,25; 39062,5; 78125; 156250; 312500 e 625000, com k inteiro de 1 a 14. O número de medidas em uma paciente é indicado por m de 1 a 15, representando as 11 medidas na região de interesse e até 4 medidas adicionais em outros pontos. Duas matrizes foram construídas com $n=64$ linhas (ou pacientes) e 154 colunas. Cada matriz contém os módulos das impedâncias, $|Z_m^{(n)}(f_k)|$, resultando $11 \times 14 = 154$ colunas, para a n -ésima paciente. A matriz \mathbf{Z} foi montada com os valores de módulo como mostrado na Figura 2, a qual ilustra exemplo de impedância para três pacientes, respeitando o previsto na literatura. De forma similar, a matriz Φ , de fases, foi montada com a fase $\phi_m^{(n)}(f_k)$ no lugar dos módulos $|Z_m^{(n)}(f_k)|$.

Análise exploratória – Efetuou-se inicialmente a caracterização da distribuição de cada coluna da matriz \mathbf{Z} e Φ . Baseando-se em simulações publicadas na literatura, sabe-se que as classes de tecidos com ZTAs do tipo NIC 1, 2 e 3 têm impedâncias em módulo gradualmente reduzidas nessa ordem em comparação ao tecido normal da cérvix[8] e o objetivo de qualquer

software de classificação seria associar uma linha da matriz \mathbf{Z} e/ou Φ a diagnósticos nessas categorias (NIC ou Sem Biópsia). Preferiu-se não ajustar os dados adquiridos pelo aparelho com funções de impedância, como as de Cole[9], por exemplo. Assim pode-se permitir a verificação do comportamento individual das variáveis nas colunas de \mathbf{Z} e Φ .

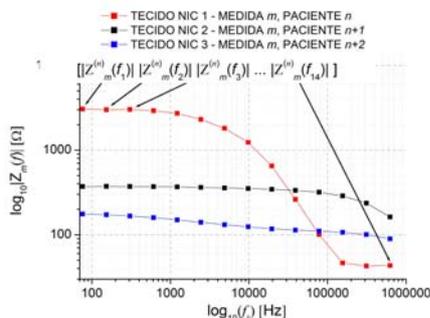


Figura 2: Gráfico de espectro à medida m , de três pacientes diferentes e vetor indicando trecho da linha da matriz de impedâncias e cada coluna correspondendo a uma frequência em ZTA de tecido NIC 1, 2 e 3.

Dado o número de ao menos 308 parâmetros de módulo e fase, e no máximo 448, quando até 4 medidas de impedância eram repetidas em algumas das m direções indicadas na Figura 1, observou-se a necessidade de se determinar uma técnica para redução desse número de parâmetros.

Análise de separabilidade das classes – para se fundamentar a escolha de uma técnica de classificação paramétrica ou não, investigou-se a separabilidade dos diagnósticos em termos de classes definidas por casos ‘Sem Biópsia’, ‘Borderline’, ‘NIC1’, ‘NIC2’ e ‘NIC3’. O caso ‘Sem Biópsia’ é formado por pacientes sem citologia, e *Borderline* corresponde a células muito próximas da normalidade.

Os espectros de impedância medidos tiveram a análise inicial das médias das colunas e seus desvios produzidos nos espectros em cada frequência, além de serem associadas aos resultados da biópsia e exame de colposcopia (a análise estendida dos dados e sua correlação com prontuários envolvendo informações de idade, tempo da última menstruação, raça, histopatologia e impressão do médico serão avaliados em outro trabalho). Como essas pacientes investigadas já foram encaminhadas por terem dois positivos seguidos nos exames de Papanicolaou, as classes esperadas a serem formadas pelos espectros adquiridos poderão evidenciar diferentes graus de gravidade de lesões. O aparelho em si já tem um método para identificar essas categorias com um algoritmo interno. Em um algoritmo a ser proposto para classificação, informações adicionais serão inseridas sobre o prontuário médico. Exemplos desses dados seriam indicadores de testes de HPV; a idade; se as pacientes estão na menopausa; diagnósticos prévios presentes no prontuário e a data da última menstruação, bem como da última relação sexual, que podem afetar diretamente a medida de impedância. Com essa configuração de

classes, uma análise de variância sobre as colunas da matriz construída foi efetuada. A normalidade com o teste “W” de Shapiro-Wilk foi verificada para intervalo de confiança de 95%, ou ainda, $\alpha=0.05$. Ou seja, se o valor- p calculado no teste, $p < \alpha = 0.05$, a hipótese nula de normalidade da coluna de impedância é rejeitada[10].

Observa-se a informação do tecido baseada na magnitude da impedância, indicada pela média das medidas. Além disso, evidencia-se que apenas um ponto medido não permite o diagnóstico, já que pode ser efetuado em tecido saudável, mesmo sendo a paciente associada a uma classe *borderline*. As análises foram efetuadas considerando separadamente colunas de módulo de impedância, de fase e a totalidade dos dados. Os cálculos foram efetuados com a linguagem R e as bibliotecas MASS[11] e car[12].

Resultados e Discussão

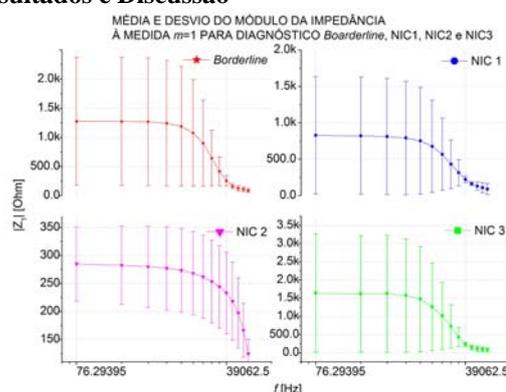


Figura 3: Módulo (média) da bioimpedância às medidas $m=1$ de 53 pacientes biopsiadas. As classes são determinadas por algoritmo no aparelho como *Borderline*, NIC 1, 2, 3 e desvio calculado externamente.

Na Figura 3, mostra-se o gráfico da média do módulo da impedância para a primeira medida, $m=1$, efetuada em 53 pacientes (19 *Borderline*, 26 NIC1, 4 NIC2 e 4 NIC3), a partir de diagnóstico definido pelo equipamento. 11 pacientes sem exame de histopatologia (biópsia) inserido no equipamento foram excluídos deste gráfico. A Figura 3 permite caracterizar parcialmente o grupo de pacientes da população examinada, mas não completamente, pois em alguns pacientes o ponto medido pode não corresponder a uma ZTA (ou seja, pode ser um tecido saudável), além disso, devido ao baixo número de pacientes com NIC 2 e 3, o estimador de média da população produz resultados mais distorcidos. Para todas as 12 medidas, o desvio em baixas frequências é maior, reduzindo-se com o aumento da frequência para todos os casos.

Nessa população pode-se ver que a variância dos dados é um indicativo de conteúdo de informação sobre a característica da ZTA analisada. Sabendo de resultados da literatura[8], cabe observar que a impedância para uma ZTA deverá ter seu nível médio gradualmente reduzido conforme estejam os tecidos analisados comprometidos. Apesar de esses valores aparentemente contradizerem a literatura, é o caso que, em outras

medidas, a ZTA analisada tenha uma impedância que respeite os preceitos estabelecidos dessa técnica de diagnóstico.

Os resultados dos testes de normalidade indicam que a hipótese nula no teste “W” de Shapiro-Wilk é rejeitada para baixas frequências e em alguns pontos de altas frequências. A Figura 4 mostra o histograma de valores-p para todas as colunas de Z e Φ , indicando que somente 23 das 448, ou em torno de 7% das frequências, correspondem a distribuições normais dos parâmetros das pacientes. Dessa forma, pode-se inferir que técnicas que diagnostiquem as pacientes pelo espectro de fase e módulo requerem a normalidade desses parâmetros para fins de classificação dos grupos, permitindo o uso, por exemplo, de análise de componentes principais ou de discriminantes lineares. Daqui tira-se um forte argumento em favor de técnicas de classificação não-paramétricas para classificar os dados computacionalmente, já que elas relaxam tais requisitos de normalidade, tais como algoritmos meta-heurísticos que não sofram efeitos de *over-fitting* ou que tenham boa capacidade de generalização.

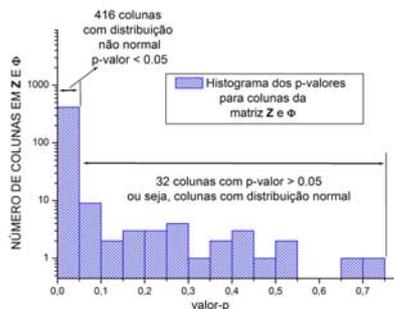


Figura 4: Histograma dos valores-p provenientes do teste de Shapiro-Wilk para as colunas de Z e Φ ; colunas com $p < 0.05$, $p > 0.05$ e intervalo de 95% de confiança.

Outro requisito importante em técnicas de classificação paramétrica é a influência da correlação entre as variáveis usadas na classificação. Verificou-se também que em baixas frequências, a correlação entre impedâncias em f_1 a f_4 é próxima da unidade (>0.9995). Tal fato era de se esperar dado que foi observado que os pontos medidos de $Z(\omega)$ até 1 kHz na maioria dos casos são de valores em módulo próximos entre si e o valor da impedância permanece aproximadamente constante no intervalo até essa frequência. Nessa situação permite-se fundamentar a redução do número de frequências interrogadas, e consequentemente a dimensão do conjunto de dados simplificando o sistema.

Com respeito à redução da dimensionalidade de parâmetros, normalmente usa-se o ajuste do espectro de impedância por meio de uma função de Cole[9]. Os pontos do espectro são resumidos a R_0 , R_∞ , τ e α , respectivamente, a resistência em baixa e alta frequência, a constante de tempo e o parâmetro de dispersão. A classificação seria calculada nesse conjunto, mas é um procedimento não-linear e precisa ser avaliado em termos de distorção dos dados e eficiência computacional no processo.

Agradecimentos

Agradecimentos a FITEJ, FAPESC, CNPq e CAPES.

Referências

- [1] Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. [acessado em 15-07-2014], Disponível em: http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/colo_uterio/definicao
- [2] Abdul S, Brown BH, Milnes P, Tidy JA. The use of electrical impedance spectroscopy in the detection of cervical intra-epithelial neoplasia. *Int J Gynecol Cancer* 2006; 16: 1823–32.
- [3] Coppelson M, Skalndev V, Darylmp J. An electronic approach to the detection of pre-cancer and cancer of the uterine cervix. A preliminary evaluation of the Polar probe. *Int J Gynecol Cancer* 1994; 4:79-83.
- [4] Maria ES, Lynne G, Paul DB. Cervical cancer screening in developing countries. *Prim Care Update Ob/Gyn* 2000; 7:118-23.
- [5] Brown, B H, Tidy, J, Boston, K, Blackett, AD, Smallwood, RH and Sharp, F. Relation between tissue structure and imposed electrical current flow in cervical neoplasia. *The Lancet*, 2000; 355:892-895.
- [6] Brown, BH, Tidy, J, Boston, K, Blackett, AD and Sharp, F. Tetrapolar measurement of cervical tissue structure using impedance spectroscopy. *IEEE Proc. of the 20th Annual Int. Conf. Biomed. Eng.* 1998; 6: 2886-2889.
- [7] Cordeiro, MRA *et al.* Inspeção visual do colo uterino após aplicação de ácido acético no rastreamento das neoplasias intra-epiteliais e lesões induzidas por HPV. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 2005; 27-2: 51-57.
- [8] Walker, DC, Brown, BH, *et al.*, Modelling the electrical impedivity of normal and premalignant cervical tissue. *Electron. Lett.* 2000; 36: 1603-1604.
- [9] Grimnes S, Martinsen ØG. *Bioimpedance and bioelectricity basics*. 2th ed. Oxford: Academic Press; 2008.
- [10] Gardner MJ, Altman DG. Confidence intervals rather than P values: estimation rather than hypothesis testing. *British Medical Journal (Clin Res Ed)* 1986; 292: 746-50.
- [11] Venables, WN, Ripley, BD. *Modern Applied Statistics with S*. 4^a Edição. Nova Iorque: Springer; 2002.
- [12] Fox, J, Weisberg, S. *An {R} Companion to Applied Regression*, 2^a Edição, Thousand Oaks: Sage, 2011.
- [13] Anderson, TW. *An Introduction to Multivariate Statistical Analysis*. 3th ed. Nova Iorque: John Wiley and Sons; 2003.
- [14] Jain, AK, Duin, RPW, Mao, J, *Statistical pattern recognition: A review. IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell* ; 2000, 22: 4-37.