

**FACULDADE PATOS DE MINAS
CURSO DE BIOMEDICINA**

MIRIAN CRISTINA DA FONSECA

**RELAÇÃO DO HPV COM O TECIDO EPITELIAL
GENITAL FEMININO, NO DESENVOLVIMENTO DA
NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL DE BAIXO
OU ALTO GRAU.**

**PATOS DE MINAS
2016**

MIRIAN CRISTINA DA FONSECA

**RELAÇÃO DO HPV COM O TECIDO EPITELIAL
GENITAL FEMININO, NO DESENVOLVIMENTO DA
NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL DE BAIXO
OU ALTO GRAU.**

Artigo apresentado à Faculdade Patos de
Minas como requisito parcial para a
conclusão do Curso de Biomedicina

Orientador: Prof.^a Me. Fernando Fachinelli
Rodrigues

**PATOS DE MINAS
2016**

MIRIAN CRISTINA DA FONSECA

RELAÇÃO DO HPV COM O TECIDO EPITELIAL GENITAL
FEMININO, NO DESENVOLVIMENTO DA NEOPLASIA
INTRAEPITELIAL CERVICAL DE BAIXO OU ALTO GRAU.

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado em 03 de novembro de 2016, pela
comissão examinadora constituída pelos professores:

Orientador: _____
Prof.º Me. Fernando Fachinelli Rodrigues
Faculdade Patos de Minas

Examinador: _____
Prof.º Me. Saulo Gonçalves
Faculdade Patos de Minas

Examinador: _____
Prof.º Me. José Amir Babilônia
Faculdade Patos de Minas

RELAÇÃO DO HPV COM O TECIDO EPITELIAL GENITAL FEMININO, NO DESENVOLVIMENTO DA NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL DE BAIXO OU ALTO GRAU.

Mirian Cristina da Fonseca*

Fernando Fachinelli Rodrigues**

RESUMO

Este estudo analisa a relação do Papilomavírus humano (HPV) com o tecido epitelial genital feminino no desenvolvimento da neoplasia intraepitelial cervical (NIC) de baixo ou alto grau. O trabalho redigido teve como intuito esclarecer o mecanismo fisiopatológico no desenvolvimento das neoplasias, e tem como objetivo evidenciar a influência do HPV na formação das NICs, evidenciando as características do vírus, ciclo viral com atuação de proteínas supressoras de tumores e as principais alterações morfológicas em células epiteliais modificadas geneticamente pelo vírus. Trata-se de uma revisão bibliográfica onde foram utilizados artigos científicos, monografias e livros. Conclui-se que o HPV de baixo risco oncogênico está diretamente ligado ao desenvolvimento de neoplasias intraepiteliais cervicais de baixo grau, já o HPV de alto risco oncogênico está relacionado ao desenvolvimento de neoplasias intraepiteliais cervicais de alto grau, podendo progredir gerando câncer invasor.

Palavras-chave: Papilomavírus humano. Neoplasia intraepitelial cervical. Citologia Oncótica.

ABSTRACT

This study analyses the relation between human papillomavirus (HPV) with female genital epithelial tissue in the development of high or low grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN). The written paper was intended to clarify the pathophysiological mechanism in the development of neoplasias, it aims to show the influence of HPV in formation of CINs, showing the characteristics of the virus, the activity of tumour suppressor protein in the viral cycle and the main morphological changes in epithelial cells genetically modified by the virus. This paper it's a bibliographic revision, where scientific articles, monographs and books where used. It has come to conclusion that HPV of low oncogenic risk is directly linked to the development of low-grade cervical intraepithelial neoplasia, however the HPV of high oncogenic risk is directly linked to the development of high grade cervical intraepithelial neoplasia, which can progress to invasive cancer.

Keywords: Human papillomavirus, Cervical intraepithelial neoplasia, Oncotic Cytology.

*Aluna do Curso de Biomedicina da Faculdade Patos de Minas - FPM formando no ano de 2016
e-mail do aluno: miriancfonseca@hotmail.com

**Docente do curso de Biomedicina pela Faculdade Patos de Minas - FPM. Mestre em Biopatologia pela Universidade de Uberaba- UNIUBE e-mail: aulapatologia@hotmail.com

INTRODUÇÃO

O câncer de colo de útero é o terceiro tipo de tumor com maior incidência na população feminina, no Brasil é considerado a quarta causa de morte de mulheres em comparação outros tipos de neoplasias. ⁽¹⁾

A neoplasia intraepitelial cervical (NIC) é classificada de acordo com seu grau evolutivo, NIC I representa uma lesão de baixo grau, NIC II e NIC III são consideradas lesões de alto grau. ⁽²⁾

Muitos fatores podem apresentar relação com o desenvolvimento de neoplasias, como tabagismo, uso de anticoncepcionais, múltiplos parceiros sexuais, imunossupressão, porém o principal fator é o Papilomavírus humano (HPV). ⁽¹⁾

Os tipos de HPV são classificados por ordem de baixo grau oncogênico ou alto grau oncogênico. ⁽³⁾

Acredita-se que a ligação entre o HPV e as neoplasias tem como principal fator o grau oncogênico do vírus e sua ação nas células do hospedeiro. ⁽⁴⁾

Devido ao fato do HPV ser um dos principais fatores que favorece o desenvolvimento das neoplasias intraepiteliais cervicais, ele também está relacionado com a alta incidência de câncer do colo uterino. Com base nisso, torna-se pertinente esta pesquisa com intuito de elucidar e esclarecer seus principais aspectos fisiológicos, patológicos, moleculares e de qual maneira ocorre o mecanismo fisiopatológico no desenvolvimento das neoplasias.

Este trabalho tem como objetivo evidenciar a forma que o HPV influencia na formação de neoplasias cervicais, suas características moleculares, como ocorre sua síntese proteica e alterações microscópicas em células epiteliais modificadas geneticamente pelo vírus.

O trabalho é de natureza qualitativa foi realizado a partir do estudo exploratório, por meio de pesquisas bibliográficas, artigos científicos, monografias e livros.

Foram utilizados vinte e cinco artigos científicos nacionais disponíveis *online* em texto completo encontrados em bases de dados Scielo, Lilacs, BVS. Foi utilizada uma monografia e dois livros. Os seguintes descritores foram empregados nas buscas: Vírus HPV, câncer de colo uterino, ciclo celular, neoplasia intraepitelial cervical, citologia oncótica.

PAPILOMAVÍRUS HUMANO

No início do século XX, começaram as primeiras pesquisas sobre HPV. Em 1935, Rous relatou uma possível relação entre o HPV e verrugas em coelhos, já em 1949 foi observado o primeiro caso de verrugas em humanos. Na década de 1970, Hausman propôs que células neoplásicas poderiam conter o DNA do vírus agregado em seu genoma. Por volta de 1983, ele afirmou que o HPV 16 e 18 estava relacionado com a maioria dos casos de câncer de colo de útero. Na década de 80 os estudos sobre o Papilomavírus Humano foram aprofundados, com isso foi publicado o primeiro trabalho sobre o HPV e sua relação com o câncer de colo uterino. ^(5, 6)

A nomenclatura do papilomavírus humano foi formada do latim papila que significa projeção ou saliência em forma de mamilo, já “oma” é um sufixo utilizado para descrever tumores e doenças cancerígenas, são descrições utilizadas pelos antigos médicos gregos. Sendo nomeados conforme a espécie de animais que foram contaminados, como por exemplo: Bovine papillomavirus (BPV), human papillomavirus (HPV). Os tipos de HPV foram nomeados numericamente de acordo com seu descobrimento. ⁽⁷⁾

Diferente de outros tipos de vírus a transmissão do HPV se dá através de contato direto com o epitélio oral, vaginal ou anal. Podendo causar infecções virais que podem acabar desenvolvendo neoplasias. ^(1, 5)

Os tipos de HPV são separados de acordo com seu tropismo tecidual, sua classificação é de acordo com semelhanças do seu genoma. Pode-se diferenciar até 2% na região codificante e 5% na longa região de controle (LCR). Conseqüentemente, pequenas mudanças no seu genoma originam diferentes tipos de HPV. Cerca de 40 tipos atingem a região anogenital, dos quais aproximadamente, 18 são oncogênicos, são eles, HPV 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 53, 58, 59, 63, 66, 68, e 82. Os demais tipos genitais, HPV 6, 11, 42, 43 e 44, são considerados de baixo risco oncogênico. ^(3, 5, 8)

O HPV pertence à família papillomaviridae, gênero papilomavírus. São considerados vírus de DNA, medem aproximadamente 50-55 nm, são vírus não envelopados, com forma icosaédrica, seu genoma possui DNA de fita circular com cerca de oito mil pares de bases. A partícula viral é composta por um capsídeo que

é uma capa proteica envolvendo seu genoma, ele mede cerca de 2nm de espessura e é constituído por com 72 capsômeros formados por proteínas L1 e L2 que são encarregadas da resposta imunológica. (5, 6, 7, 9, 10, 11,)

O genoma viral é formado pelas seguintes regiões. A região precoce Early (E) que é composta de oito genes, esses genes possuem as seguintes funções: E1 e E2 replicação de vírus, já a transcrição viral é realizado por E2, o gene E4 é responsável pela maturação o e liberação de partículas, já os genes E5, E6 e E7 realizam a transformação celular, os genes E6 e E7 codificam proteínas relacionadas à malignidade, eles também tem função de imortalização. (6, 7, 9, 10,)

A região Late (L) é considerada uma região tardia, possui dois genes, sendo eles L1 e L2, estes tem como função codificar proteínas do capsídeo. O L1 representa a maior parte de proteínas do capsídeo viral e possui uma grande resposta imunológica, o gene L2 codifica proteínas de forma secundária. A região LCR age diretamente no núcleo do hospedeiro realizando replicação viral. (6, 7, 9, 10)

O ciclo celular é dividido em quatro estágios sendo eles: G1, S, G2 e M. Na fase G1 têm início a ativação de uma série de genes, como proto-oncogenes, síntese de ribossomos e tradução de proteínas, nela as células aumentam o seu tamanho e se preparam para copiar o DNA. Na fase S ocorre a duplicação do DNA. O estágio G2 é fase pré-mitótica. A última fase é a M, onde ocorre a divisão do núcleo, esta é uma divisão mitótica onde uma célula-mãe vai originar células-filhas iguais, essas células já voltam para o estágio G1 dando continuidade ao ciclo celular. (11,12)

Algumas proteínas são inibidoras e pausam o ciclo celular. As proteínas inibidoras p15 e p16 bloqueiam componentes necessários como o CDK e ciclinas (que formam um complexo ciclina-CDK que atuam na hiperfosforilação da pRB) e estão envolvidas no avanço do ciclo celular, esse bloqueio impede a progressão do estágio G1 para o estágio S. (12)

O gene supressor de tumor pRB tem um papel fundamental neste ciclo. A pRB controla o avanço do estágio G para o S. A proteína E2F (proteína de regulação gênica) tem como função estimular a transcrição de genes relacionados na fase S do ciclo celular. Assim a pRB ativada permanece ligada a E2F, desta forma a proteína E2F fica inativa não iniciando a fase S, caso a pRB por ação do complexo ciclina-CDK for hiperfosforilada, ela será inativada e separada da proteína E2F, dando assim continuidade ao ciclo. O p21 e p16 (conhecidos como CDKIs) tem a

função de inibir a ação da CDK, como a pRB necessita do complexo ciclina-CDK para se desligar da E2F, sua inibição terá como resultado a parada do ciclo na fase G1. ⁽¹¹⁾

As células do corpo humano possuem mecanismo que controlam a divisão da célula, a apoptose é um desses mecanismos e é usado quando ocorrem mutações nos genes das células. A proteína p53 possui as seguintes funções, a pausa do ciclo celular em células com alteração do DNA, reparação do DNA, apoptose quando o reparo do DNA não for reversível e ativação dos genes GADD45 e BAX. Quando o ciclo é parado em G1 por ação da CDKI, o gene GADD45 tenta fazer a reparação do dano do DNA da célula, caso o dano não possa ser reparado, o gene BAX vai induzir a apoptose celular. ^(11,12)

O ciclo celular do HPV tem início quando o vírus entra em células profundas, sendo células que fazem mitose e não tão diferenciadas do epitélio escamoso, o acesso viral se dá por aberturas nessas células. Logo após essa infecção, estudos indicam que o vírus mantém seu genoma com o número baixo de cópias. Os genes E1, E2, E6 e E7 não tem uma expressão de alto nível nessa fase, eficiente somente para a preservação genômica do vírus. ^(7,11)

O HPV penetra na célula através das proteínas do capsídeo, após a penetração ele perde seu capsídeo, deixando seu DNA exposto e permitindo assim a atuação de enzimas nucleares, o que permite a expressão do vírus. ⁽⁷⁾

A regulação viral depende das células infectadas. O ciclo celular normal de acordo com Doorbar apresenta cinco fases, sendo elas: infecção, manutenção do genoma, proliferação, amplificação genômica e liberação de novas partículas. ⁽¹¹⁾

O ciclo celular do HPV passa por algumas etapas desde sua infecção até a síntese e liberação de partículas virais. A produção de partículas virais acontece nas camadas médias e superiores do epitélio, os genes E1, E2, E4 e E5 atuam na amplificação do HPV. L1 e L2 codificam as proteínas do capsídeo viral e estão associados ao gene E4, esse está relacionado à maturação e replicação do vírus. As partículas são liberadas na superfície do epitélio sem danificar as células hospedeiras. Os HPVs de alto risco oncogênico tendem a ligar seu genoma ao da célula hospedeira, durante este processo o vírus pode vir a perder seu gene E4 e parte do gene E2, que tem como função a transcrição viral, aumentando assim a manifestação dos genes E6 e E7. ⁽¹¹⁾

A replicação viral ocorre somente no núcleo da célula hospedeira. No caso de lesões de baixo risco oncogênico, que é o caso dos HPVs 6 e 11, o genoma viral se encontra separado do DNA celular, já em lesões de alto risco, como dos HPVs 16 e 18, o DNA do vírus se une as células hospedeiras, com isso ocorre a quebra do genoma viral. Conseqüentemente alguns genes perdem sua função, tendo maior ação dos genes E6 e E7 desalinhando o ciclo normal. ⁽⁵⁾

O gene E7 no HPV de alto risco impede a função da pRB, esta atua na fase G1 não a deixando avançar para a fase S, como o E7 degrada a pRB, a proteína E2F fica livre, conseqüentemente ocorre um aumento da proliferação de células infectadas. ⁽⁵⁾

Com a pRB inativa ocorre a proliferação celular, aumentando a atividade da p16 que é uma CDKI e tem o controle da sua expressão por feedback negativo feito pela pRB. ⁽¹¹⁾

A E7 também se liga a p21 e p27 que também são CDKIs, provocando sua inativação e com isso perdendo o controle do ciclo celular. ⁽⁹⁾

O gene E6 e E7 se ligam a p53 causando sua degradação, isto causa imortalização e proliferação anormal da célula. A E6 degrada a BAX que é uma proteína relacionada a apoptose impedindo assim processo e levando ao desenvolvimento do tumor. ⁽¹¹⁾

A alteração no mecanismo de ação das pRB e p53 tem como resultado a proliferação celular de células basais desordenadas, modificando suas características e expandindo um pool de partículas virais. ⁽⁵⁾

Quando ocorre uma invasão do vírus HPV, os queratinócitos indiferenciados, por estarem nas camadas basais, são os primeiros a serem infectados, esses tem como função liberar receptores que reconhecem patógenos. Essas células expressam TLR 9 e TRL 3, o TLR 9 liga-se ao DNA viral, já o TRL 3 identifica tanto o RNA de fita simples quanto o RNA de fita dupla, com isso ocorre a ativação direta dos NFK-B, conseqüentemente ocorre a liberação de citocinas e de interferons do tipo 1. ⁽¹³⁾

O vírus do HPV acomete o queratinócito quando ele está se diferenciando, com isso não ocorre citólise induzida e nem necrose, não apresentando assim uma resposta inflamatória adequada, isso se dá pelo fato das citocinas pró- inflamatórias terem uma elevação menor ou mesmo não serem liberadas e isso é de extrema

importância para que as células apresentadoras de antígenos (APCs) sejam ativadas e migrem para o local. ⁽¹⁴⁾

No útero a apresentação de antígenos é realizada pelas células de Langerhans, são células dendríticas intraepiteliais que migram para os linfonodos para apresentar o antígeno às células T, esses iriam se diferenciar e voltar para o local da infecção, combatendo o patógeno e destruindo as células infectadas. Porém um fator que favorece a prevalência do HPV é que a proporção de células de Langerhans é inversamente proporcional ao grau de seriedade da lesão provocada, ou seja, quanto maior a severidade da lesão menor será a resposta imune. ^(14,15)

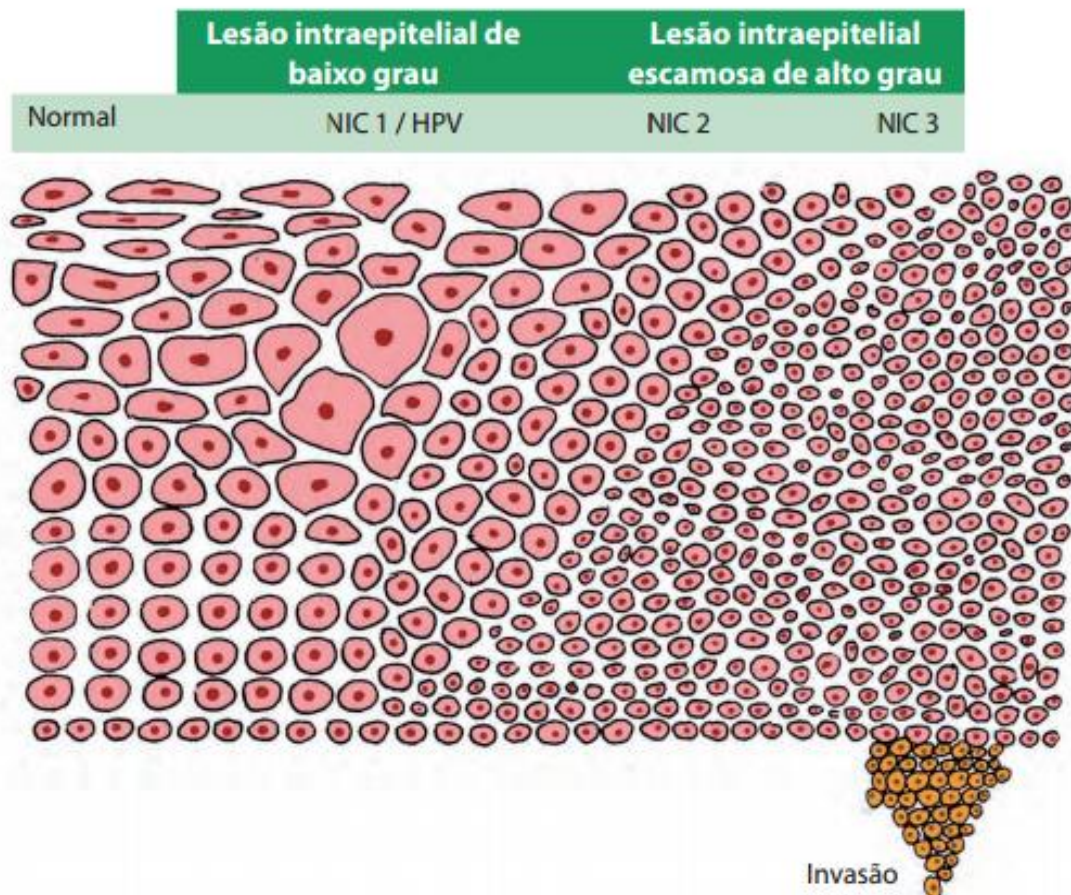
No caso de lesões de baixo grau, como por exemplo, em verrugas vulgares provocadas pelo HPV 6 e 11, o sistema imunológico é direcionado à proteínas precoces do vírus, como E2 e E6, resultando em uma resposta imunológica bem sucedida e com desaparecimento das lesões no decorrer do tempo. ⁽¹⁴⁾

ALTERAÇÕES MICROSCÓPICAS E MORFOLOGICAS DAS NEOPLASIAS INTRAEPITELIAIS CERVICAIS.

A neoplasia intraepitelial cervical é uma lesão que se prolifera através de uma maturação atípica, de acordo com seu grau evolutivo ela pode acometer partes ou todo o epitélio escamoso cervical. ⁽¹⁶⁾

Em 1967, Richart classificou as displasias cervicais em NIC I, NIC II e NIC III, sendo consideradas displasias leves, moderadas e graves. NIC I apresenta células atípicas no interior do epitélio escamoso, para ter classificação NIC II, as células atípicas teriam que estar presentes em dois terços do epitélio escamoso, no caso de NIC III, essas células teria que afetar mais de dois terços ou o epitélio escamoso em sua totalidade. Essas lesões são consideradas alterações que precedem o câncer invasor. Essas classificações serão demonstradas na fig. 1. ⁽¹⁶⁾

Figura 1: Ilustração de celular demonstrando a evolução de displasias ate células com carcinoma in situ.



Fonte: 17

No ano de 1988, surgiu nos Estados Unidos da América a classificação de Bethesda, esta classificação tem como objetivo corrigir falhas na classificação de Papanicolau, tornando os laudos de citologia mais uniforme. Nessa classificação a lesão intraepitelial escamosa de baixo grau passou a ser considerada LSIL (*Low grade squamous intraepithelial lesion*), sendo consideradas nesta classe lesões sugestivas de HPV e NIC I, já lesões intraepiteliais de alto grau passaram para a classificação HSIL (*High grade squamous intraepithelial lesion*), esta classificação inclui casos de NIC II e NIC III. ⁽¹⁸⁾

Em 1991, a classificação de Bethesda foi revista onde adicionaram uma nova classe, ASCUS (atípicas escamosas de significado indeterminado) ocupando

espaços vazios na classificação anterior. Nesta classe são colocadas alterações inflamatórias sem presença de coilocitos, que é considerada uma célula exclusiva de infecção provocada por HPV, ou seja, esfregaços que podem ser anormais, porém possuem possibilidades futuras de neoplasias intraepitelial cervical. ⁽¹⁸⁾

No ano de 2001 a classificação sofreu uma nova alteração, ASCUS passou a ser denominada de ASC (células escamosas atípicas) e em caso de suspeita de uma possível lesão de alto grau passou a ser chamado de ASC-H. ⁽¹⁸⁾

O meio mais utilizado para o diagnóstico dessas neoplasias seria através do exame citológico do Papanicolau. Neste exame serão coletadas células esfoliadas do colo uterino, essas células serão transferidas para uma lâmina, colocadas em um líquido fixador e transportadas para o laboratório responsável, onde serão coradas para a realização de análise microscópica. O Papanicolau permite a detecção de células atípicas em diferentes graus de lesão. ⁽¹⁹⁾

A partir do exame de Papanicolau serão observadas alterações microscópicas, tanto nucleares quanto citoplasmáticas, que vão indicar malignidade. ^(17,20)

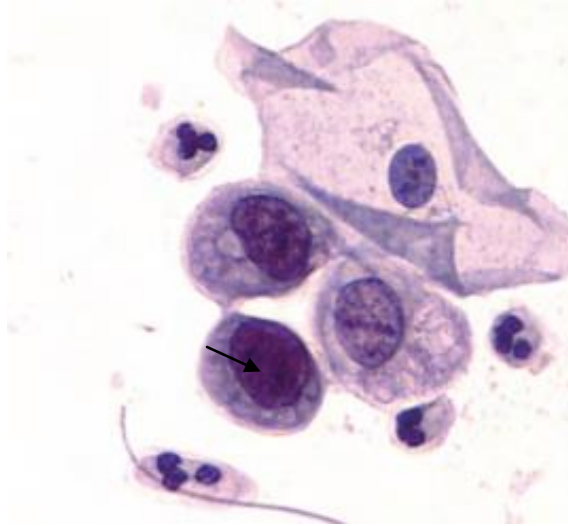
O genoma humano é formado por informações genéticas que são distribuídas em cromossomos. Cada célula diploide do ser humano possui 46 cromossomos. O DNA dos cromossomos é embrulhado com a ajuda de proteínas especializadas chamadas de histonas e não histonas, em uma estrutura consistente. O agrupamento dessas proteínas com o DNA nuclear é denominado de cromatina. ⁽²¹⁾

A cromatina é dividida em heterocromatina, ela é compacta e transcricionalmente inativa e possui ligação com proteínas da lâmina nuclear junto à superfície interna de envelope nuclear, e a eucromatina, esta é ativa e possui localização central no núcleo. ⁽²¹⁾

A cromatina são filamentos organizados em uma rede, uniformemente arranjados através do núcleo, a maior parte do núcleo possui cromatina granular e de distribuição uniforme. ⁽²¹⁾

A hipercromasia (fig.2) é uma alteração nuclear que acontece devido à elevação do tamanho da cromatina. Na sua coloração a hematoxilina apresenta-se em tons escuros, até mesmo pretos. ⁽²⁰⁾

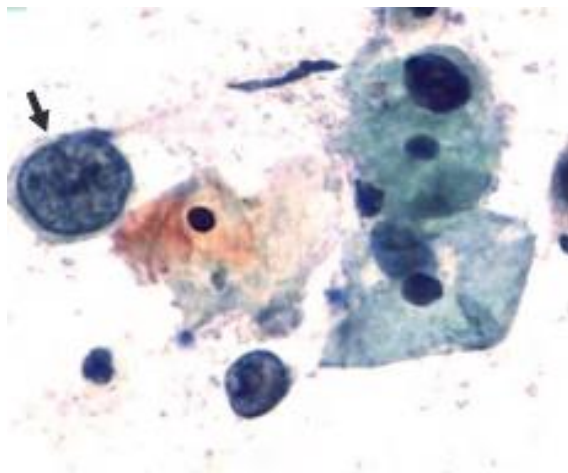
Figura 2: Papanicolaou, 400x. Apresenta uma lesão intraepitelial escamosa de alto grau (NIC II). Aumento do volume do núcleo, aumento da relação nucleocitoplasma, leve alteração da forma nuclear e hiperchromasia.



Fonte: 17

As irregularidades da margem e da forma do núcleo (fig. 3) ocorrem devido a uma alteração na heterocromatina, gerando um espaçamento da margem do núcleo. Portanto, este pleomorfismo não está exatamente esclarecido e acredita-se que essa modificação é causada pelas mutações genéticas que ocorrem no início da carcinogênese. ⁽²¹⁾

Figura 3: Papanicolaou, 400x. A célula sinalizada apresenta espaçamento irregular da borda do núcleo.

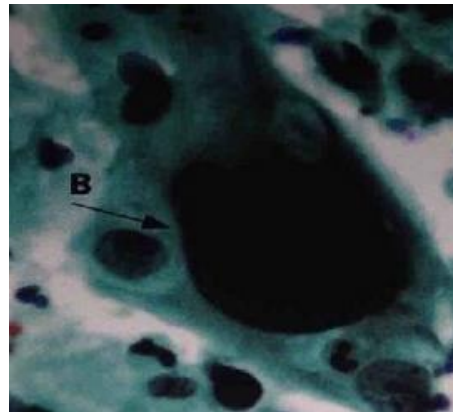


Fonte: 17

Considerado uma alteração nuclear, a cariomegalia é caracterizada pelo aumento irregular do núcleo, aumentado de tal maneira que praticamente toda a célula será preenchida por ele, nesta alteração o citoplasma será observado somente na borda da célula. ⁽²⁰⁾

O aumento do núcleo em relação ao citoplasma (fig.4) pode ocorrer tanto em LSIL quanto em HSIL. Nesta alteração o tamanho do núcleo não se encontra proporcional ao tamanho do citoplasma, o aumento nuclear está ligado diretamente ao aumento de DNA presente no núcleo. ⁽²¹⁾

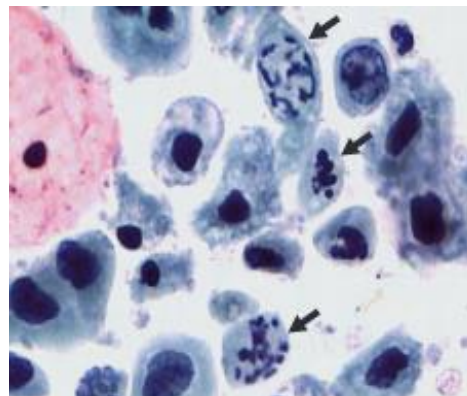
Figura 4: Papanicolaou, 400x. Aumento em relação núcleo/citoplasma e hiperchromasia.



Fonte: 21

Mitoses (fig.5) não são muito frequentes em esfregaços citológicos e não é considerado um fator de malignidade, porém devido ao fato do HPV de alto risco oncogênico apresentar mitose de forma irregular, este fator pode ser relacionado a um possível caso de malignidade. ^(20, 21)

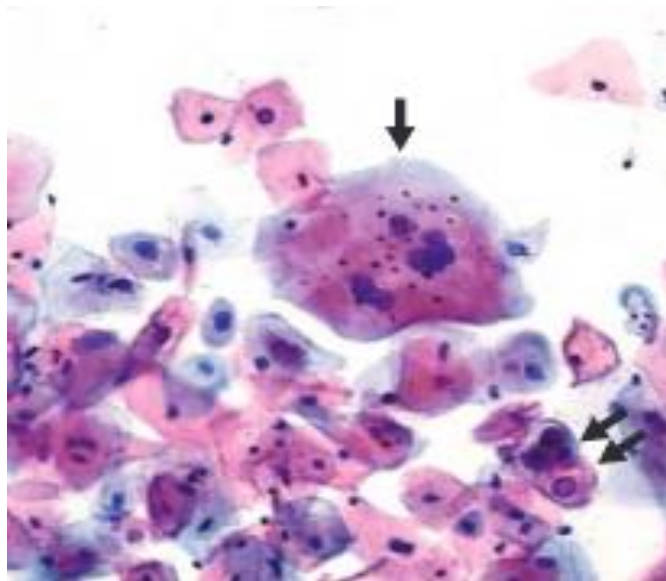
Figura 5: Papanicolaou, 400x. Presença de núcleos irregulares e mitose anormal nas setas.



Fonte: 17

A multinucleação (fig.6) não é considerada um fator primordial na indicação de câncer de colo uterino. Essa alteração é muito comum em células benignas ou em pacientes que passaram por radioterapia, porém quando a multinucleação é acompanhada de outra alteração ela é um indicativo de malignidade. ⁽²⁰⁾

Figura 6: Papanicolaou, 100x. Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (NIC I). Apresenta multinucleação na seta. Na dupla seta tem a presença de coilócitos o que associa essa lesão ao HPV.



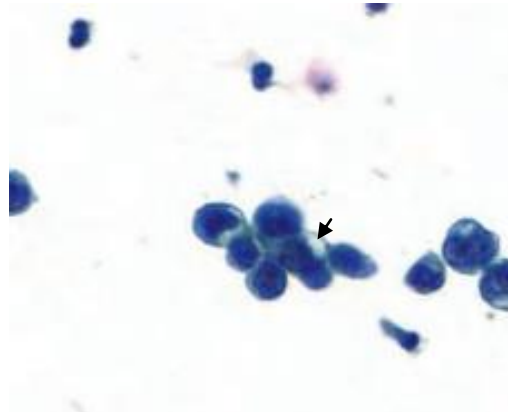
Fonte: 17

Alterações na morfologia celular é uma propriedade fundamental para a definição de tumores malignos. Estas modificações morfológicas ocorrem com maior frequência no núcleo. Porém o citoplasma também exibe algumas modificações que são capazes de mostrar um sinal de malignidade. ^(20, 21)

A coloração do citoplasma não pode ser considerada um fator primordial de malignidade devido ao fato de não possuir uma vasta variação de cores. As células malignas tendem a ser cianofílicas, porém são necessárias outras alterações para um diagnóstico preciso de malignidade. ⁽²⁰⁾

Os vacúolos citoplasmáticos (fig.7) são considerados um critério de malignidade. Estes vacúolos são observados no citoplasma onde empurram o núcleo para periferia celular. ⁽²¹⁾

Figura 7: Papanicolaou, 100x. Lesão intraepitelial escamosa de alto grau (NIC III). Presença de alguns vacúolos citoplasmáticos.



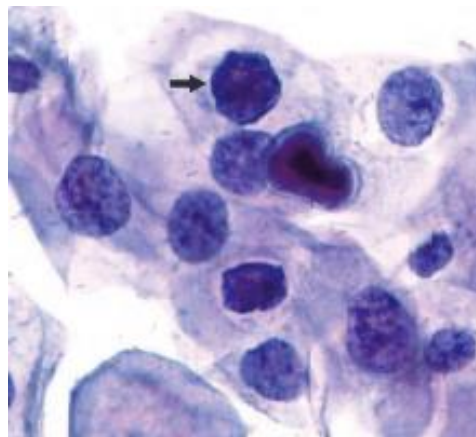
Fonte: 17

As células coilocíticas (fig.8) é uma alteração exclusiva do HPV. Essa alteração não significa malignidade, porém requer um acompanhamento citológico mais rígido, onde exames citológicos devem ser feitos pelo menos duas vezes ao ano. ⁽²⁰⁾

Coilócitos é caracterizado por um espaço irregular e claro no citoplasma e ao redor do núcleo. Pode estar presentes tanto em esfregaços eosinofílicos quanto cianofílicos, ocupando na maioria das vezes todo o citoplasma. ⁽²⁰⁾

Os coilócitos não aparecem frequentemente nos esfregaços citológicos, eles possuem um aparecimento maior em lesões de baixo grau do que em lesões de alto grau. ⁽¹⁷⁾

Figura 8: Papanicolaou, 400x. Apresenta uma lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (NIC I). Aumento do volume do núcleo, hiperchromasia. A célula na seta exibe coilocitose.



Fonte: (17)

Porém existem outras alterações, tanto nucleares quanto citoplasmáticas, que podem estar relacionadas com a malignidade. Outros critérios como hemácias, leucócitos e células endometriais fora do período menstrual ou após a menopausa, servem como um sinal de alerta para malignidade. ⁽²¹⁾

DIAGNÓSTICO

No Brasil diversos casos de câncer de colo de útero são diagnosticados anualmente e praticamente todos os casos possuem relação com o HPV. Por esse motivo diversas maneiras de diagnósticos foram aderidas, visando testes mais evoluídos e uma maior facilidade de diagnóstico em diferentes tipos de lesões. ⁽²²⁾

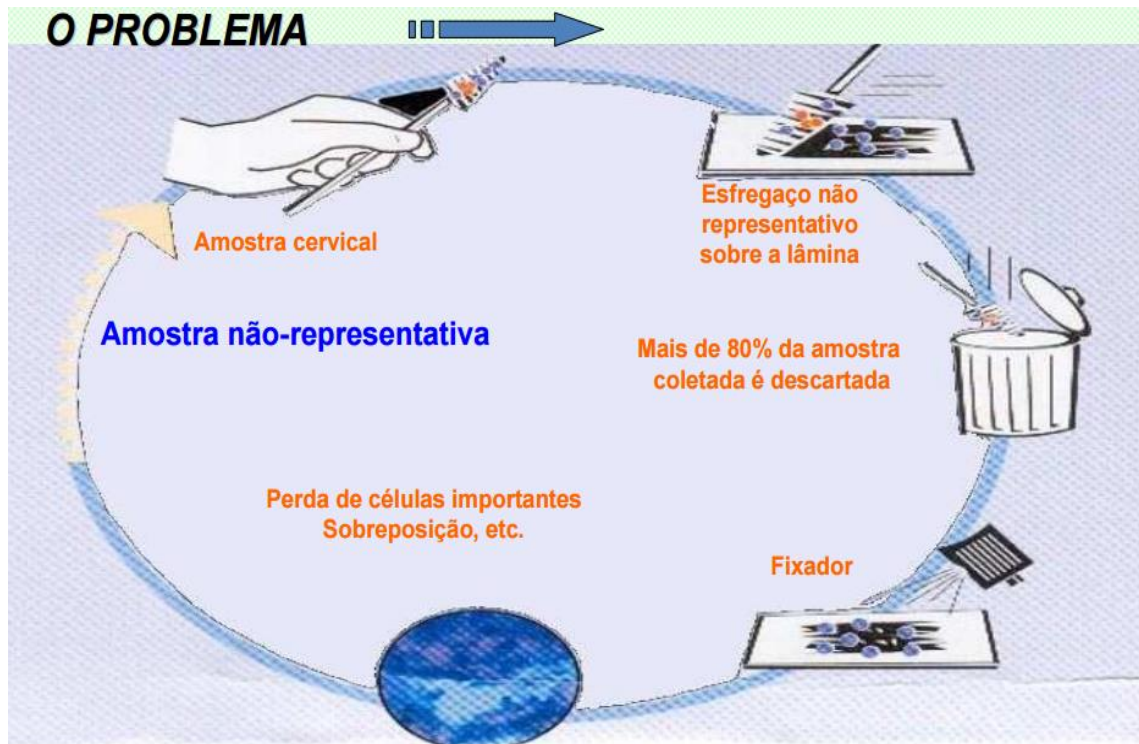
Diferente de outros tipos de vírus, o HPV não pode ser implantado em laboratório, conseqüentemente o diagnóstico de infecção do HPV, se dá primeiramente pela citologia. Com isso, foram desenvolvidos novos métodos para facilitar sua detecção, esses novos métodos utilizam biologia molecular, que é capaz de identificar as sequências de DNA desse vírus. ⁽²³⁾

Embora não seja um diagnóstico exclusivo para o HPV, a citologia cervical se enquadra em uma das formas de diagnóstico mais utilizado, visando uma excelente eficácia e ótimo custo benefício. ^(22,24)

A citologia convencional foi aderida em 1940, por George Papanicolau. A sua eficácia é totalmente dependente de uma coleta adequada, onde não podem ocorrer erros na preparação da lâmina e em sua coloração. Para um esfregaço citológico ser considerado satisfatório, ele deverá apresentar uma quantidade significativa de células epiteliais, tanto ectocervicais quanto endocervicais. Na qual será necessário uma boa fixação do esfregaço na lâmina, não apresentando ressecamento e contendo o mínimo de artefatos possíveis. ⁽²⁴⁾

Devido ao fato da citologia convencional apresentar uma taxa elevada de resultados falsos negativos, é um método muito criticado, podendo apresentar erros em diversas partes da preparação da lâmina, como demonstrado na figura 9. ⁽¹⁶⁾

Figura 9: Alguns problemas na preparação da lamina na citologia convencional.



Fonte: 25

Na década de 90, foi apresentada uma nova forma de diagnóstico através da citologia cervical, a citologia de base líquida. Ela apresenta um método, no qual ocorre uma maior preservação das células, tanto para avaliações microscópicas quanto para ácidos nucleicos usados em testes biomoleculares. ⁽²⁶⁾

Esse método visa diminuir a presença de artefatos e a preservação celular. Sua coleta é semelhante ao método de citologia convencional, porém ela é colocada diretamente em um meio líquido. O material coletado é centrifugado e transferido para um filtro. ^(16,24)

A citologia em meio líquido permite que a quantidade de lâminas insatisfatórias e resultados falso-negativos sejam reduzidos. Entretanto esse método possui um custo benefício alto, isso acaba dificultando sua utilização apesar desse método ter uma eficácia maior em comparação ao convencional. ⁽¹⁶⁾

A colposcopia é um procedimento que visualiza diretamente o colo do útero utilizando uma lente de aumento e alguns reagentes, esse método é capaz de identificar e caracterizar lesões intraepiteliais cervicais. Permitindo assim um melhor direcionamento para efetuar a biópsia. ⁽¹⁶⁾

A captura híbrida II é outro método de diagnóstico para o HPV, é indicativa a realização deste teste juntamente com o Papanicolaou. A junção da citologia com a biologia molecular pode aumentar a sensibilidade do diagnóstico. No entanto, o alto custo de exames de HPV acaba sendo um empecilho para um melhor diagnóstico, pois provoca uma difícil aceitação nos programas de rastreamento ao câncer de colo uterino. ⁽¹⁹⁾

O diagnóstico através de captura híbrida II tem como objetivo detectar dezoito tipos de HPV, podendo ser de alto ou baixo grau oncogênico. ^(27, 28)

O procedimento da captura híbrida II passa por cinco etapas, sendo elas, desnaturação, hibridação, captura de híbridos, reação conjugada aos híbridos, e no fim os híbridos são detectados por quimiluminescência. ⁽²⁶⁾

Com a emissão da luz a carga do vírus é detectada, quando a unidade de luz relativa é menor que 1pg/ml essa amostra é considerada negativa, em amostras equivalentes a 1pg/ml são considerados HPV de baixo grau, já em casos de uma carga viral maior que 1pg/ml são vírus de alto grau oncogênico. ⁽²⁸⁾

A hibridização *in situ*, utiliza DNA ou RNA adquirido através de exames de citologia cervical ou cortes teciduais, após a coleta, são usados ácidos nucleicos marcados com sonda do material. Com isso, ocorre à formação de pontes de hidrogênio da sonda com o DNA do vírus, sua visualização é realizada a partir de marcadores fluorescentes ou radioativos que estão aderidos a sonda, o que permite a detecção das sequências dos ácidos nucleicos do HPV. ⁽²⁷⁾

O PCR (reação na cadeia de polimerase) é utilizado para detectar alterações genéticas ou infecções provocadas por diferentes tipos de agentes, no caso de infecções causadas pelo HPV ele apresenta uma maior sensibilidade, é considerado um teste qualitativo e quantitativo podendo diagnosticar a quantidade de material genético viral na amostra. O PCR tem um papel muito importante, pois permite identificar se o vírus é de baixo ou alto grau oncogênico. ⁽²⁷⁾

O PCR é um método baseado na amplificação enzimática de DNA do HPV. Essa técnica é dividida em dois tipos de diagnóstico. O método de PCR genérico faz uso de primers (oligonucleotídeos) iniciadores específicos que detectam vários tipos de HPV em somente uma amplificação. Esses primers utilizados miram regiões conservadas do vírus, como a região L1, que é uma proteína que codifica o genoma viral. Já a PCR específica é utilizada para detectar o tipo do vírus, ela atua nas

variações que estão nos genes E6 e E7 de cada tipo do HPV, estes apresentam variação nucleotídicas que determina a patogenia do vírus. ⁽²⁷⁾

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ligação entre o HPV e o desenvolvimento de neoplasias intraepiteliais cervicais está bem estabelecida. O HPV de alto risco oncogênico, como os HPV 16 e 18, adere seu DNA ao da célula hospedeira, perdendo funções dos genes E2 e E4, com isso ocorre maior expressão dos genes E6 e E7, estes interferem na atuação de algumas proteínas supressoras de tumor como a pRB e p53, desregulando o ciclo celular. Conseqüentemente ocorre uma replicação viral desordenada levando ao desenvolvimento dessas neoplasias.

O HPV possui uma resposta imunológica falha, isso se dá devido a alguns fatores, um deles é que o HPV acomete o queratinócito que está se diferenciando com isso não ocorre a citólise induzida, não liberando citocinas para que as APCs sejam ativadas. As células apresentadoras de antígenos ativadas têm como função apresentar antígenos para os linfócitos T, para combater o patógeno, porém um grande problema da resposta imune do HPV é o fato de que a quantidade de APCs é inversamente proporcional ao grau da lesão, ou seja, quanto mais severa a lesão menor é a quantidade de APCs e conseqüentemente menor a resposta imunológica.

Antigamente as neoplasias eram classificadas em NIC I, NIC II e NIC III, sendo lesões de grau leve, moderado e grave. Hoje em dia, usa-se a classificação de Bethesda, onde lesões sugestivas de HPV e NIC I são classificadas como LSIL e NIC II e NIC III são classificadas como HSIL.

No Brasil são diagnosticados muitos casos de câncer de colo uterino e a grande maioria deles tem relação com o HPV.

O meio de diagnóstico mais utilizado é o exame citológico de Papanicolau, este permite detectar células atípicas presentes em diferentes lesões, associando alterações morfológicas com a presença de células malignas.

Outros testes como o de captura híbrida II e PCR podem ser usados no diagnóstico de HPV, esses podem detectar a presença do vírus e o seu grau oncogênico. Porém, essas técnicas de biologia molecular possuem um custo muito elevado, dificultado o acesso às esses tipos de diagnóstico.

É muito importante a realização do exame citológico pelo menos uma vez ao ano, pelo fato de permitir a detecção de alterações celulares que podem diagnosticar lesões em diferentes graus, como LSIL, HSIL e câncer invasor. Com isso, quanto mais precoce for o diagnóstico, menos chance essa neoplasia de baixo grau terá de se desenvolver para uma neoplasia de alto grau ou mesmo invasora.

REFERÊNCIAS

1. França MCA, França MCS, Moraes SDS. Conhecimento de mulheres acerca do Papilomavírus Humano e sua relação com o câncer de colo uterino. *Cogitare Enfermagem*. 2013; 18(3): 509-14.
2. Melo SCCS, Prates L, Carvalho MDB, Marcon SS, Pelloso SM, Alterações citopatológicas e fatores de risco para ocorrência do câncer de colo uterino. *Rev. Gaúcha Enfermagem*. Porto Alegre (RS) 2009; 30(4): 602-8.
3. Silva TT, Guimarães ML, Maria IC, Pinheiro MFG, Maia AF. Identificação de tipos de papilomavirus e outros fatores de risco para neoplasias intra-epitelial cervical. *RBGO*. Rio de Janeiro (RJ) 2006; 28(5): 285-91.
4. Pitta DR, Campos EA, Sarian LO, Rovella MS, Derchain SFM. Prevalência dos HPV 16, 18, 45 e 31 em mulheres com lesão cervical. *RBGO*. Campinas (SP) 2010; 32(7): 315-20.
5. Rosa MI, Medeiros LR, Rosa DD, Bozzeti MC, Silva FR, Silva BR. Papilomavírus humano e neoplasia cervical. *Cas. Saúde Pública*. Rio de Janeiro 2009; 25(5): 953-64.

6. Leto MGP, Porro AM, Junior GFS, Tominori J. Infecção pelo papilomavírus humano: etiopatogenia, biologia molecular e manifestações clínicas. Na Bras. Dermatol. São Paulo (SP) 2011; 86(2): 306-17.
7. Camara GNNL, Cruz MR, Veras VS, Martins CRF. Os papilomavírus humano HPV: histórico, morfologia e ciclo biológico. Universitas Ciencia da Saúde. 1: 149-58.
8. Bagarelli LB, Oliani AH. Tipagem e estado físico de papilomavirus humano por hibridação in situ em lesão intra-epiteliais do colo uterino. RBGO. Rio de Janeiro (RJ) 2004; 26(1): 59-64.
9. Souto R, Falhari JPB, Cruz AD. O papilomavírus humano: um fator relacionado com a formação de neoplasias. Revista Brasileira de Cancerologia. 2005; 51(2): 155-60.
10. Nakagawa JTT, Schirmer J, Marbieri M. Vírus HPV e câncer de colo de útero. Revista Brasileira de Enfermagem. Brasília 2010; 63(2): 307-11.
11. Ferraz LC, Santos ABR, Discacciat MG. Ferraz LC, Santos ABR, Discacciat MG. Ciclo celular, HPV e evolução da neoplasia intraepitelial cervical: seleção de marcadores biológicos. J Health Sci Inst. 2012; 30(2): 107-11.
12. Rivoire WA, Capp E, Corleta HVE, Silva ISB. Bases Biomoleculares da Oncogênese Cervical. Revista Brasileira de Carcerologia. Porto Alegre (RS) 2001; 47(2): 179-84.
13. Limberger A, Oliveira CF, Correa MP, Reus TL, Oda JMM, Carneiro NK, et al. Aspectos imunológicos da infecção pelo vírus do papiloma humano (HPV). Semina: Ciências Biológicas e da Saúde. Londrina (PR) 2012; 33(1): 111-22.
14. Lucena AAS, Michelin MA, Guimarães MVMB, Lodi CTC, Miranda MIL, Murta EFC, et al. Resposta imune celular ao papilomavírus humano em mulheres infectadas e não infectadas pelo HIV: perfil de citocinas. FEMINA. 2011; 39(3): 150-55.
15. Camara GNNL, Cruz MR, Veras VS, Martins CRF. Os papilomavírus humano-HPV: Carcinogênese e imunogênese. Universitas Ciência da Saúde. 1(1): 159-68.
16. Aide S, Almeida G, Val I, Junior NV, Campaner AB. Neoplasia intraepitelial cervical. Jornal Brasileiro doenças sexualmente transmissíveis. 2009; 21(4): 166-70.

17. Lima DVO. Atlas de citopatologia ginecologia [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde: CEPESC; 2012 [aceso em 2016 agosto 15]. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/atlas_citopatologia_ginecologica.pdf
18. Brito OAC. Citologia em base liquida versus citologia convencional: uma revisão [monografia]. Curitiba: Faculdade pequeno príncipe; 2012.
19. Derchain SFM, Filho AL, Syrjanem KJ. Neoplasia intra-epitelial cervical: diagnostico e tratamento. RBGO. 2005; 27(7): 425-33.
20. Carvalho G. Citologia oncológica. Belo Horizonte: Atheneu; 1993.
21. Boer CG, Silva VRS. Critérios citológicos de malignidade. In: Consolaro MEL, Maria-Engler SS. Citologia clínica cérvico-vaginal: texto e atlas. Sao Paulo: Roca; 2012; 117-31.
22. Junior JE, Cavalcante JR, Santiago RO, Silva DS. Citologia Oncótica, colposcopia e histologia no diagnostico de lesões epiteliais do colo uterino. Newslab. 2004; 63: 126-32.
23. Magalhães IM, Moyses N, Afonso LA, Oliveira LHS, Cavalanti SMB. Comparação de dois pares de oligonucleotídes utilizados na reação da cadeia de polimerase para detecção de papilomavírus humanos em esfregaços cervicais. Jornal brasileiro doenças sexualmente transmissíveis. 2008; 20(2): 93-98.
24. Anschau F, Gonçalves MAG. Citologia cervical em meio liquido versus citologia convencional. Feminina. 2006; 34(5): 339-35.
25. Correa SG. Técnicas de citologia [Internet]. Ministério da Saúde: CEDC INCA [aceso em 2016 agostos 20]. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/inca/Silene_tecnicas_citologia.pdf.
26. Pereira SMM, Yamamoto LSU, Loreto CD, Silva LA, Makabe S, Marques JA. et al. O impacto do diagnóstico citológico de atípicas indeterminadas no sistema publico de saúde. Jornal brasileiro doenças sexualmente transmissíveis. 2005; 17(4): 251-54.
27. Carmo EFS, Fiorini A. Principais técnicas moleculares para detecção do papilomavírus humano. Revista saúde e biologia. 2007; 2(1): 25-32.

28. Tulio S, Pereira LA, Neves FB, Pinto AP. Relação entre a carga viral de HPV oncogênico determinada pelo método de captura híbrida e o diagnóstico citológico de lesões de alto grau. *Jornal brasileiro de patologia e medicina laboratorial*. 2007; 43(1): 31-35.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado forças para concluir essa jornada. Ao meu orientador Fernando Fachinelli Rodrigues pela paciência e dedicação que sem seu apoio não seria possível à elaboração deste trabalho.

Agradeço especialmente aos meus pais José Jacinto de Brito e Aparecida dos Reis Fonseca de Brito e minha amiga Sara Xavier de Almeida, e por fim a todos aqueles que de alguma forma estiveram e estão próximos de mim, fazendo esta vida valer cada vez mais a pena.

Data de entrega do artigo para a banca: 23/10/2016