

A IMPORTÂNCIA DO DIAGNÓSTICO DE HPV NA DETECÇÃO DE CÂNCERES CERVICAIS.

RODRIGUES, Ana Lídia Nascimento; ROCHA, Márcia Santos da.

analidiabio23@gmail.com

Centro de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão Oswaldo Cruz

Resumo: Segundo dados do Instituto Nacional de Câncer (INCA), o câncer de colo do útero é o 2^a tipo de câncer mais comum em mulheres no mundo todo e a segunda causa de morte por câncer em mulheres, sendo o Papiloma Vírus Humano (HPV) responsável por 15% de todas as neoplasias invasoras diagnosticadas em mulheres. Esta pesquisa tem, como objetivo, avaliar a infecção pelo Papilomavírus humano e a importância do diagnóstico precoce. Trata-se de uma pesquisa descritiva, do tipo revisão bibliográfica, de aspecto qualitativo. Foram utilizadas as bases de dados Scielo, PUBMED, e periódicos da CAPES. A infecção HPV é considerada uma doença sexualmente transmissível (DST) com maior incidência e prevalência no mundo, sendo considerada pré-neoplásica. As lesões causadas pelo HPV são diagnosticadas através de métodos morfológicos que se inicia deste o exame clínico, citologia oncológica, colposcopia e histopatologia ou biópsia. Os métodos de biologia molecular: hibridizações moleculares de ácidos nucléicos, tipo Southern Blot, captura híbrida, hibridização in situ e a reação em cadeia polimerase (PCR) são utilizados para identificar o material genético viral. Na detecção de DNA viral em espécimes clínicos, a técnica de PCR demonstrou ser mais sensível, porém, a captura híbrida tende a oferecer menos risco de contaminação, sendo mais facilmente introduzida em laboratórios. A prevenção do HPV vai desde o tratamento e remoção das verrugas à prevenção do contágio desse vírus, admite-se a utilização de vacinas, métodos de barreiras nas relações sexuais (camisinhas não garante proteção total), cuidados higiênicos.

Palavras-chave: Papilomavírus humano. HPV. Câncer cervical. PCR.

Abstract: According to data from the National Cancer Institute (INCA), cervical cancer is the second most common type of cancer in women worldwide and the second leading cause of cancer death in women, with Human Papilloma Virus (HPV) responsible for 15% of all invasive neoplasms diagnosed in women. This research aims to evaluate human papillomavirus infection and the importance of early diagnosis. It is a descriptive research, of the type bibliographical revision, of qualitative aspect. The databases Scielo, PUBMED, CAPES journal, were used. HPV infection is considered a sexually transmitted disease (STD) with a higher incidence and prevalence in the world, being considered pre-neoplastic. The lesions caused by HPV are diagnosed through morphological methods, which starts from the clinical examination, oncotic cytology, colposcopy and histopathology or biopsy. Molecular biology methods: molecular hybridizations of nucleic acids, Southern Blot type, hybrid capture, in situ hybridization and polymerase chain reaction (PCR) are used to identify the viral genetic material. In the detection of viral DNA in clinical specimens, the PCR technique has been shown to be more sensitive, but hybrid capture tends to offer less risk of contamination and is more easily introduced into laboratories. The prevention of HPV ranges from the treatment and removal of warts to the prevention of the transmission of this virus, it

is possible to use vaccines, methods of barriers in sexual relations (condoms does not guarantee total protection), hygienic care.

Keywords: *Human papillomavirus. HPV. Cervical cancer. PCR.*

1 INTRODUÇÃO

Segundo dados do Instituto Nacional de Câncer (INCA), o câncer de colo do útero é o 2ª tipo de câncer mais comum em mulheres no mundo todo e a segunda causa de morte por câncer em mulheres, sendo o Papiloma Vírus Humano (HPV) responsável por 15% de todas as neoplasias invasoras diagnosticadas em mulheres. Aproximadamente 9 em cada 10 (87%) mortes ocorrem em regiões menos desenvolvidas (JORGE, 2016; INCA, 2016). No Brasil, cerca de 15.590 novos casos de câncer do colo uterino ocorreram até o ano de 2014, apresentando uma taxa de mortalidade estimada em 5.160 mortes. No ano de 2016, a expectativa foi de 16.340 casos novos de câncer de colo de útero, sendo o risco estimado em 15,85 casos a cada 100 mil mulheres (INCA, 2016).

O HPV é um vírus de DNA de dupla fita, que possui capacidade de infectar pele e mucosas de vários locais do corpo (CASTRO; NASCIMENTO; XAVIER, 2009). Já foram identificados mais de 100 tipos de HPV antigenicamente semelhantes, desses 40 apresentam capacidade de infectar a área anogenital e 18 tipos são considerados oncogênicos. Os tipos 16 e 18 são os mais frequentes, sendo que o HPV presente em 50% de todos os casos e o HPV 18 em cerca de 13,7% dos casos. Dos tipos considerados não oncogênicos, os mais frequentes são os tipos 6 e 11, ambos estão envolvidos na maioria dos condilomas e verrugas do trato genital (SÁ; SÁ; JÚNIOR GOMES, 2016).

Os HPVs são classificados em dois grupos: o de baixo risco e os HPVs de alto risco. O de baixo risco causam lesões benignas como verrugas, papiloma laríngeo e tumores anogenitais, já os de alto risco, podem também causar lesões benignas, porém estes tipos carcinogênicos estão associados ao câncer do colo de útero (PRAZERES, 2011).

Em mulheres em que existe infecção persistente por HPV de alto risco, aproximadamente 10% a 20% progride para lesão intraepitelial de alto grau e 1% pode evoluir para câncer invasivo. A detecção do DNA dos HPVs oncogênicos geralmente ocorre em quase 100% dos casos de câncer cervical, o que leva a entender que o HPV é o principal causador do câncer cervical invasivo (MARTINS, 2011).

No colo do útero, cerca de 90% das patologias associadas ao HPV tende a se localizar na transição escamo colunar do epitélio (Zona de transformação), nessa região as células proliferativas estão mais expostas. É nessa camada proliferativa que o vírus se replica e expressa suas proteínas precoces, à medida que estas células proliferativas se dividem e deslocam para a superfície, o vírus é disseminado para outras células irmãs, de forma displásica (PRAZERES, 2011).

O diagnóstico precoce do HPV, se dá através das observações de alterações morfológicas de esfregaços cervicais, conhecido como Papanicolau, é o principal método de rastreio, que identifica células malignizadas ou em processo de malignização. Porém existe uma porcentagem considerável de mulheres afetadas pela doença devido a falhas no teste de Papanicolau. Os testes específicos e confirmatórios para o vírus são as técnicas moleculares que conseguem detectar o DNA viral. As técnicas mais difundidas são a reação da polimerase em cadeia (PCR) e a captura híbrida (CH) (SANTOS; FONSECA, 2016; SÁ; SÁ; JÚNIOR GOMES, 2016).

Um meio de prevenção contra o HPV é a vacinação. No Brasil, existe dois tipos: a quadrivalente e a bivalente. Sendo que a quadrivalente protege contra os tipos 6, 11, 16 e 18,

esta foi aprovada para prevenção de lesões genitais pré-cancerosas do colo de útero, de vulva e de vagina em mulheres, e anal em ambos os sexos, assim como verrugas genitais em mulheres e homens. A vacina bivalente confere proteção contra os tipos 16 e 18, sendo aprovada para prevenção de lesões genitais pré-cancerosas do colo de útero. Em 2014, o Ministério da Saúde, através do Programa Nacional de Imunizações (PNI) ampliou o calendário Nacional de vacinação introduzindo a vacina Papilomavírus humano quadrivalente no Sistema Único de Saúde (JORGE, 2016).

Esta pesquisa tem como objetivo avaliar a infecção pelo Papilomavírus humano e a importância do diagnóstico precoce. Trata-se de uma pesquisa descritiva, do tipo revisão bibliográfica, de aspecto qualitativo. Foram utilizadas as bases de dados Scielo (*Scientific Library Eletronic*), PUBMED, periódico da CAPES. A pesquisa foi construída por artigos, teses e dissertações, publicadas a partir do ano de 2000, tanto em português como inglês. Foram utilizados como descritores: HPV, Papilomavírus humano, câncer cervical.

1.1 Epidemiologia

O câncer de colo do útero é o segundo tipo de câncer mais comum em mulheres e a segunda causa de morte por câncer mais comum em mulheres no mundo todo, no ano de 2012 foi estimado cerca de 528 mil casos novos. Este representa também a quarta causa de morte (265 mil óbitos) por câncer em mulheres no mundo (PRAZERES, 2011; LIMA JÚNIOR *et al.*, 2011). A mortalidade varia de 18 vezes entre várias regiões do mundo, as taxas variam de menos de 2 por 100.000 na Ásia Ocidental, Europa Ocidental e Austrália/Nova Zelândia, para mais de 20 por 100.000 na Melanésia (20,6), Médio (22,2) e Oriental (27,6) África (JORGE, 2016).

Segundo dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA), no ano de 2016, retirando os tumores de pele não melanoma, o câncer de colo do útero é considerado o primeiro mais incidente na região norte, o segundo tipo mais incidente nas regiões Centro-oeste e nordeste, terceiro tipo de câncer com mais incidência na região Sudeste e a 4ª na região Sul (INCA, 2016).

Estimativas dizem que no Brasil, no ano de 2014, houve aproximadamente 15.590 novos casos de câncer de colo de útero, com uma taxa de mortalidade de 5.160 mortes (SÁ; SÁ; GOMES JÚNIOR, 2016).

Estudos epidemiológicos baseados na detecção de DNA viral em materiais cérvico-vaginal, têm indicado que a prevalência da infecção genital pelo HPV em mulheres jovens que são sexualmente ativas é de cerca de 60-80%. Em mais de 99% de todos os cânceres cervical o HPV é detectado. A carga viral alta é determinante para a rápida progressão e gravidade das neoplasias intra-epiteliais (SOUZA *et al.*, 2010).

1.2 HPV e suas características

A infecção pelo Papilomavírus humano (HPV) é considerada uma doença sexualmente transmissível (DST) com maior incidência e prevalência no mundo, sendo considerada pré-neoplásica (MAGI *et al.*, 2006). Conhecida desde a antiguidade, as infecções genitais causadas pelo HPV, só começaram a chamar a atenção a partir do ano de 1980, quando houve uma correlação com o câncer de colo uterino (PRAZERES, 2011; TULIO *et al.*, 2007).

O HPV é um vírus de DNA de fita dupla, não envelopado, que pertence à família Papillomaviridae, possui 72 capsômeros dispostos em forma icosaédrica, seu capsídeo possui 55 nm de diâmetro e 20 facetas. O capsídeo é formado por 2 proteínas estruturais: a proteína

de capsídeo maior L1 de 54 kD e a proteína menor L2, de massa molar de 76 kD, as proteínas L1 e L2 são codificadas pelo genoma do vírus. Na maior parte das vezes, o HPV não apresenta sintomas e é eliminado pelo organismo espontaneamente, porém mais de 200 tipos de HPV já foram identificados, 85 genótipos já foram caracterizados, sendo que aproximadamente 40 destes infectam o trato genital feminino, a presença destes é uma condição necessária para o desenvolvimento de câncer de colo uterino, são comumente divididos em HPV de alto e de baixo risco (SANTOS; FONSECA, 2016; ROCHA, 2016; LIMA JÚNIOR *et al.*, 2011).

O HPV é altamente contagioso, sendo possível se contaminar em apenas uma única exposição, este tem capacidade de infectar a pele e mucosa, e afeta tanto homens quanto mulheres. Sua transmissão pode ocorrer pelo contato com a pele ou mucosa infectada, mas a principal forma é pela via sexual (oral-genital, genital-genital ou até mesmo, manual-genital), pode ocorrer transmissão também por meio de objetos compartilhados, como toalhas, roupas íntimas, dentre outras, através de instrumentos ginecológicos que não foram esterilizados e durante o parto (materno fetal) (JORGE, 2016; GUIA DO HPV, 2013; FIGUEIRÊDO *et al.*, 2013). São considerados fatores de risco associado ao câncer uterino o início da vida sexual muito precoce, número de parceiros sexuais, tabagismo, baixo nível socioeconômico e o uso de contraceptivos orais, multiplicidade de parceiros sexuais, baixa ingestão de vitaminas, coinfeção por agentes infecciosos, como o vírus da imunodeficiência humana (HIV) (KENNE *et al.*, 2014; PRAZERES, 2011).

O HPV pode permanecer no organismo durante vários anos de forma latente, em uma porcentagem de pessoas, certos tipos de HPV podem persistir por um período mais longo, permitindo que ocorra alterações nas células, essas alterações podem causar verrugas genitais, vários tipos de cânceres (câncer de colo de útero, vagina, vulva, pênis, ânus e orofaringe, bem como a papilomatose respiratória recorrente (PRR) (GUIA DE HPV, 2013). São causados por infecções persistentes por genótipos de HPV de alto risco oncogênico. O câncer cervical é considerado um dos mais comuns, nos países em desenvolvimento, e a principal causa de morte por câncer entre as mulheres (LIMA JÚNIOR *et al.*, 2011).

Cerca de 75% das mulheres sexualmente ativas tem algum tipo ou já foram expostas ao HPV em algum momento de suas vidas (KENNE *et al.*, 2014; RIBEIRO, 2009). Mulheres que apresentam teste positivo para DNA de HPV de alto risco possui 4 vezes mais chances de desenvolverem neoplasias intra-epiteliais cervicais do tipo 1 (NIC 1) e em torno de 13 vezes mais chances de desenvolver lesões de alto grau (NIC 2 ou NIC3) em comparação às mulheres que apresentam teste negativo para HPV (RIBEIRO, 2009; TULLIO *et al.*, 2007).

São classificados em dois grupos: o HPV de baixo risco oncogênico, geralmente estão associados as NIC de baixo grau e aos condilomas acuminados, são os tipos 6, 11, 40, 42, 43, 54, 61, 70, 72, 81 e os HPV de alto risco oncogênico, geralmente, estão associados as NIC de alto grau e as neoplasias invasoras, são os tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 e 82 (PRAZERES, 2011; RIBEIRO, 2009). O de baixo risco está associado a várias lesões benignas, como verrugas, papiloma laríngeo e tumores ano-genitais, e podem ocorrer sintomas como pruridos e dores. As de alto risco, podem provocar lesões benignas em mucosas, porém, estes tipos são carcinogênicos, o principal associado ao câncer do colo de útero (ALMEIDA; OLIVEIRA, 2014; CASTRO *et al.*, 2009;).

O HPV apresenta no seu genoma três regiões: a primeira é uma região não codificante (LCR), que possui a origem da replicação (ORI) e a maioria dos promotores de transcrição; a segunda é uma região precoce, que apresenta genes precoces (Early), sendo destacado o E1, E2, E6 e E7, que estão envolvidos na replicação do genoma e na transformação celular; e a terceira que é uma região tardia, esta contém dois genes tardios (Late) L1 e L2, que agem codificando proteínas do capsídeo (D'OTTAVIANO, 2012; PRAZERES, 2011; RIBEIRO, 2009).

1.3 Patologia do HPV

A patologia causada pelo HPV tem início nas células da camada basal presente na epiderme, nesse local existe a presença de um receptor específico para o vírus. O HPV inicia sua infecção quando entra nas células epiteliais basais por meio de um processo lento de endocitose. A ligação é mediada por heparan sulfato, sendo a integrina alfa 6 identificada como um possível receptor. Durante a fase de infecção, o vírus perde o capsídeo e transporta seu genoma para o núcleo, onde persiste como DNA extracromossomal - episomal (FERRARO *et al.*, 2011).

Quando o vírus entra na célula, ele inicia um processo de diferenciação, tornando as células mais maduras, assim se consegue permitir a migração do vírus para outras camadas do epitélio. Dentro das células, o vírus inicia sua replicação, aumentando o número de cópias virais no interior de cada célula. Alguns vírus mantêm seu DNA em formato circular, ou seja, não se integra ao genoma do hospedeiro, este possui capacidade de produzir lesões mais brandas, como as verrugas genitais. Outros vírus, ficam com DNA linearizado, o que facilita a quebra de algumas regiões, e possibilita a integração ao genoma do hospedeiro, nesses casos as lesões são mais graves, como o carcinoma. Depois que ocorre a infecção, os genes E1 e E2 são expressos, estes são responsáveis pelo processo de replicação do vírus e, também, codificam proteínas regulatórias da expressão de oncogenes que irão desenvolver o processo maligno. Nas células normais existe um supressor tumoral da célula hospedeira o gene p53, esse supressor promove a correção de erros que podem ter ocorridos ou detectar células alteradas e encaminha-las para a apoptose. Os oncogenes que são expressos na célula se ligam ao gene p53, e a inativa, impedindo a morte de células alteradas com o vírus presente (ALMEIDA; OLIVEIRA, 2014).

No interior do núcleo da célula hospedeira, o DNA do vírus pode se apresentar em duas formas, o que define é o padrão de infecção: temos a forma episomal (latência e produtiva) e a integrada (transformante). Para que o DNA do HPV se integre ao genoma humano, é necessário haver rompimento da região E1-E2, com desregulação do controle transcricional dos genes virais. Quando o vírus entra na célula, esses genes E1 e E2 são os primeiros a serem expressos e codificam proteínas para replicação do DNA viral. As proteínas E1 e E2 recrutam proteínas para participar da replicação, regula a expressão do genoma viral e tem capacidade de manter o DNA viral como um episoma; E2 tem capacidade de reprimir a atividade do promotor E6/E7 (FERRARO *et al.*, 2011).

A transcrição de E1 e E2 causa repressão de E6 e E7, isso permite a função de supressão tumoral da proteína p53 e da proteína retinoblastoma (pRb), que mantêm a homeostase epitelial. Os genes E6 e E7, além de fazer a manutenção episomal do genoma do HPV, também age codificando oncoproteínas que podem induzir a transformação da célula hospedeira. Tem se acreditado que o HPV infecta o epitélio por meio de abrasões ou microlacerações da pele e da mucosa, durante o ato sexual, por autoinoculação ou por meio do contato com objetos contaminados, isso permite que o vírus tenha acesso as células da camada basal (FERRARO *et al.*, 2011).

1.4 Diagnóstico

As lesões causadas pelo HPV são diagnosticadas através de métodos morfológicos que se inicia deste o exame clínico, citologia oncológica, colposcopia e histopatologia ou biópsia. Os métodos de biologia molecular: hibridizações moleculares de ácidos nucleicos, tipo *Southern*

Blot, captura híbrida, hibridização *in situ* e a reação em cadeia polimerase (PCR) são utilizados para identificar o material genético viral. A principal técnica de rastreio utilizada é a citologia oncótica ou teste de Papanicolau. Essa técnica de triagem identifica as células malignas ou em processo de malignização. Os índices de sensibilidade do teste de Papanicolau são em torno de 50 a 60%, ou seja, são valores fora do idealizado para que este se torne o único teste usado e comprobatória no diagnóstico de HPV (SÁ; SÁ; GOMES JÚNIOR, 2016).

O teste de Papanicolau é adotado como referência pelos programas de controle de câncer de colo de útero no Brasil, foi desenvolvido por George N. Papanicolau no ano de 1939, e é utilizado até hoje na rotina médica. Papanicolau fez uma classificação em que se observava se as células do esfregaço eram normais ou não. Essas classes são: I (ausência de células atípicas ou anormais), II (citologia atípica, mas sem evidências de malignidade), III (sugestiva, mas não conclusiva de malignidade), IV (fortemente sugestiva de malignidade) e V (conclusiva de malignidade). Como essa classificação não considerava os aspectos histopatológicos das lesões, foram criadas novas nomenclaturas, o termo displasia foi incorporado e dividido em displasia leve, moderada e severa. Os graus de displasias eram incorporados como referentes a classe III e IV de Papanicolau com carcinoma escamoso *in situ*. A classe V continuou indicando carcinoma invasor. Depois se introduziu o conceito neoplasia intraepitelial (Neoplasia intraepitelial cervical – NIC) que se divide em 3 graus: NIC 1 (displasias leves), NIC2 (displasia moderada) e NIC3 (displasias graves) e CIS (carcinoma *in situ*) (ROCHA, 2016).

O sistema Bethesda foi incorporado nos laudos dos exames, este representa o comportamento das lesões intraepiteliais escamosas do colo, sendo subdividido as lesões epiteliais escamosas anormais em 4 grupos: ASCUS (células escamosas atípicas de significado indeterminado); ASCH (células escamosas atípicas, não podendo excluir a lesão intraepitelial escamosa de alto grau); LSIL (lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau, envolvendo a displasia leve/NIC1); HSIL (lesões intraepiteliais escamosas de médio e alto grau (NIC2 e NIC3), incluindo a displasia moderada, displasia severa e o carcinoma *in situ*, câncer invasivo (ROCHA, 2016; SANTOS, 2012).

O primeiro diagnóstico realizado de alterações celulares associadas ao HPV se dá pela aplicação de ácido acético 4%, nos locais onde as lesões se tornam esbranquiçadas. Outro método é a coloração de Papanicolau, técnica introduzida no ano de 1949. Atualmente este teste é utilizado como rastreamento das lesões provocadas pelo HPV nos programas de triagem, sendo um teste de fácil execução e de baixo custo. Porém, estes testes possuem grandes números de falso-negativos em torno de 15 a 50% e falso-positivo em torno de 10% em média, com sensibilidade de 50 a 90% e especificidade de 70 a 90%. São observáveis alterações celulares típicas como coilócitos, disqueratose, anomalias celulares. Este método não permite identificar o tipo de HPV, apenas permite observar as alterações celulares típicas da infecção por este vírus. O resultado se baseia na graduação das lesões cervicais conforme o sistema Bethesda (KANESHIMA *et al.*, 2001).

A técnica de PCR tem mostrado ser uma técnica com mais sensibilidade na identificação do DNA viral existente nos diversos materiais clínicos, assim como uma forma de resolução de dúvidas que podem surgir durante o diagnóstico citohistopatológico e colposcópico, não apenas de lesões pré-neoplásicas, como em infecções latentes ou subclínicas associadas a este agente viral. Além da detecção do DNA do HPV pela técnica de PCR, é importante que se discrimine o tipo de HPV que está presente nos materiais clínicos de mucosas genitais, assim pode se determinar se são de alto ou de baixo potencial. A identificação também permite se estabelecer o tratamento mais adequado para os pacientes acometidos por essa infecção viral (KANESHIMA *et al.*, 2001).

A PCR é uma técnica que amplifica uma sequência específica de DNA, que é delimitada por um par de primers, com a ajuda de uma enzima termoestável (Taq polimerase). No caso do HPV, existem 4 tipos de primers genéricos que possui a capacidade de amplificar uma região dentro do gene L1 do HPV, que é comum em 43 tipos de HPV; MY09/11, PGMY09/11 – (sistema amplicor) MWP, GP5+/GP6+ e SPF/2 (sistema innogenetics), que fazem a amplificação de fragmentos de 450 pares de bases (pb), 170pb, 100 pb e 65 pb. A revelação deste método é feita através de diversas formas, como por exemplo, através da análise de sequência do polimorfismo do fragmento de restrição (RFLR), hibridização com sondas tipo-específico ou por gel de eletroforese (PRAZERES, 2011).

Em um estudo realizado por Kaneshima e colaboradores (2001), foi aplicado a técnica de Reação em Cadeia Polimerase associada com o polimorfismo de fragmentos de DNA obtidos por enzimas de restrição (PCR-RFLP), com finalidade de realizar a tipagem de HPV em amostras de pacientes que portavam anormalidades colpocitológicas, foi demonstrado que o método de PCR tem maior sensibilidade de detecção dos genomas virais, quando comparado a outras metodologias. A partir do momento que se consegue determinar o tipo de HPV, é possível enquadrá-lo em dois grupos: de alto potencial e de baixo potencial para desenvolvimento neoplásico. Nesse estudo, 20 amostras cervicais se encontravam infectadas por tipos de HPV de alto potencial, algumas amostras também estavam infectadas por HPV de baixo potencial. A capacidade que o método PCR-RFLP possui de detectar três tipos distintos de HPV, demonstra que esse método apresenta grande poder discriminatório e pode ser utilizado como adicional, na triagem primária de mulheres com risco de desenvolver neoplasias cervicais.

Outra técnica de biologia molecular utilizada é a Hibridização *in situ*, uma técnica que detecta pequenos segmentos de DNA ou RNA em cortes de tecido ou em preparados citológicos, esta técnica utiliza uma sequência complementar de ácidos nucleicos com sondas marcadas. Em condições apropriadas, ocorre a hibridização da sonda com a sequência alvo do DNA viral, estas são visualizadas através de marcadores fluorescentes ou radioativos ligados a sonda, assim se torna possível detectar e localizar as sequências de ácidos nucleicos do HPV em materiais citológicos e histológicos. Essa técnica possui 70% de sensibilidade e 63% de especificidade (RIBEIRO, 2009).

A técnica de Captura Híbrida (CH2), é uma reação de hibridização molecular que utiliza sondas não radioativas para amplificação da detecção de híbridos por quimioluminescência, utilizando amostras líquidas. Sua detecção é feita por grupos de risco, baseada na pesquisa de 18 sondas dos HPVs de maiores frequências, ou seja, é capaz de detectar 18 tipos virais (TULIO, 2007; SILVA *et al.*, 2015). O grupo A, apresenta sondas para HPVs de baixo risco, o grupo B, para risco intermediário ou alto. A sensibilidade dessa técnica é de 98,1% e sua especificidade de 97,6%. É um tipo de ensaio muito utilizado em estudos clínicos, apesar de poder distinguir entre os grupos de risco, este não permite identificar os tipos específicos de HPV (RIBEIRO, 2009).

Um estudo realizado por Tulio e colaboradores (2007), avaliou se existe alguma associação entre a carga viral de HPV oncogênico determinada por meio do teste molecular CH2 e o diagnóstico de lesões de alto grau (NIC 2/3) pelos métodos citológicos Papanicolau convencional e em base líquida. Pode se observar que de 314 amostras que apresentaram resultados negativos através dos métodos citológicos, 88 apresentou resultados positivos pela técnica de CH2. Sendo que destas, apenas 36 amostras apresentavam carga viral ≥ 100 pg/mL (TULIO, 2007).

Segundo Castle *et al.* (2002), cerca de 15% das mulheres que fazem o teste de Papanicolau podem ter resultados citológicos negativos, com CH2 positiva para HPV de alto risco, sendo assim, mulheres que possuem resultados citológicos e moleculares negativos possuem risco reduzido de desenvolver lesões de alto grau.

Uma comparação feita entre técnicas moleculares para detecção do DNA do HPV, as mais utilizadas foram a PCR e a Captura híbrida. Na detecção de DNA viral em espécimes clínicos, a técnica de PCR demonstrou ser mais sensível, porém, a captura híbrida tende a oferecer menos risco de contaminação, sendo mais facilmente introduzida em laboratórios (SANTOS; FONSECA, 2016).

Segundo Carmo e Fiorini (2007, apud SANTOS e FONSECA, 2016), as três técnicas de biologia molecular (captura híbrida, hibridização in situ e PCR) apresentam ser importantes e eficientes para o diagnóstico de HPV, mas dentre estas a PCR é a técnica que apresenta maior sensibilidade, especificidade e velocidade de análises, sendo o método de escolha para diagnóstico eficiente do HPV.

Nomelini *et al.* (2007), realizaram um estudo prospectivo em que os pacientes selecionados apresentavam anormalidades na colposcopia. Estes foram testados utilizando as técnicas de PCR e de captura híbrida, foi demonstrado que a sensibilidade destes na detecção de neoplasia intraepitelial cervical (NIC), foram de 83,33% e 66,67% respectivamente, e o valor preditivo negativo no diagnóstico de NIC 2 e 3 de PCR e captura híbrida foi de 100% e 94,74%, respectivamente.

1.5 Tratamentos

Ainda não se tem uma padronização terapêutica, a abordagem utilizada atualmente se baseia apenas na eliminação das lesões clínicas por meio de agentes químicos, físicos e imunomoduladores. Vacinas profiláticas também tem sido uma opção, estas visam a redução e prevenção substancial das verrugas genitais, das neoplasias intraepitelial cervical (NIC) e do câncer cervical, principalmente naqueles indivíduos que foram expostos aos vírus. O objetivo do tratamento é eliminar os sintomas, amenizar a carga psicológica em relação ao estigma social e melhorar o aspecto estético do paciente (condilomas). Os condilomas, se não tratados, podem desaparecer, permanecer inalterados ou até mesmo aumentar em tamanho e número, e a transmissibilidade da infecção é mais significativa na presença de verrugas. Os fatores que podem influenciar a escolha do tratamento são o tamanho, o número, a morfologia e o local da lesão. Se tem disponível, para terapêutica contra HPV, os tratamentos químicos, físicos e imunomoduladores, e profilaxia feita com vacinas (FIGUEIRÊDO *et al.*, 2013).

Tratamento químico

São indicados para indivíduos com lesões de menor extensão. A aplicação de agentes químicos é citodestrutiva, e se encontram disponíveis as opções: podofilina (destrói 85% das verrugas tratadas), podofilotoxina (mais estável, desprovida de efeitos tóxicos), ácidos bicitloroacéticos, 5-fluorouracil (5-FU), imiquimode e cidoforvir (FIGUEIRÊDO *et al.*, 2013; SANTOS, 2012;).

Tratamento por métodos físicos

São utilizadas técnicas abrasivas e excisionais como eletrocauterização, conização, laser e crioterapia. São procedimentos dolorosos, podem gerar cicatrizes e requerem anestesia. As lesões intra-epiteliais não invasivas que forem identificadas por microscopia, devem ser tratadas com procedimentos abrasivos superficiais, como crioterapia e vaporização com laser de CO₂ (FIGUEIRÊDO *et al.*, 2013).

Tratamento com agentes imunomoduladores

O imiquimode é um agente imunomodulador sintético. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) liberou para uso em maiores de 12 anos, age ativando a imunidade inata e celular, induz apoptose e ativa linfócitos B, potencializando a resposta imunológica contra as células alteradas pelo HPV. Os interferon são um grupo de proteínas imunoreguladoras sintetizadas por linfócitos T, macrófagos, fibroblastos e outros tipos de células. É dividido em 3 classes (alfa, beta, gama) de acordo com as propriedades físico-químicas, as células de origem, o modo de indução e de reações de anticorpos. É indicado para tratar verrugas, sua administração pode ser local ou sistêmica, possui capacidade de erradicar o vírus de todas as células afetadas devido a seu efeito imunomoduladora (FIGUEIRÊDO *et al.*, 2013).

1.6 Prevenção

A prevenção do HPV vai desde o tratamento e remoção das verrugas à prevenção do contágio desse vírus, admite-se a utilização de vacinas, métodos de barreiras nas relações sexuais (camisinha não garante proteção total), cuidados higiênicos (COSTA; GOLDENBERG, 2013; GUIA DE HPV, 2013).

Um método de prevenção do HPV é a vacinação, no ano de 2013, a vacina contra HPV tinha sido introduzida em 51 países que possui estratégia de saúde pública. No mês de julho desse mesmo ano, 10 países pertencentes a América Latina e do Caribe introduziram a vacina no calendário de vacinação. No Brasil, foram desenvolvidos e registrados 2 tipos de vacinas, a quadrivalente, que protege contra HPV 6, 11, 16 e 18, previne lesões genitais pré-cancerosas do colo de útero, vulva e de vagina em mulheres, e anal em ambos os sexos. A outra é a bivalente, protege contra os tipos 16 e 18, previne lesões genitais pré-cancerosas do colo de útero. Estudos de eficácia da vacina quadrivalente, para prevenção de câncer de colo do útero, demonstrou uma eficácia de 98% (IC 95%, 86-100) e de verrugas genitais, foi de 100% (IC 95%, 94-100). Em 2015 foram vacinadas crianças e adolescente de 9 e 11 anos, a partir de 2016 apenas as de 9 anos de idade, as meninas e mulheres de 9 a 26 anos vivendo em HIV também foram incluídas na vacinação (JORGE, 2016; MARTINS, 2011).

2 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O HPV ainda é considerado o principal fator no desenvolvimento de lesões malignas e precursoras do câncer de colo do útero. Por isso, é importante conscientizar a população acerca da prevenção, uso de preservativos durante relações sexuais e a vacinação contra os subtipos de HPV e, principalmente, a realização de exames ginecológicos como o Papanicolau. O exame de Papanicolau não permite identificar o tipo de HPV, apenas se pode visualizar alterações celulares típicas da infecção por este tipo de vírus. Pelo fato do exame de Papanicolau não ser 100% sensível, existe a necessidade de técnicas de detecção do HPV, com mais sensibilidade e especificidade, como as técnicas moleculares, e as mais utilizadas atualmente são as técnicas de PCR e Captura Híbrida.

A Captura Híbrida apresenta limitações na detecção e especificidade dos tipos virais, já a PCR apresenta boa especificidade na detecção, dos variados genomas virais, além de ser uma técnica de execução mais rápida e mais eficiente em relação as outras técnicas. Através dessa técnica, pode se determinar se os tipos são de alto ou baixo potencial. A técnica de PCR-RFLP apresenta capacidade de detectar até 3 tipos distintos de HPV, podendo ser utilizado na triagem primária de mulheres que apresentam risco de desenvolver uma neoplasia cervical. Mulheres que apresentam resultados tanto citológicos como moleculares negativos, possuem um risco reduzido de desenvolver lesões de alto grau.

É importante que estas técnicas sejam adaptadas para uso no diagnóstico preventivo e confirmatório do câncer de colo de útero, pois a detecção precoce permite determinar a terapêutica adequada a cada paciente.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. C.; OLIVEIRA, K. B. Câncer de Colo Uterino: desenvolvimento, diagnóstico, tratamento e marcadores moleculares. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 7, n. 1, p. 155-161, jan./abr. 2014. Disponível em: <<http://periodicos.unicesumar.edu.br/index.php/saudpesq/article/view/3024/2228>>. Acesso em: 10 de set. 2017.

CASTLE, P. E. et al. Absolute Risk of a Subsequent Abnormal Pap among Oncogenic Human Papillomavirus DNA-Positive, Cytologically Negative Women. **CANCER**, v. 95, n. 10, p. 2145-2151, nov. 2002. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.10927/epdf>>. Acesso em: 10 de set. 2017.

CASTRO, T. M. P. P. G. et al. Detecção de HPV na mucosa oral e genital pela técnica PCR em mulheres com diagnóstico histopatológico positivo para HPV genital. **Braz J Otorhinolaryngol.**, v. 75, n. 2, p. 167-171, mar./abr. 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rboto/v75n2/v75n2a02.pdf>>. Acesso em: 13 de set. 2017.

COSTA, L. A.; GOLDENBERG, P. Papilomavírus Humano (HPV) entre Jovens: um sinal de alerta. **Saúde Soc.**, São Paulo, v.22, n.1, p. 249-261, 2013. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/sausoc/v22n1/22.pdf>>. Acesso em: 13 de set. 2017.

D'OTTAVIANO, M. G. L. **Detecção dos tipos de HPV e integração do HPV DNA 16 em mulheres com NIC 2 seguidas por doze meses.** 2012. 78f. Tese (Doutorado) – Curso Ciências da Saúde. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2012.

FERRARO, C. T. L. et al. Infecção oral pelo HPV e lesões epiteliais proliferativas associadas. **J Bras Patol Med Lab.**, v. 47, n. 4, p. 451-459, ago. 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v47n4/v47n4a10>>. Acesso em: 15 de set. 2017.

FIGUEIRÊDO, C. B. M. et al. Abordagem terapêutica para o Papilomavírus humano (HPV). **Rev. Bras. Farm.**, v. 94, n. 1, p. 4-17, 2013. Disponível em: <<http://www.rbfarma.org.br/files/rbf-2013-94-1-1.pdf>>. Acesso em: 15 de set. 2017.

GUIA DO HPV. **Entenda de vez os Papilomavírus humanos, as doenças que causam e o que já é possível fazer para evitá-los.** Instituto do HPV. 2013. Disponível em: <http://www.incthpv.org.br/upl/pdf/130198401720254616_Guia%20do%20HPV%20Julho%202013.pdf>. Acesso em: 22 de set. 2017.

INCA. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2016. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/estimativa-2016-v11.pdf>>. Acesso em: 31 de out. 2017.

LIMA JÚNIOR, S. F. *et al.* Prevalência dos genótipos do Papilomavírus humano: comparação entre três métodos de detecção em pacientes de Pernambuco, Brasil. **Rev Bras Ginecol Obstet.**, v. 33, n. 10, p. 315-320, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbgo/v33n10/08.pdf>>. Acesso em: 22 de set. 2017.

JORGE, E. A. S. **Conhecimento sobre HPV (Papilomavírus Humano) e a percepção das adolescentes sobre sua imunização.** 2016. 112f. Dissertação (Mestrado) – Curso Enfermagem. Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu. Botucatu, 2016.

KANESHIMA, E. N. *et al.* Aplicação do método PCR-RFLP para tipagem de HPV em infecções cervicais de pacientes atendidas no Lepac, Universidade Estadual de Maringá. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 23, n. 3, p. 731-737, 2001. Disponível em: <<http://eduem.uem.br/ojs/index.php/ActaSciHealthSci/article/viewFile/3015/1870>>. Acesso em: 20 de set. 2017.

KENNE, E. L. *et al.* Diagnóstico molecular de HPV em amostras cérvicovaginais de mulheres que realizam o Papanicolau. **Cinergis**, v. 15, n. 4, p. 201-206, 2014. Disponível em: <<https://online.unisc.br/seer/index.php/cinergis/article/view/5517/3969>>. Acesso em: 20 de set. 2017.

MAGI, J. C. *et al.* Resultados do Exame Anátomo-Patológico e “Polymerase Chain Reaction (PCR)” na Forma Clínica e Subclínica da Infecção Anal pelo Papilomavirus Humano (HPV) - Estudo em Quatro Grupos de Pacientes. **Rev bras Coloproct.**, v. 26, n. 4, p. 406-413, out./dez. 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbc/v26n4/06.pdf>>. Acesso em: 20 de set. 2017.

MARTINS, T. R. **Detecção molecular do DNA E RNAm do HPV e sua aplicabilidade na triagem do câncer cervical.** 2011. 128f. Dissertação (Mestrado) – Curso mestre em Farmácia. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

NOMELINI, R. S. *et al.* Utilization of human papillomavirus testing for cervical cancer prevention in a university hospital. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 6, p. 1309-1318, jun. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/csp/v23n6/05.pdf>>. Acesso em: 21 de set. 2017.

PRAZERES, B. A. P. **Prevalência de HPV em material cérvico-uterino de mulheres de Tomé-Açú – PA.** 2011. 56 f. Dissertação (Mestrado) – Curso Doenças Tropicais. Universidade Federal do Pará, Belém, 2011.

RIBEIRO, A. A. **Prevalência de tipos específicos de Papilomavírus humano (HPV) e relação com a severidade da lesão cervical em mulheres com exame citopatológico anormal.** 2009. 89f. Dissertação (Mestrado) – Curso medicina tropical. Universidade Federal de Goiás. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública. Goiânia, 2009. Disponível em: <<https://posstrictosensu.iptsp.ufg.br/up/59/o/AndreaRibeiro-2009-1.pdf>>. Acesso em: 15 de set. 2017.

ROCHA, B. G. **Desenvolvimento de metodologias para identificação molecular do HPV.** 2016. 105 f. Tese (Doutorado) – Curso Biotecnologia. Universidade Federal de São Carlos,

São Carlos, 2016. Disponível em:
<<https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/8289/TeseBGR.pdf?sequence=1>>.
Acesso em: 20 de set. 2017.

SÁ, R. O.; SÁ, I. M. L. C.; GOMES JÚNIOR, A. L. Diagnóstico molecular do papiloma vírus humano (HPV): uma prospecção tecnológica. **Revista GEINTEC**, São Cristóvão, v. 6, n. 1, p. 2851-2860, 2016.

SANTOS, J. C. **Caracterização molecular dos tipos de papilomavírus humanos-HPV, no município de Porto Velho-RO no período de 2008-2009**. 2012. 66f. Tese (Doutorado) – Curso Biologia experimental. Universidade Federal de Rondônia/ UNIR. Porto Velho, 2012. Disponível em:
[http://www.pgbioexp.unir.br/downloads/2895_caracterizacao_molecular_dos_tipos_de_papilomavirus_\(jefferson_santos_&_maria_manuela_moura\).pdf](http://www.pgbioexp.unir.br/downloads/2895_caracterizacao_molecular_dos_tipos_de_papilomavirus_(jefferson_santos_&_maria_manuela_moura).pdf). Acesso em: 22 de set. 2017.

SANTOS, M. F. S. M.; FONSECA, M. G. Estudo comparativo das técnicas de PCR e captura híbrida para o diagnóstico do HPV: revisão de literatura. **Rev. Eletrôn. Atualiza Saúde**, Salvador, v. 4, n. 4, p. 59-65, jul./dez. 2016.

SILVA, E. R. et al. Diagnóstico molecular do papilomavírus humano por captura híbrida e reação em cadeia da polimerase. **FEMINA**, v. 43, n. 4, p. 181-184, jul./ago. 2015. Disponível em: <<http://files.bvs.br/upload/S/0100-7254/2015/v43n4/a5311.pdf>>. Acesso em: 15 de set. 2017.

SOUZA, T. L. et al. Genotipagem do vírus do papiloma humano de alto risco como ferramenta útil em estudos epidemiológicos antes e após a vacinação para prevenção do câncer do colo de útero. **Revista científica da FMC**, v.5, n. 2, p. 2-6, 2010.

TULIO, S. et al. Relação entre a carga viral de HPV oncogênico determinada pelo método de captura híbrida e o diagnóstico citológico de lesões de alto grau. **J Bras Patol Med Lab.**, v. 43, n. 1, p. 31-35, fev. 2007. Disponível em:
<<http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v43n1/a07v43n1.pdf>>. Acesso em: 20 de set. 2017.