



Dra. Ilsa Prudente
Ginecologista / Citopatologista

1. DENTRE AS DST'S COMO SE SITUA O PAPILOMA VÍRUS HUMANO (HPV) NO BRASIL?

As verrugas genitais e extra-genitais em suas formas clínica e sub-clínica, representam as DST's mais frequentes em nosso meio, sobretudo nas regiões norte e nordeste do Brasil. Segundo estimativa do Instituto Nacional do Câncer – INCA, o câncer de colo uterino, no qual a presença do HPV se encontra em mais de 99% dos casos, é o 5º colocado nas estimativas de morte em mulheres no Brasil e o 1º em incidência no norte/nordeste do Brasil.

Felizmente, dentre as duas centenas de subtipos de HPVs existentes, não mais que 16 apresentam potencial oncogênico e só aproximadamente 2-10% das mulheres infectadas chegarão ao câncer de colo, 90% da infecção do HPV regride espontaneamente entre 12-36 meses.

2. EXISTE ALGUMA PESQUISA NO BRASIL VISANDO DETERMINAR SUA INCIDÊNCIA?

Pesquisa que determine incidência de DST e do HPV no Brasil desconheço.

Nos USA sabemos que 10-20% da população entre 15-49 anos tem Infecção HPV Induzida.

A incidência estimada é de 5,5 milhões por ano de novas infecções de HPV, no USA com prevalência estimada de 20 milhões.

Se imaginarmos que 99,6% do câncer cervical tem HPV, podemos pensar que conhecendo as infecções causadas por ele e tratando-as, estaremos fazendo prevenção e detecção precoce do câncer cervical.

3. E QUANTO AO SEU TRATAMENTO?

Toda ênfase vai para as Lesões de Alto e Baixo Grau com a criação dos polos de tratamento pelo CAF, a Podofilina continua sendo o mais acessível para a forma clínica do condiloma acuminatum, em seguida o Ácido Tricloroacético (ATA) nas infecções sub-clínicas.

Em clínica privada temos um grande arsenal terapêutico que começa nas Infecções clínicas com a Podofilina, Podofilotoxina (Wartec), Imiquimod (Aldara), em breve o Gel da Cidofovir (não lançado no Brasil), nas Infecções sub-clínicas temos ATA, 5 fluorouracil (5 FU), eletrocoagulação, CAF, crioterapia, interferon, laser.

É importante destacar que em qualquer tratamento existe recidiva, não existe tratamento para a Infecção lactente. As vacinas estão sendo aguardadas com ansiedade.

É muito importante que se oriente o paciente de que estamos tratando uma lesão e não o HPV.

4. QUAL A MELHOR FORMA DE PREVENÇÃO?

A infecção primária do HPV é iniciada através de micro traumas e sua penetração se faz na célula basal da mucosa ou da epiderme. É de se pensar que a via clássica seja a sexual e para isto o Condom (camisa de vênus) será sempre recomendado, mas existem autores que acham não ser o suficiente.

Existe transmissão materno-fetal e vômites, em diferentes objetos e tecidos. Também foi encontrado o DNA-HPV em fumaça da cauterização e vaporização.

A infectividade ainda é um tanto desconhecida, pois vários fatores, sejam eles do hospedeiro, do vírus e do local, estão agindo e atuam em sinergismo.

Sabemos que as crianças contraem o vírus da infecção clínica de epiderme pelo contato com colegas nas escolas.

No homem a circuncisão reduz o risco da infecção do HPV em 63% e câncer cervical em 68% em suas parceiras.

• Histopatologia

Pacientes com achados anormais ao Papanicolau e que não apresentam lesão cervical grosseira, são geralmente submetidos a **colposcopia e biopsia**. A colposcopia pode detectar displasia de baixo e alto grau, mas não detecta doença microinvasiva.

• Detecção do HPV DNA

• PCR tipo-específico

Baseada nas variações das seqüências genética dos subtipos do HPV. Atualmente utilizada principalmente em pesquisas devido à necessidade de múltiplas amplificações de PCR para cada amostra.

• PCR general primer

Possibilita a identificação de um amplo espectro de subtipos de HPV em uma só amplificação de PCR.

• Hibridização líquida

A captura híbrida utiliza detecção por quimioluminescência para detectar qualitativamente a presença do HPV. Ela identifica a presença de subtipos de HPV dos grupos de alto e baixo risco. A captura híbrida não é um exame de triagem, sendo indicada para ajudar no diagnóstico de infecções por HPV sexualmente transmitidas, e, distinguir entre infecções de alto ou baixo risco oncogênico. O teste para HPV não deve ser usado independente do Papanicolau, uma vez que um resultado positivo não confirma a presença de doença pré-maligna ou maligna.

• Detecção de HPV mRNA

Esse teste determina se os genes do HPV que causam transformação maligna estão presentes e ativos.

Prevenção:

A abordagem primária para prevenir a infecção por HPV, inclui redução do risco e o desenvolvimento de vacinas. O uso de preservativos e espermicidas pode diminuir o risco de contrair o HPV. Preservativos, entretanto, não são totalmente confiáveis, desde que o HPV pode ser contraído pelo contato com outras partes do corpo, como os lábios, escroto ou anus, que não estão protegidos pelos preservativos.

Vacinas estão em fase I e II de ensaios clínicos, mas ainda não estão disponíveis comercialmente.

juventude e uma longa progressão para o câncer. A persistência da infecção é mais comum com os tipos de HPV de alto risco oncogênico, e é um importante determinante do desenvolvimento do câncer cervical.

A detecção do HPV de alto risco é necessária, mas pode não ser suficiente para o desenvolvimento do câncer cervical. Estudos sugerem que o desenvolvimento do câncer cervical depende de uma variedade de fatores adicionais que agem em conjunto com certos tipos de HPV. A resposta imune primária à infecção pelo HPV é celular, assim como, condições que prejudicam a imunidade mediada por células, como transplante renal ou AIDS, aumentam o risco de aquisição e progressão do HPV. O risco de câncer cervical parece ser influenciado independentemente por outras variáveis, como tabagismo e paridade (múltiplas).

Tem sido sugerido que algumas viroses sexualmente transmissíveis, como herpes e CMV, podem servir como co-fatores no desenvolvimento de câncer cervical. A co-infecção oferece a oportunidade desses vírus interagirem com o HPV.

Métodos Diagnósticos:

• Citologia convencional

O método primário de detecção do HPV de alto risco ainda é o Papanicolau. É um método de triagem que procura alterações nas células das zonas de transformação da cérvix. Frequentemente essas alterações são causadas pelo HPV. O sistema de classificação atual é o de Bethesda (2001). Esse procedimento apresenta algumas limitações, que são: amostras inadequadas (8%), alta prevalência de falso-negativos (chegando até 20 a 30%), necessidade de examinador treinado e um enorme número de células para serem examinadas (em meio a milhares de células por lamina poucas podem estar anormais).

• Citologia de monocamada

Novos métodos de coleta e processamento de amostras do Papanicolau têm sido recentemente desenvolvidos no intuito de diminuir o número de resultados falso-negativos.

Tecnologia do microchip um novo caminho para o diagnóstico microbiológico rápido e preciso

Dra. Nancy Stratis Pavese
Master em Genética Molecular

A tecnologia do Microchip, nasceu no final da década de 90, quando pode-se colocar num matriz de sílica, sondas moleculares dirigidas a distintos alvos gênicos. O seu princípio visa identificar as características genéticas de indivíduos ou microrganismos presentes no seu padrão genético através de uma única reação, analisando milhares de seqüências de ácidos nucleicos conhecidos como PROBES ou sondas moleculares.

Desta forma, esta identificação é permitida através da análise comparativa de seqüências amplificadas por PCR a partir do genoma do organismo teste com os probes fixados na matriz da sílica. Os resultados são analisados por softwares especializados que permitem análises qualitativas e por vezes quantitativas da expressão de alguns genes.

Descrição do Teste: Os microarrays ou Microchips consistem em uma matriz (lâmina de sílica) de milhares de seqüências diferentes de DNA que podem ser usadas para medir variações de DNA/RNA em aplicações que incluem expressão de genes, comparação de genoma e genótipo. Estas seqüências de DNA denominadas de oligonucleotídeos que são sintetizados *in vitro*, por um processo fotolitográfico, se revelam positivas quando amostras de DNA ou RNA (originadas do RNA mensageiro) isoladas de uma fonte biológica, reagem com o biochip para produzir o informativo *array* ou material ligado. Este, nada mais é que um processo bioquímico denominado de hibridização onde duas únicas cordas complementares de ácido nucleico, formam por ligações covalentes a estável molécula *double helix*. A revelação da similaridade entre as seqüências alvo e os *probes* é dada por radicais fluorescentes que é lido por um scanning a laser.

A seqüência de genes existente na amostra analisada é comparada com milhares de seqüências aderidas ao chip (análise qualitativa). Estas representam a estrutura genética de agentes infecciosos. A

especificidade do ensaio é devida a fato de cada organismo possuir sua seqüência própria. Será considerado como gold-standard dos testes que utilizam a tecnologia da biologia molecular.

Discussão: O DNA genoma consiste de regiões discretas e funcionais conhecidas como genes. O genoma humano possui cerca de 50.000 a 100.000 genes.

Gene-expressão é o processo pelo qual mRNA é eventualmente proteína sintetizada do DNA primário de cada gene. A porção de cada gene que é representado pelo mRNA é conhecida como *coding sequence* deste gene. Somente 3% do genoma humano é representado como *coding sequence*. *Non-coding sequence* são regiões de genes não funcionais, ou seja: gene sem expressão.

Uma vez que o mRNA é uma cópia exata do DNA *coding region*, análises de hibridização envolvendo RNA, podem fornecer a informação exata de qual gene, e em que nível o mesmo é expresso (análise quantitativa).

Em análises de gene-expressão, probes fluorescentes e o uso de uma transcriptase reversa gerando desta forma o DNA complementar (cDNA). Ou seja: com o

auxílio desta enzima é possível sintetizar no laboratório DNA a partir do RNA mensageiro.

A hipótese de que muitas ou todas as doenças humanas podem ser acompanhadas por mudanças específicas (mutação ou polimorfismo) na expressão dos genes, os ensaios de Microarrays respresentam a técnica fundamental para o avanço da pesquisa biomédica.

Utilização dos Microchips:

- Microbiologia clínica, Veterinária, Botânica, Alimentos e controle da qualidade da água, dentre outros.

- Um único teste pode determinar vários patógenos que podem estar presente em uma única amostra investigada.

- Expressão de genes ligados a câncer ou a outras patologia.

Vantagens:

- Resultados obtidos em um período curto quando comparado com métodos tradicionais. Em torno de 8 horas.

- Teste de simples manuseio.

- Análise simultânea de 2 ou mais amostras biológicas em um único ensaio quando utilizado material fluorescente multicolorido.