

Uso Clínico do Teste para HPV nas Lesões Epiteliais da Cérvix Uterina

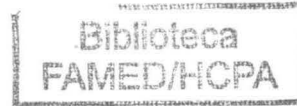
Clinical Applications of HPV -Testing in the Epithelial Lesions of the Uterine Cervix

Waldemar Augusto Rivoire * /**

Heleusa Mônico **

Valentino Magno *

Edison Capp * /**



* Depto. de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

** Serviço de Ginecologia e Obstetrícia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Resumo

Atualmente, considera-se que a infecção pelo papiloma vírus humano é uma condição necessária para que maioria das lesões pré-invasoras e invasoras ocorra no colo uterino. Várias técnicas para identificação do DNA-HPV têm permitido desvendar a patogênese desta infecção e suas repercussões clínicas. No entanto, apesar do papel importante das novas técnicas, em geral seu emprego clínico ainda é controverso. Para o emprego correto destes exames diagnósticos é necessário compreender melhor o significado dos resultados e definir condutas em função dos resultados positivos.

PALAVRAS-CHAVE: Papiloma vírus humano (HPV). Cérvix uterina. Teste para HPV. Captura híbrida. Reação em cadeia da polymerase (PCR).

Introdução

Na última década, vários estudos demonstraram que a infecção por tipos carcinogênicos de HPV (freqüentemente citados como papiloma vírus humano (HPV) de alto risco) é necessária para o desenvolvimento subsequente de quase todos os cânceres cervicais (Bosch et al., 2002). A infecção causada pelo HPV é comum em mulheres sexualmente ativas, porém a grande maioria não desen-

volve lesões epiteliais, resolvendo espontaneamente. Atualmente, o teste de DNA para HPV (HPV-DNA) faz parte das diretrizes para rastreamento do câncer cervical, como auxiliar no rastreamento citológico (Saslow et al., 2002; Wright et al., 2004).

Neste trabalho apresentamos uma revisão sobre as técnicas de tipagem do vírus HPV, suas indicações e limitações.

Epidemiologia e Patogênese

É possível encontrar a infecção pelo HPV em quase todos os casos de neoplasia pré-invasora e invasora de colo de útero (Franco, 2003). Mais de 100 tipos de HPV já foram seqüenciados e provavelmente há mais de 200 (Bosch & Munoz, 2002). Atualmente, cerca de 20 tipos de HPV são classificados como de alto risco, devido a sua associação com o câncer cervical. Entre eles, destaca-se o HPV-16 que é responsável por 50 a 60 % dos casos de câncer cervical, seguido pelo HPV-18 (10% a 12%) e pelos HPV 31 e 45 (4% a 5% cada) (Bosch & de Sanjose, 2003; Bosch & Munoz, 2002). Os tipos HPV-6 e HPV-11 estão associados com verrugas e são denominados de baixo risco por serem raramente associados com doença maligna.

A infecção do epitélio cervical pelo HPV de alto risco tem um papel-chave na patogênese das lesões pré-invasoras e do câncer cervical. Embora a infecção por HPV seja freqüente, na maioria das

mulheres ela é transitória e sua persistência é um pré-requisito para desenvolvimento de neoplasia intra-epitelial cervical de alto grau (NIC II e III) e câncer invasor. As razões biológicas que determinam a persistência do HPV em certas mulheres são pouco conhecidas e até hoje não foram esclarecidas. Co-fatores que aumentam o risco de câncer em mulheres com HPV-DNA incluem idade, uso de contraceptivo oral (cinco ou mais anos), paridade (cinco ou mais gestações a termo), fumo e infecção por HIV (Anhang et al., 2004; Bosch & de Sanjose, 2003). Além disso, outros fatores, inicialmente associados ao câncer cervical (p.ex., número de parceiros sexuais) são indicadores de exposição ao HPV.

Uso Clínico do Teste de HPV-DNA

O teste do HPV-DNA se justifica pela baixa sensibilidade no exame citopatológico isolado e pela disponibilidade de testes para detectar os tipos carcinogênicos de HPV (Franco, 2003). A literatura recente mostra que a melhor indicação para o uso do teste do HPV-DNA é a triagem do exame citopatológico com células escamosas atípicas de significado indeterminado (*atypical*

squamous cells of undetermined significance [ASCUS] e células glandulares atípicas de significado indeterminado (*atypical glandular cells of undetermined significance* [AGCUS]) (Solomon, 2003). Para rastreamento primário de mulheres acima de 30 anos, o teste de HPV-DNA tem sensibilidade maior (10 a 20 %), mas especificidade menor que a citologia convencional isolada, não sendo, portanto, justificada (Belinson et al., 2001; Clavel et al., 2001; Petry et al., 2003; Schiffman et al., 2000a; Schiffman et al., 2000b).

Devido ao alto valor preditivo negativo da combinação de citologia e teste para HPV-DNA, mulheres com ambos testes negativos podem realizar o rastreamento em intervalos maiores (p.ex., a cada 2 ou 3 anos) (Franco, 2003). Assim, recentemente diferentes organizações médicas sugeriram diferentes diretrizes para o rastreamento do câncer cervical (Tabela 1) (Anhang et al., 2004). Esta disparidade entre diretrizes reflete falta de consenso sobre o rastreamento primário e geralmente o médico individualiza os tratamentos usando o bom senso. É possível que no futuro o teste para HPV-DNA tenha sua relevância clínica melhor definida. Atualmente, o teste deve ser utilizado só por aqueles que conhecem suas limitações (Rivoire et al., 2001).

Tabela 1 - Diretrizes para o uso da testagem para HPV (adaptado de Anhang et al., 2004)

	Interim Guidelines	USPSTF*Guidelines	ACOG† Guidelines‡	ACS‡ Guidelines**
	Sim	Não realizado	Sim	Não realizado
Teste de HPV-DNA para rastreamento de ASCUS no citopatológico	Teste de HPV-DNA pode ser adicionado ao rastreamento com citologia cervical em mulheres acima de 30 anos§	Evidência insuficiente para recomendar ou não o uso de rotina de rastreamento para infecção por HPV	A partir da idade de 30 anos, é apropriado para mulher realizar teste para HPV-DNA ao mesmo tempo que exame citopatológico	Seria razoável considerar que em mulheres com mais de 30 anos fosse realizado a cada três anos utilizando citologia combinada com teste para tipos de HPV de alto risco

*USPSTF: United States Preventive Services Task Force.

†ACOG: American College of Obstetricians and Gynecologists.

‡ACS: American Cancer Society.

§Mulheres com citologia e HPV-DNA negativos não deveriam repetir os testes antes de três anos; aquelas com citologia negativa mas HPV-DNA de alto risco positivo devem repetir ambos em 6 a 12 meses e se anormal realizar colposcopia.

¶ACOG: rastreamento anual com citopatológico deve iniciar três anos após o início das relações sexuais ou aos 21 anos. Até os 30 anos o citopatológico deve ser realizado anualmente. Mulheres HPV-negativo e citopatológico normal não necessitam repetir os exames por três anos. Em contraste, mulheres com mais de 30 anos que realizam apenas citopatológico deve repetir o exame anualmente até que tenham três resultados negativos. Então o intervalo entre o exame pode ser realizado a cada 2-3 anos. São exceções mulheres com história de doença cervical grave, infectada com HIV, imunossuprimidas e com exposição intra-útero a diethylstilbestrol.

**ACS: rastreamento com citopatológico deve iniciar 3 anos após o início das relações sexuais ou até idade de 21 anos. Até a idade de 30 anos, mulheres devem realizar citopatológico anualmente. Se for utilizado citopatológico "liquid-based", o rastreamento pode ser realizado a cada dois anos. Após os 30 anos, deve ser realizado teste para HPV ao mesmo tempo que citopatológico, com repetição não mais que a cada três anos se os resultados forem normais.

††HPV-DNA para triagem foi considerado fora do objetivo das diretrizes de rastreamento. Recomendações para o manejo de mulheres com citologia anormal foram desenvolvidas através de um processo patrocinado pela ASCCP, Abril 2002. Estas diretrizes recomendam que HPV-DNA seja considerado uma opção aceitável para mulheres com citologia duvidosa.

Testes para HPV-DNA

O teste de HPV-DNA pode ser feito:

1. Por amplificação de alvo: utilizando a reação em cadeia da polimerase (PCR), reação em cadeia de ligase (LCR), amplificação com base na sequência do ácido nucléico (NASBA), amplificação do deslocamento da cadeia (SDA).
2. Por amplificação do sinal: captura híbrida (HC II, Digene Inc.), DNA ramificado (bdDNA). São testes de hibridização feitos em solução, que podem ser adaptados para detectar DNA ou RNA, sendo adequados para quantificação precisa.
3. Sem amplificação: *southern blot* (SB), *dot blot* (DB), hibridização com filtro *in situ* (FISH), *southern blot* reverso (RSB), *northern blot* (NB), hibridização *in situ* (ISH; requer cortes do tecido).

Embora estes testes possam identificar HPV-DNA, sua utilidade é apenas clínico-epidemiológica:

- **PCR para HPV-DNA**, empregado em pesquisa epidemiológica. Tem como desvantagens o risco de contaminação e a associação com falsos-positivos. Esta técnica utiliza sondas específicas e identifica cada tipo de HPV. Exige cuidados especiais de coleta, especialmente para evitar contaminação. Amplificação de alvo é a mais flexível e sensível das técnicas para análise de DNA. Esta tecnologia pode ser utilizada para detecção, quantificação da carga viral, seqüenciamento de DNA e análise de mutação. Estes testes podem ser realizados em "multiplex", em que as seqüências-alvo são analisadas simultaneamente. A maioria dos métodos de PCR está disponível apenas para pesquisa; freqüentemente envolve seqüências patenteadas de HPV, o que limita sua aplicabilidade (devido a restrições legais ou de propriedade) (Hubbard, 2003).
- **Captura híbrida** é o método aprovado pelo Ministério da Saúde para identificar HPV de alto risco. Tem sido o método mais empregado na prática clínica, com menor ocorrência de falsos-positivos. A captura híbrida identifica os grupos virais. O teste possui dois grupos de sondas: uma para os vírus de baixo risco (não oncogênicos), que pesquisa os tipos virais 6, 11, 42, 43 e 44 e outra para os vírus de alto risco (oncogênicos), que pesquisa os tipos virais 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68. Uma solução utiliza anticorpos para captura dos híbridos RNA/DNA e o sinal amplificado é detectado por quimiluminescência. A luz emitida é expressa

em unidades de luz relativa (RLU) e sua intensidade corresponde à quantidade do HPV-DNA. Para a coleta é necessária abstinência sexual de três dias, a paciente não deve estar menstruada e não ter usado creme ou ducha vaginais. Não efetuar exame digital (toque), colposcopia ou assepsia prévia. A presença de sangue (não menstrual) ou de conteúdo vaginal anômalo não altera o resultado do teste. Remover, com algodão ou gaze, o excesso de muco ao redor do orifício externo e da ectocérvix. Introduzir a escova no canal cervical, (cerca de 1 a 1,5 cm) girando-a suavemente (cinco vezes) no sentido horário. A seguir, escovar a ectocérvix. Logo após a coleta, inserir a escova no tubo contendo o meio para captura híbrida, quebrar a haste da escova, fechar o tubo e agitar (por aproximadamente 30 segundos) para homogeneizar a amostra. O material colhido deve ser enviado ao laboratório o mais rapidamente possível. À temperatura ambiente a viabilidade é de 15 dias. Quando o tempo decorrido entre a coleta e a chegada ao laboratório for superior a esse período, a amostra deve ser resfriada para 2 a 8 °C (nessa temperatura a amostra ainda é viável até seis meses) (Digene). O custo deste exame, pela tabela da Associação Médica Brasileira (1º de agosto de 2003), é de R\$ 228,13.

Os valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) encontrados em alguns trabalhos são apresentados na Tabela 2 (Lorincz & Richart, 2003).

Considerações Finais

O conhecimento dos mecanismos envolvidos na oncogênese cervical avançaram muito devido à utilização de técnicas avançadas de biologia molecular. A captura híbrida e a PCR permitem identificar grupos de HPV (de alto ou baixo risco) ou identificar tipos virais específicos, respectivamente. Estas técnicas, associadas aos métodos diagnósticos clássicos, poderão levar a melhor avaliação das neoplasias cervicais e auxiliar no desenvolvimento de estratégias para rastreamento e acompanhamento clínico.

Até o momento, a única técnica para identificação de HPV (de alto ou baixo risco) aceita na prática clínica é a captura híbrida. Contudo, suas indicações ainda são restritas e devem ser utilizadas por profissionais que conhecem suas limitações e sabem interpretar o resultado.

A educação para saúde do público (através de campanhas para esclarecimento e adesão a

programas de acompanhamento e prevenção) e a eficácia desses métodos diagnósticos são as chaves para o sucesso de novas estratégias para combater o câncer cervical.

A prevenção oportunística realizada em países emergentes (p. ex., Brasil) não deve substituir os programas de rastreamento populacional. Diferentemente do que é realizado no Cone Sul (principalmente Brasil e Argentina), em países desenvolvidos a colposcopia associada à citologia não

é utilizada para o rastreio oportunístico. A presença de vírus oncogênicos não é indicativa de lesão. O câncer de colo uterino tornou-se um problema, sobretudo sócio-econômico e a solução depende de meios econômicos e de vontade política. O teste para DNA-HPV poderá futuramente se tornar importante no rastreio primário das lesões cervicais, porém, sua relevância no manejo dessas lesões ainda precisa ser melhor estabelecida.

Tabela 2 - Sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) de PCR e captura híbrida (HC II) para neoplasia intraepitelial cervical II e III (adaptado de Lorincz e Richart, 2003)

	n	Sensibilidade %	Especificidade %	VPP %	VPN %
PCR					
Jena	114	89	94	36	99,6
Seattle	87	88	70	ND	99,5
Copenhagen	165	93	ND	ND	ND
Captura híbrida					
Reims	71	100	89	10	100
Capetown	47	66	83	13	98,2
Shanxi	86	95	85	23	99,8

ND = não disponível

Abstract

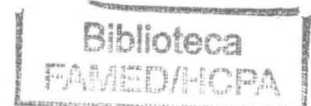
It is now considered that infection with human papilloma virus is a necessary condition in order that most pre-invasive and invasive lesions occur in the uterine cervix. A number of techniques for identification of HPV-DNA have allowed to elucidate both the pathogenesis of this infection and its clinical consequences. However, although the new techniques have an important role, their clinical use remains controversial in most cases. For a correct use of these diagnostic tests, both a better understanding on the meaning of the results and a definition for management of patients with a positive result are needed.

KEYWORDS: Human papilloma virus (HPV). Uterine cervix. HPV testing. Hybrid capture. Polymerase chain reaction (PCR).

Leituras Suplementares

1. Anhang R, Goodman A, Goldie SJ. HPV communication: review of existing research and recommendations for patient education. *CA Cancer J Clin* 2004; 54: 248-59.
2. Belinson J, Qiao YL, Pretorius R et al. Shanxi Province Cervical Cancer Screening Study: a cross-sectional comparative trial of multiple techniques to detect cervical neoplasia. *Gynecol Oncol* 2001; 83: 439-44.
3. Bosch FX, de Sanjose S. Human papillomavirus and cervical cancer—burden and assessment of causality. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003: 3-13.
4. Bosch FX, Lorincz A, Munoz N et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002; 55: 244-65.
5. Bosch FX, Munoz N. The viral etiology of cervical cancer. *Virus Res* 2002; 89: 183-90.
6. Clavel C, Masure M, Bory JP et al. Human papillomavirus testing in primary screening for the detection of high-grade cervical lesions: a study of 7932 women. *Br J Cancer* 2001; 84: 1616-23.
7. Digene. http://www.digene.com.br/menu/informe_medico/faq_hpv.asp#. 2004; acessado em 04/12/2004.

8. Franco EL. Primary screening of cervical cancer with human papillomavirus tests. J Natl Cancer Inst Monogr 2003; 89-96.
9. Hubbard RA. Human papillomavirus testing methods. Arch Pathol Lab Med 2003; 127: 940-5.
10. Lorincz AT, Richart RM. Human papillomavirus DNA testing as an adjunct to cytology in cervical screening programs. Arch Pathol Lab Med 2003; 127: 959-68.
11. Petry KU, Menton S, Menton M et al. Inclusion of HPV testing in routine cervical cancer screening for women above 29 years in Germany: results for 8466 patients. Br J Cancer 2003; 88: 1570-7.
12. Saslow D, Runowicz CD, Solomon D et al. American Cancer Society guideline for the early detection of cervical neoplasia and cancer. CA Cancer J Clin 2002; 52: 342-62.
13. Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A et al. HPV DNA testing in cervical cancer screening: results from women in a high-risk province of Costa Rica. JAMA 2000; 283: 87-93.
14. Schiffman M, Hildesheim A, Herrero R et al. Human papillomavirus testing as a screening tool for cervical cancer. JAMA 2000; 283: 2525-6.
15. Solomon D. Role of triage testing in cervical cancer screening. J Natl Cancer Inst Monogr 2003: 97-101.
16. Wright TC, Jr., Schiffman M, Solomon D et al. Interim guidance for the use of human papillomavirus DNA testing as an adjunct to cervical cytology for screening. Obstet Gynecol 2004; 103: 304-9.



XXIV Congresso de Obstetrícia e Ginecologia do Nordeste

7 a 10 de junho de 2006

Teresina - PI

**Realização:
SOPIGO**

Tel.: 55(86)3223-6252

Fax: 55(86)3223-6252

E-mail: sopigo@webone.com.br