



Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Seminário de Biopatologia de 14/03/07

HPV e carcinoma do colo do útero

Dividimos a aula desgravada em duas partes: 1) introdução teórica, que consiste, principalmente, num resumo do texto do Robbins & Cotran (7ª edição) e 2) o seminário propriamente dito, para o qual nos baseamos na desgravação da aula leccionada pela Professora Clara Sambade.

INTRODUÇÃO TEÓRICA

Nos últimos 50 anos, a mortalidade por cancro do colo útero sofreu uma redução acentuada (2/3!!) e verificou-se um grande aumento da frequência de detecção de cancros iniciais e de condições pré-cancerosas. A que se devem estas conquistas?

- 1) à eficácia do teste citológico do **Papanicolaou** em detectar o pré-cancro cervical
- 2) à facilidade de acesso ao colo do útero para a realização de **colposcopia** e **biópsia**.

Factores de risco para a neoplasia cervical

- início das relações sexuais em idade muito precoce
- vários parceiros sexuais
- parceiro sexual que já teve muitas parceiras sexuais
- grande número de gestações
- presença de um tipo de HPV associado a cancro
- detecção persistente de um HPV de alto risco, particularmente em alta concentração (carga viral)
- certos subtipos de HLA e de vírus
- exposição a contraceptivos orais e à nicotina
- infecções genitais (clamídia)

HPV e cancro do colo do útero

Tipos específicos de HPV estão associados ao carcinoma do colo do útero:

- tipos de HPV de baixo risco: **6, 11, 42, 44, 53, 54, 62, 66**.
- tipos de HPV de alto risco: **16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68**.

(O HPV 16 é responsável por 50% dos carcinomas do colo do útero, o HPV 18 por 15%, HPV 31 e 45 por outros 15%. 20% dos carcinomas do colo do útero estão associados a outras estirpes de HPV)

Após a infecção por HPV, a grande maioria das mulheres elimina o vírus ao fim de 1-2 anos mas, noutras, a infecção pode persistir, originando lesões mais graves designadas por pré-cancerosas, e evoluir para cancro (particularmente nas infecções por HPV de alto risco).

Patogénese

(inclui parte da resolução do Caso Clínico 3)

Praticamente 100% dos carcinomas do colo do útero são provocadas pelo HPV, mas é possível ter infecções por HPV e não ter carcinoma do colo do útero.

Papel do HPV no carcinoma do colo do útero

O DNA do vírus codifica as proteínas E6 e a E7, que são necessárias para transformar as células em células com uma maior capacidade proliferativa:

- a **E7** liga-se à proteína retinoblastoma (**Rb**), induzindo a libertação de factores de transcrição (E2F). Assim, as células entram em divisão, sem nenhum controlo.
- a **E6** liga-se à proteína **p53**, interrompendo o processo de morte celular.

Estes dois oncogenes do vírus operam conjuntamente para promover a síntese do DNA, ao bloquearem a paragem do crescimento mediada por p53 e a apoptose das células geneticamente alteradas.

Assim, o HPV, ao infectar as células do hospedeiro, leva à produção de proteínas víricas (E6 e E7) que são oncogénicas e interactuam com 2 proteínas nas nossas células — Rb e p53 — inactivando estas proteínas endógenas. Isto significa a perda de factores de inibição, o que facilita a progressão no ciclo celular, a sobrevivência das células e a presença de lesões no DNA, sem a correcção adequada. E é isto que se traduz na acumulação de erros, no potencial oncogénico e na perda funcional de genes ditos oncosuppressores.

Há níveis diferentes de expressão das proteínas E6 e E7? Qual é a explicação corrente para os diferentes níveis de risco de desenvolvimento neoplásico associado aos diferentes tipos de HPV?

1. Os vírus podem existir na forma epissomal ou na forma integrada

- Quando o vírus existe **no citoplasma** é capaz de se replicar, e, eventualmente, também ser transferido para RNA, no entanto, os níveis de produção proteica (E6 e E7) são baixíssimos. Assim, estes vírus estão associados a um menor risco de desenvolvimento de carcinoma.
- Quando os vírus se **integram no genoma** da célula do hospedeiro, os níveis de produção de E6 e E7 são elevados e são, portanto, vírus de maior risco.

2. Mesmo dentro dos vírus de alto risco a variabilidade é grande. Por exemplo, ambos os vírus HPV 16 e HPV 18 existem sob a forma integrada e ambos são de alto risco, mas o HPV 16 é responsável por uma maior percentagem de carcinomas do que o outro. Porquê?

As proteínas codificadas pelos dois não são exactamente iguais, tendo uma afinidade diferente para as interacções proteicas (com p53 e Rb).

Que alterações moleculares adicionais têm sido atribuídas também ao HPV?

- Aumento da expressão da ciclina E e de p16INK4
- Aumento da expressão da telomerase (E6 pode impedir a senescência replicativa pelo aumento do número de receptores da telomerase)
- Duplicação dos centrossomos e instabilidade genómica
- Anomalias cromossómicas (delecções em 3p e amplificações de 3q)

Neoplasia intra-epitelial cervical

Características das alterações pré-cancerosas

- 1) representam um *continuum* de alterações morfológicas com linhas de demarcação pouco nítidas
- 2) não evoluem invariavelmente para um cancro e podem regredir espontaneamente
- 3) estão associadas ao papilomavírus; os tipos de HPV de alto risco são encontrados com maior frequência nas lesões precursoras de grau mais alto.

Classificação CIN das lesões pré-cancerosas

1) CIN (Cervical Intraepithelial Neoplasia)

CIN I - as células epiteliais superficiais estão alteradas, exibindo:

- núcleos grandes e hipercromáticos
- halos citoplasmáticos perinucleares (atipia coilocítica)

Exemplos de lesões que podem ter estas características histológicas são os **condilomas**. Macroscopicamente, os condilomas podem ter um aspecto elevado (condiloma acuminado) ou plano (condiloma plano). O condiloma acuminado contém frequentemente HPVs de baixo risco; o condiloma plano geralmente contém HPVs de alto risco. Os condilomas são lesões benignas, causadas por várias estirpes de HPV e autolimitadas no tempo.

As lesões CIN I apresentam uma baixa taxa de evolução para cancro. Na maioria dos casos, a sequência de eventos moleculares necessária para a progressão da lesão não é iniciada ou é interrompida pelo sistema imunológico do hospedeiro.

CIN II - surgem agora células atípicas nas camadas mais baixas do epitélio escamoso, porém acompanhado de uma diferenciação persistente (agora anormal) em direcção às camadas de células espinhosa e de células em queratinização. As células atípicas adquirem algumas das características das células malignas:

- alterações na relação núcleo/citoplasma
- variações no tamanho do núcleo
- hipercromasia
- perda de polaridade
- aumento do número de figuras mitóticas (e mitoses anormais)

Estas alterações correlacionam-se frequentemente com os tipos de HPV de alto risco.

CIN III - perda progressiva da diferenciação até que todo o tecido seja totalmente substituído por células atípicas imaturas.

2) Classificação da citologia cervico-vaginal

Displasia de baixo grau (à qual corresponde CIN I)

Displasia de alto grau (à qual corresponde CIN II e CIN III)

- Nem todas as lesões começam como condilomas ou como uma CIN de grau I; na realidade elas podem-se encaixar em qualquer ponto da sequência do espectro, dependendo do tipo de HPV associado e de outros factores do hospedeiro, que abrangem o tipo de célula infectada pelo vírus.
- O tipo de HPV encontrado é um indicador potencial do comportamento da lesão, mas o risco de cancro só se deve em parte ao tipo de HPV.
- A progressão até cancro invasivo, quando ocorre, desenvolve-se num período de tempo que pode variar de alguns meses até mais de 20 anos.

Carcinoma do colo do útero

✕ Carcinoma epidermóide

- A maioria (75%) dos carcinomas do colo do útero são carcinomas epidermóides.
- Manifesta-se de 3 formas diferentes: cancro vegetante (ou exofítico), ulcerativo e infiltrativo.
- O cancro cervical avançado propaga-se por disseminação directa e invade todas as estruturas contíguas, que incluem o peritoneu, a bexiga urinária, os ureteres, o recto e a vagina. Os gânglios linfáticos locais e distantes também são afectados. Dá origem a metástases no fígado, nos pulmões, na medula óssea e em outras estruturas.

Estadiamento do cancro cervical

Estádio 0 - Carcinoma *in situ* (CIN III)

Estádio I - Carcinoma confinado ao colo do útero

Estádio II - O carcinoma estende-se para além do colo do útero mas não atinge a parede pélvica. O carcinoma invade a vagina, com excepção do seu terço inferior.

Estádio III - O carcinoma já se estendeu até à parede pélvica. Ao exame rectal, ausência de espaço livre de cancro entre o tumor e a parede pélvica. O tumor invade o terço inferior da vagina.

Estádio IV - O carcinoma já se estendeu para além da pelve verdadeira ou já atingiu a mucosa da bexiga ou do recto. Esse estágio evidentemente engloba aqueles com disseminação metastática.

10 a 25% dos carcinomas do colo do útero são adenocarcinomas, cancros adenoescamosos e cancros indiferenciados.

✕ **Adenocarcinomas** Originam-se das glândulas endocervicais e são frequentemente precedidos por uma neoplasia intra-epitelial glandular denominada adenocarcinoma *in situ*. Assim que ocorre invasão, os adenocarcinomas podem ser visualizados a olho nu e comportam-se como as lesões de células escamosas.

✕ **Carcinoma adenoescamoso** Apresentam um padrão misto, escamoso e glandular. Originam-se de células de reserva multipotentes situadas nas camadas basais do epitélio endocervical. Tendem a ter um prognóstico menos favorável do que o cancro das células escamosas em estágio similar.

Caso 1

Mulher de 25 anos, sem história clínica relevante, foi observada em consulta de rotina. As Fig. 1A, 1B e 1C documentam aspectos da citologia cérvico-vaginal colhida durante o exame ginecológico.

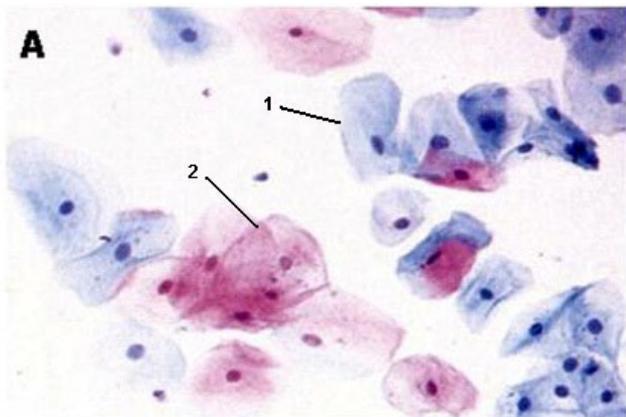


Fig. 1A

1, 2 - Células da camada superficial do epitélio pavimentoso estratificado do exocolo (não queratinizado). São células grandes, planas, com citoplasma abundante e núcleo pequeno; são células de diferenciação terminal.

As variações tintórias (azul/rosa) têm a ver com o grau de diferenciação e com o efeito hormonal nas células do epitélio superficial.

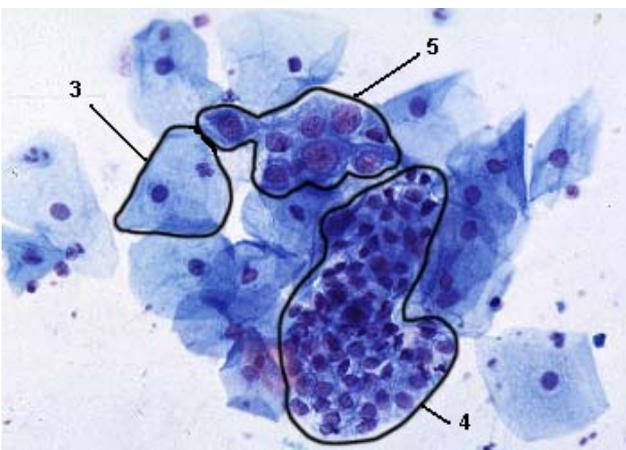


Fig. 1B

3 - célula epitelial normal da camada superficial

4 - células do endocolo (significa que a amostra estava bem colhida)

5 - células displásicas: aumento da relação núcleo/citoplasma, diferentes tamanhos relativos dos núcleos. (Não poderiam ser células parabasais porque veríamos as células parabasais iguais umas às outras, enquanto que aqui há variabilidade entre estas células: são células atípicas, displásicas)

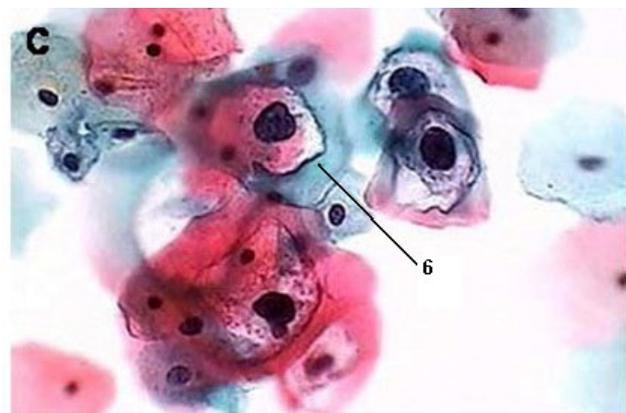


Fig. 1C

6 - Coilocitos. Observamos extensa vacuolização citoplasmática (o conteúdo citoplasmático é desviado para a periferia) e núcleos irregulares. São alterações citológicas típicas de infecção por vírus HPV.

Destas três imagens concluímos que a doente tem **infecção por HPV**, que é uma situação comum.

Informação clinicamente relevante:

- a presença de coilocitos que nos aponta para a infecção por HPV;
- a presença de algumas células ligeiramente displásicas

Consequências práticas:

- vigiar a doente (muitas destas lesões de baixo grau regridem espontaneamente; algumas podem evoluir)
- poder-se-ia também fazer um exame colposcópico para verificar se há lesões macroscópicas visíveis e, se houver lesões visíveis, biopsá-las.

A mesma mulher foi observada cerca de 6 meses depois. A Fig. 2 documenta aspectos do exame colposcópico e a Fig. 3 aspectos da biópsia do colo uterino.

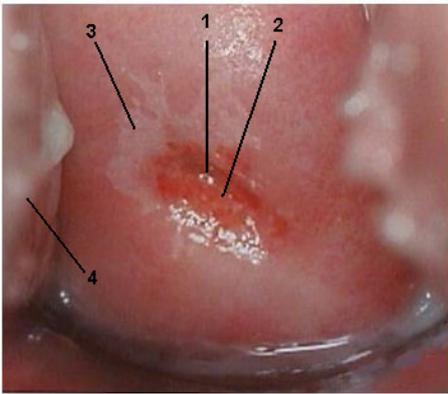


Fig. 2 - Exame colposcópico

1 - orifício do canal cervical

2 - zona revestida por epitélio cilíndrico simples à volta do orifício do canal cervical. Corresponde a revestimento do endocolo na superfície externa. (Está um pouco exteriorizada mas é uma situação completamente normal; é mais vermelha porque o epitélio cilíndrico simples é mais fino do que o epitélio pavimentoso estratificado)

3 - lesão

4 - vagina



Fig. 3 - Biópsia da zona esbranquiçada (lesão)

Seta - **Coilócitos**

(A maturação normal vai dando núcleos progressivamente mais pequenos, mas sempre regulares, e vacuolização do citoplasma à custa da acumulação de glicogénio. Para num fragmento de biópsia dizermos que uma célula é anormal temos que ver núcleos irregulares, "bicudos")

Observa-se também aumento de espessura relativa da camada de células com características basais e parabasais, podendo ver figuras de mitose em níveis mais altos do que o habitual.

Diagnóstico da lesão: **CIN I**



Fig. 4

- a linha desenhada marca a transição epitélio-conjuntiva: exteriormente à linha está o epitélio; interiormente à linha o tecido conjuntivo, estroma.

2 - células de estratos inferiores do epitélio (camadas basal e para-basal)

3 - Método complementar: hibridização *in situ* (que pretende revelar o HPV). Usam-se sondas de DNA e/ou RNA complementares do DNA e/ou RNA do HPV. O resultado é positivo: o HPV está revelado a preto.

O exame ginecológico 6 meses depois foi normal e a citologia cérvico-vaginal também foi normal.

Diagnóstico: condiloma plano (ver o aspecto plano na imagem macroscópica da lesão - Fig. 2). É uma lesão benigna, que pode ser causada por várias estirpes de HPV e é autolimitada no tempo.

Caso 2

No exame ginecológico de uma mulher de 27 anos foi observada área anormal do colo uterino. Foi efectuado esfregaço cérvicovaginal (Fig. 5) e, de imediato, foram colhidos vários fragmentos de biópsia (Fig. 6A e 6B).

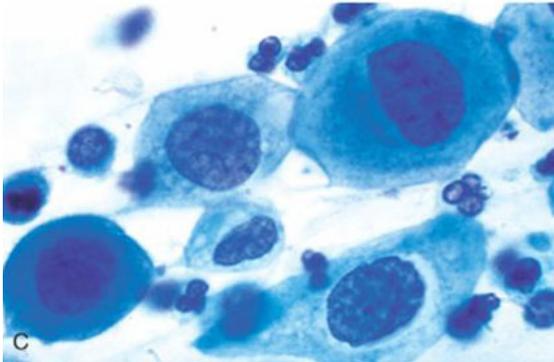


Fig. 5 - Exame citológico (esfregaço de Papanicolau)
- células pequenas com 2 ou 3 núcleos multilobados são **polimorfonucleares**
- **células displásicas de alto grau** - células com núcleos de dimensões variadas, hiper Cromáticos. (Na célula mais inferior vê-se um halo perinuclear, mas está longe de se poder chamar um coilocito.)

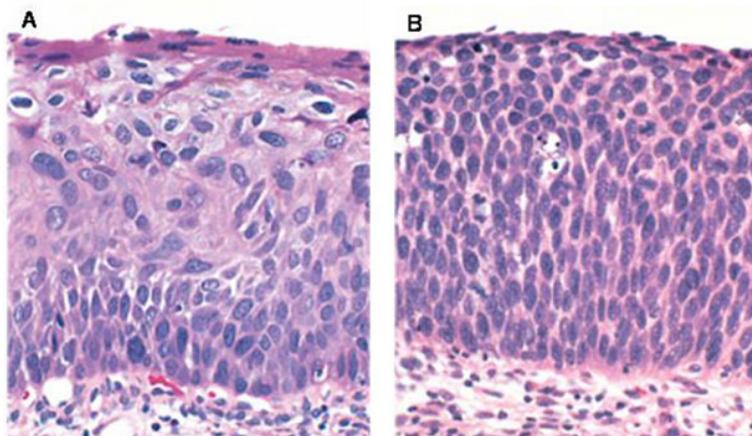


Fig. 6 - Biópsia da área anormal
A - CIN II - células atípicas (inclusive nas camadas mais baixas), com núcleos hiper Cromáticos e de diferentes tamanhos; perda de polaridade, muitas figuras mitóticas.
B - CIN III - células indiferenciadas e atípicas em todas as camadas.

A uma lesão de alto grau na citologia corresponde um CIN II ou CIN III em biópsia.

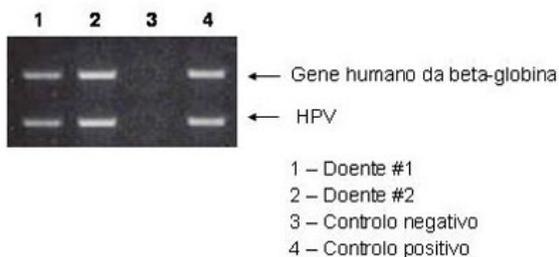


Fig 7

Método complementar de estudo: **PCR**

A beta-globina é um gene que existe em todas as células do nosso organismo e numa cópia simples. É usada para servir de controlo: para nos resultados negativos nos certificarmos que a amostra realmente tinha DNA e que houve amplificação desse DNA.

Até agora descobrimos por citologia que a doente tem uma displasia de alto grau à qual corresponde CIN II, CIN III na biópsia. Efectuou-se PCR e confirmou-se ser uma infecção por HPV. O próximo passo é então determinar a estirpe de HPV, por genotipagem.

É útil saber se é uma estirpe de alto risco de desenvolvimento de carcinoma ou estirpe de baixo risco. Se for de baixo risco, esta doente não precisa de ser tratada de imediato. Se for de alto risco, uma vez que a lesão intraepitelial já é de alto grau, é recomendado tratamento imediato.

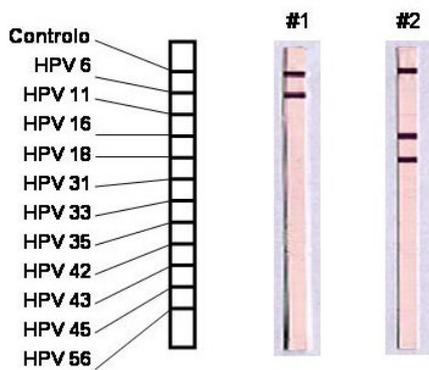


Fig. 8

Doente 1 - infectada por HPV 6 (baixo risco).

Doente 2 - infectada por HPV 16 e por HPV 18 (ambas de alto risco); é comum a coexistência de estirpes.

Assim, enquanto que em 7 se usam primers dirigidos para zonas comuns das estirpes todas (o objectivo era apenas saber se estava infectada por HPV ou não), em 8 usam-se pequenos segmentos de sequências de DNA específicas para cada estirpe de HPV (o objectivo é saber qual a estirpe que está a causar a infecção).

Caso 3

Mulher de 40 anos com história de metrorragias. Foram efectuados esfregaço cérvico-vaginal (Fig. 9A e 9B) e colheita de vários fragmentos de biopsia (Fig. 10A, 10B e 10C).

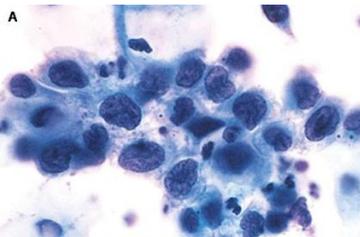


Fig 9A

Células atípicas, de tamanho variável, relação núcleo/citoplasma elevada e núcleos irregulares. Lesão de alto grau.

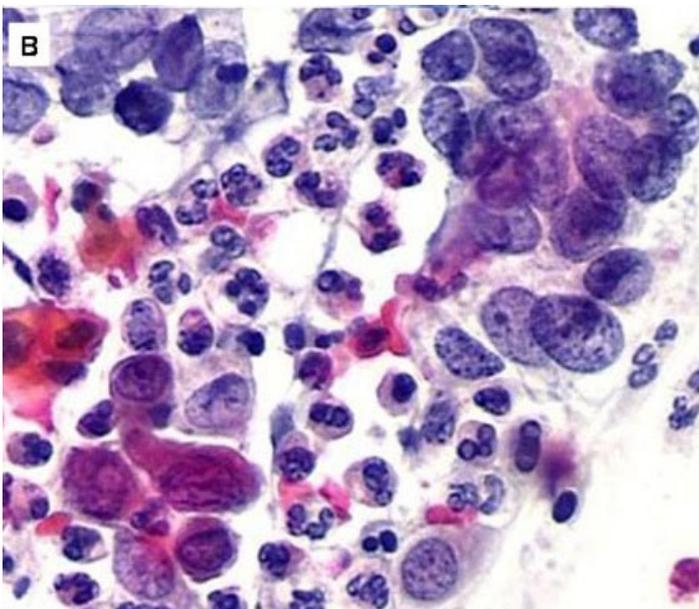


Fig 9B

Para além das células atípicas vêem-se:

- zonas vermelhas e densas, que representam a presença de queratina no citoplasma das células
- vários PMN (principalmente na zona central da imagem)

É uma imagem de "fundo sujo", pois vêem-se eritrócitos, leucócitos, e material proteináceo. Isto significa que algumas áreas da lesão estão muito provavelmente ulceradas. *Se tivermos só leucócitos dizemos "há lá bicho", mas não quer dizer que estejam ulceradas. Se virmos leucócitos e hemorragia e material proteináceo já estamos a pensar que muito provavelmente algumas áreas da lesão estão ulceradas.*

Carcinoma do tipo pavimentoso, (carcinoma, porque até já há ulceração e se fosse apenas carcinoma "in situ" também não queratinizava)

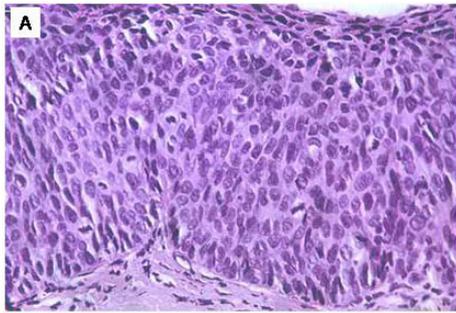
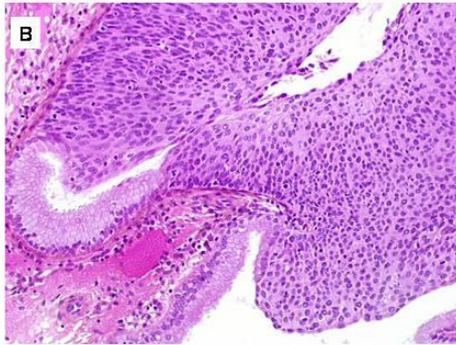
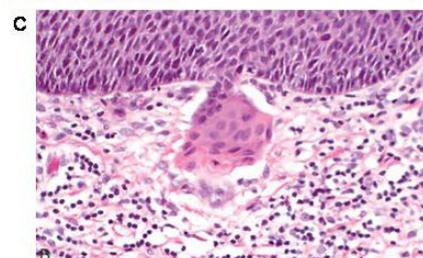


Fig 10 - Biópsia do colo uterino

10A - CIN III - células indiferenciadas e atípicas em todas as camadas; mitoses numerosas.

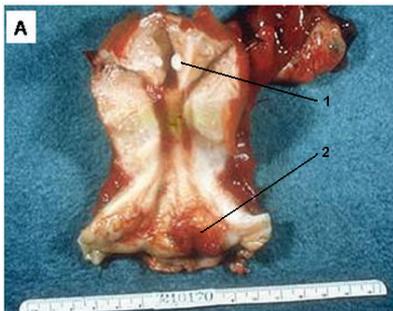


10B - Progressão de CIN III para as glândulas endocervicais. Metaplasia do epitélio glandular, que fica substituído pelo epitélio pavimentoso alterado. (Não é invasão!)



10C - Invasão do tecido subjacente (estroma) - ninho de invasão verdadeiro.
Carcinoma micro-invasor.

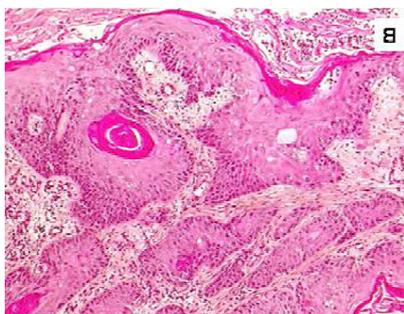
A doente foi submetida a intervenção cirúrgica, cuja peça está documentada nas Fig. 11A e 11B.



11A

1 - **Leiomioma** (bem delimitado, redondo)

2 - **Carcinoma do colo do útero** (lesão saliente, mal delimitada e avermelhada, com alguma erosão)



11B

Carcinoma epidermóide (bem diferenciado e produz muita queratina)

Espera-se encontrar nestas lesões um HPV de alto risco (16, 18).

(as restantes perguntas do Caso 3 estão respondidas na Introdução Teórica - Patogénese, página 2)

Caso 4

Mulher de 42 anos com história de pequenas perdas hemáticas vaginais irregulares (fora do período menstrual) e ocasionalmente após relações sexuais. Durante o exame ginecológico foram efectuadas biópsias do colo uterino (Fig. 12). Ulteriormente foi submetida a histerectomia total (Fig. 13).

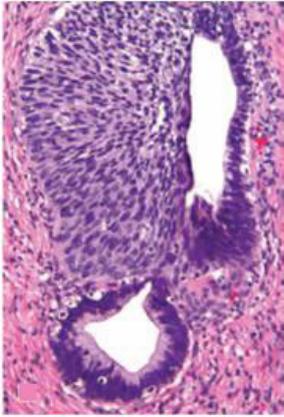


Fig 12
Adenocarcinoma *in situ*, associado a um CIN III.

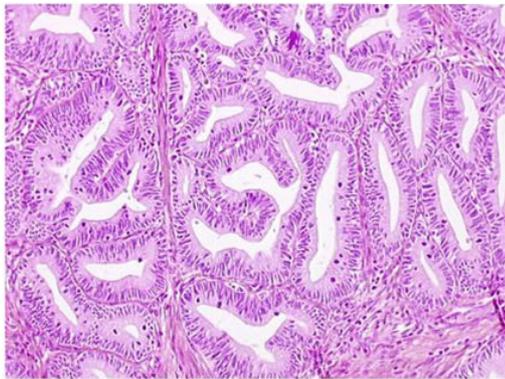


Fig 13
Adenocarcinoma do endométrio.

Glossário

- colo do útero
- HPV - vírus do papiloma humano
- HPV 6, 11, 16, 18
- HPV E6, HPV E7
- CIN - cervical intraepithelial neoplasm
- CIN I, II, III
- condiloma; condiloma acuminado
- carcinoma epidermóide (escamoso, pavimentoso)
- carcinoma epidermóide *in situ*

Esperemos que esta aula seja útil para o vosso estudo! Boa sorte para os exames!

Magda Bento

Sara Pedrosa