

Citopatologia em medicina clínica

Na aula de hoje nos vamos discutir alguns aspectos do uso da citopatologia na medicina clínica. Quando falamos em citopatologia, referimo-nos a três grandes grupos; uma k vamos falar mais hoje que é a citologia ginecológica, outra que é chamada citologia esfoliativa não ginecológica (p.e. são células retiradas dos derrames pleurais, da urina, do liquor...), e o 3º tipo de citologia que nós vamos tratar mais na próxima aula que é a citologia aspirativa.

E vamos começar a falar então a respeito da citologia ginecológica. A citologia ginecológica, ou também chamada cervico-vaginal, foi inventada, ou foi desenvolvida, por este indivíduo que se chama Papanicolau. No fim da década de 50, início da década de 60, introduziu um método de rastreio do cancro colo do útero, que fez, como podem ver aqui no gráfico, com que este cancro que nos anos 40 era a causa mais frequente de morte por cancro nas mulheres americanas, passasse a ocupar o 7º, 8º lugar na década de 90.

Esta é a primeira e talvez a única muito bem sucedida medida de prevenção deste cancro. A introdução ao teste, em homenagem ao papanicolau, foi chamada de teste do papanicolau. Esse teste como vocês podem ver por este gráfico, teve 1 êxito muito grande, entretanto não foi um teste perfeito, não preveniu o cancro do colo do útero a 100%. Seria de esperar, caso fosse 1 teste totalmente perfeito, que prevenisse praticamente todos os casos de cancro do colo do útero. Apesar de ser o mais bem sucedido que existe não foi perfeito.

Então, em 1950 quando foi introduzido o teste papanicolau, o carcinoma do colo do útero era a 1ª causa de morte de cancro nas mulheres americanas, 35 000 mulheres por ano. E cerca de 50 anos depois, era estimada como a 13ª causa de morte por cancro, estimando apenas 4 100 mortes no ano de 2003. Portanto uma diminuição drástica de nº de mortes por ano.

Como e k s faz o teste de papanicolau?

O teste papanicolau, ou citologia cervico-vaginal de rastreio, deve ser feita pelo menos uma vez por ano nas mulheres com vida sexual activa. Após o primeiro teste, a sequência dos seguintes é muito variável, sendo que à medida que 3 testes forem negativos, este intervalo de colheita pode ser alargado.

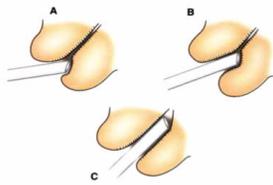
Em geral, na altura da menopausa, se ate lá o teste for negativo, pode passar a ser feito de 5 em 5 ou de 10 em 10 anos.

Como e k e feita a colheita tradicional para a citologia cervico-vaginal?



É feita com a espátula que vêem aqui, isto é o colo do útero. Vocês já aprenderam que a maior parte das lesões do colo do útero se iniciam na junção escamo-colunar, entre a ectocervix e a endocervix, por isso esta espátula tem este formato para entrar um pouco na endocervix. Em seguida faz-se o movimento rotatório

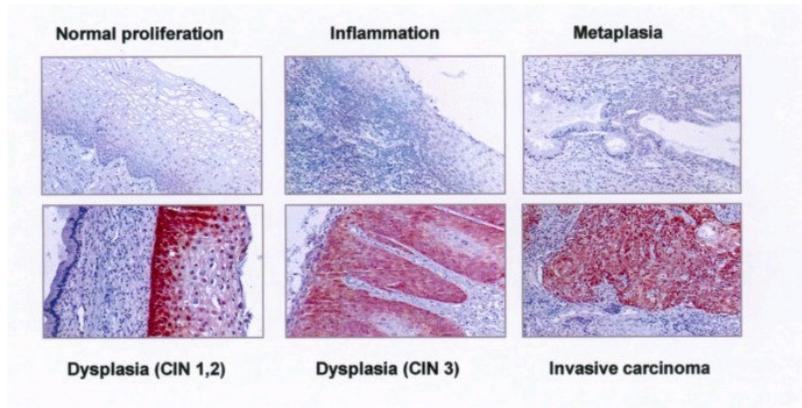
e retiram-se as células, principalmente as células da transição entre o epitélio escamoso e o epitélio glandular!



Porque é que a citologia cervico-vaginal teve tanto êxito?

Teve tanto êxito porque o cancro do colo do útero tem uma progressão mural que é muito lenta e muito bem conhecida. Já tiveram o seminário, já foram as aulas praticas e sabem que antes de termos o carcinoma invasivo do colo do útero há alterações do epitélio estratificado pavimentoso que passam por diferentes fases, as chamadas neoplasias intra-epiteliais cervicais, que vão desde o grau 1 quando atinge o terço inferior do epitélio, grau 2 quando atinge 2 terços do epitélio e carcinoma in situ quando as alterações citológicas atingem toda a espessura do epitélio.

E esta progressão desde o epitélio normal até termos o carcinoma in situ demora em media 10 a 15 anos. Portanto todas as alterações durante estes 10 a 15 anos podem ser reconhecidas durante a colheita do teste papanicolau. Evidentemente se vocês detectarem uma lesão no teste, essa lesão tem um tratamento, o qual pode ser: a remoção cirúrgica ou pode ser queimada, por laser ou por gelo. E assim se evita a progressão dessa lesão.



Como e k essas alterações aparecem?

Na citologia classificamos estas lesões em dois grupos: neoplasia intra epitelial cervical (que inclui a chamada de lesão intra epitelial escamosa de baixo grau) e a lesão intra epitelial escamosa d alto grau (CIN 2 e o CIN 3).

Ambas as imagens mostram células atípicas, com núcleos aumentados de tamanho em relação ao normal, com cromatina grosseira... entretanto a disproporção do tamanho do núcleo e do tamanho do citoplasma é muito maior nas lesões de alto grau, onde há muito núcleo para pouco citoplasma, do que nas lesões de baixo grau, onde aumenta o núcleo mas também o citoplasma.



células alteradas

Porque e que se faz essa distinção?

Primeiro esta é uma lesão (intra epitelial escamosa de alto grau) de muito mais risco de evolução para cancro do colo enquanto que a de baixo grau comporta um menor risco, pode inclusive regredir espontaneamente, e portanto o tratamento destas duas lesões também é diferente. Enquanto que as lesões de alto grau necessitam, quase sempre, de remoção do colo do útero, com uma cirurgia que se chama de conização, nas lesões de baixo grau podemos fazer apenas um tratamento localizado para se retirar a área da lesão. O que é que se quer evitar? O que se quer evitar e que haja progressão da lesão intra epitelial escamosa de alto grau, que haja invasão.

Normalmente o local de invasão ocorre próximo a um vaso linfático. Portanto mm a invasão sendo muito pequena, já é uma invasão linfática, ou seja, esta tumor mesmo com esta pequena invasão já pode dar metástases.

Temos também o carcinoma invasivo do colo do útero, que é uma lesão muito grande, extensa e muito destrutiva do colo! Extensamente invasivo. Este carcinoma pode matar as mulheres, ou por metástases à distância, principalmente no pulmão, ou por invasão das estruturas vizinhas. Pode invadir por exemplo a vagina, o recto, a bexiga. Quando invade a bexiga ou o recto costuma dar fístulas: vesico-uterinas, entra a bexiga e o útero ou recto-uterinas entre o recto e o útero. Imaginem esse tipo de fístulas, as complicações, as infecções que advêm daí. Às vezes as mulheres morrem por septicemia em consequência dessas complicações. Esse tumor pode invadir os ureteres, e dar obstrução ureteral bilateral, insuficiência renal, também causas de morte.

O cancro do colo do útero invasivo além de matar as mulheres, em geral, quando progride a qualidade de vida da mulher com esse cancro é muito má. Eu disse-vos à pouco que a convencional cervico-vaginal tem vantagens, p.e: há mais de 50 anos que há experiência com esse tipo de bateria de teste; segundo, é um teste de muito baixo custo, ou seja, só precisa de uma lâmina, coloração, não exige nenhuma coloração especializada.

Quais são as desvantagens?

O tempo de observação de uma lâmina! Têm ideia de quantas mulheres na região norte de Portugal precisam de ser rastreadas? 700000 mulheres em idade para serem rastreadas. Imaginem o que é colher e observar uma citologia de 700000 mulheres durante um ano. Isto requer um grande número de citotécnicos e de citopatologistas treinados para verem essas lâminas, não é só colher. A citologia cervico-vaginal papanicolau não é infalível, é um teste que tem falsos negativos. Ou seja, casos em que a citologia é normal, mas a mulher tem uma lesão no colo do útero. Várias iniciativas têm sido feitas para melhorar a sensibilidade do teste papanicolau. É um teste com alta especificidade, ou seja, quando diz que tem lesão, tem mesmo. É quase 100%. Mas é um teste que tem baixa sensibilidade, de 70 a 80%. Ou seja, em 20 a 30% dos casos existe lesão mas o teste não detecta.

Outro dos problemas é a colheita da matéria. 60% dos falsos negativos são por este motivo, ou porque não colheram células do local adequado ou não foram bem fixadas. 25% são problemas do rasteio e só 15% são problemas de interpretação da lâmina, não reconhecimento das células como alteradas. A colheita de material (feita com uma espátula ou uma escova) causa problemas porque o material que é recolhido do esfregaço é colocado em cima de uma lâmina mas o restante que ainda se encontra na espátula vai para o lixo. Essa espátula que vai para o lixo vai com uma grande quantidade de células, nem todas as células caíram em cima da lâmina.

Depois de esfregado coloca-se um fixador, normalmente um spray, por cima da lâmina, mas às vezes o indivíduo demora muito a colocar o spray, por volta de 30 a 40 seg., e essa demora vai causar uma série de artefactos que podem prejudicar a interpretação da lâmina.

A alternativa para isto foi proposta há 5, 6 anos atrás que é a chamada **citologia de base-líquida ou em meio líquido**. A diferença desta citologia é que em vez de se colocar a escova em cima de uma lâmina, é colocada dentro de um frasco. Quebra-se a escova e parte dela fica mergulhada no líquido. É este líquido que vai passar por um processo de filtração e fazer com que estas células todas sejam como se fosse um imprint, sejam “carimbadas” em cima da lâmina. Isto é tudo feito automaticamente, a partir do frasco até à lâmina pronta.

Como é que a base-líquida funciona?

As células têm que entrar dentro do líquido e ser centrifugadas, isto é feito em aparelhos. O frasco é colocado dentro do aparelho, ele faz a dispersão das células dentro do frasco, faz uma recolha por aspiração e depois transfere essas células para dentro da superfície da lâmina especial, magnetizada, para que as células não caiam.

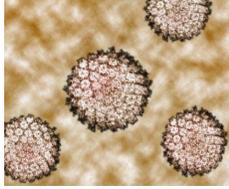
Quais são as vantagens desta citologia em relação à convencional?

Em primeiro lugar, ela tem uma maior sensibilidade, ela detecta mais lesões de alto grau, e a grande vantagem é que ela permite que aquele material seja guardado para outros testes futuros, enquanto que na convencional é uma colheita única. O teste que teria vantagem de ser feito aqui é a pesquisa do vírus de HPV, que como vocês sabem está altamente relacionado com o cancro do colo do útero.

Qual é a grande desvantagem desta citologia em relação à convencional?

O preço. O IRS paga tudo na citologia convencional, o custo de todo é de 5,98 euros. Já disse que a grande vantagem da citologia de base-líquida é a pesquisa do HPV, e sabem que o teste de HPV positivo é o maior factor de risco para o desenvolvimento de lesões intra-epiteliais escamosas do carcinoma do colo do útero.

A infecção por HPV precede e prediz o desenvolvimento de lesões intra-epiteliais escamosas e do carcinoma do colo do útero. Virtualmente 100% dos carcinomas cervicais invasores em todo o mundo estão relacionados com ao HPV. Não há dúvida nenhuma em dizer que o **HPV é o agente causador do cancro do colo do útero**.



O HPV é um vírus de dupla hélice de DNA cuja transmissão é feita por via sexual e cujo período de incubação é de poucos meses até um ano. (a mulher pode ter sido infectada e só depois de um ano é que demonstra sinais de que de facto foi infectada).

Há muitos tipos de HPV sendo os mais frequentes: **6,11, 16, 18 e 31** que estão associados principalmente a lesões ânus-genitais: o **condiloma acuminado**, as **lesões intraepiteliais escamosas** e os **carcinomas invasivos do ânus e do colo de útero**. Estas lesões todas só existem se existir infecção por HPV.

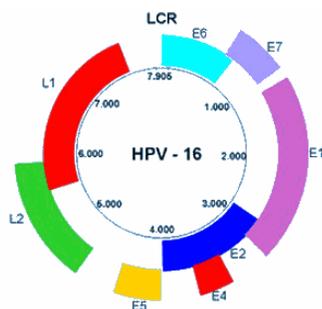
O HPV não é um vírus que infecta exclusivamente os humanos, também a tartaruga, o cavalo, o gato e o cão são afectados por tipos diferentes de vírus papiloma o que se pode tornar muito importante quando se faz investigação neste campo.

Nos humanos quais são as lesões que o HPV produz?

Verrugas a nível da cavidade oral: língua, lábio e inclusive na laringe. Quando uma mãe está afectada pelo HPV e tem lesões no canal vaginal e tem parto normal, o recém nascido pode-se tornar infectado através do contacto com o líquido vaginal e pode desenvolver uma lesão muito grave que é chamada de **papilomatose da laringe** (com múltiplos papilomas da laringe) causando obstrução respiratória no RN. Então se uma mulher tiver diagnóstico antes do parto de HPV é recomendado fazer-se parto por cesariana para não infectar o RN.

O HPV também causa **verrugas genitais na região anal** e inclusive **carcinoma invasivo da região anal**. Na região genital o HPV, principalmente o 6 e o 11 pode produzir o **condiloma acuminado** uma DST que se caracteriza por lesões na região vulvo-vaginal e na região peniana. O risco de malignização destas lesões é muito baixo uma vez que não são estes HPVs que provocam o carcinoma do colo do útero. Este é mais frequentemente provocado por 16, 18 e 31.

É muito importante para o diagnóstico e prevenção ter conhecimento das proteínas que fazem parte do vírus: a **L1** que faz parte da cápsula e é o maior constituinte desta; dentro do vírus há duas proteínas que estão ligadas à probabilidade de malignização causada pelo vírus que são: **E6** e **E7**. E o que fazem? Inactivam dois genes supressores tumorais importantes que são o **P53** e o **Rb** (gene do retinoblastoma): vão produzir um grande descontrolo das proliferações celulares que faz com que as células infectadas não comecem a proliferar e desenvolvem então uma lesão maligna. É por este mecanismo que o HPV torna uma célula maligna!



Como é que podemos diagnosticar que uma mulher está infectada por HPV?

Os HPV que dão cancro não produzem qualquer tipo de lesão exterior ou sintoma, eles são descobertos somente pelo rastreio, através da citologia. No **teste Papanicolau** ou citologia de base líquida, as células infectadas têm um aspecto morfológico característico: são binucleadas e têm um halo claro à volta do núcleo (coilocitos), têm coilocitose.

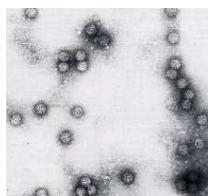
E como determinamos que tipo de HPV se trata?

Podemos utilizar 3 técnicas: **hibridização in situ** nas células com sondas contra o HPV, **PCR** ou o método da **captura híbrida**, que é o recomendado e o mais utilizado.

Método da captura híbrida: temos a citologia no meio líquido, extrai-se DNA daquelas células, coloca-se numa suspensão onde existem sondas contra HPV marcadas e vai haver hibridização entre o DNA das células afectadas pelo HPV e as sondas complementares do HPV, isto se houver concordância entre os dois. Se houver positividade, (HPV positivo) vai haver um sinal luminoso que é interpretado numa máquina conforme seja **HPV positivo por 16, 18 31** ou **HPV positivo por 6 e 11**.

A máquina analisa os HPV em dois grupos e não em separado: os de baixo risco para cancro 6 e 11 e os de alto 16,18 e 31.

Se usarmos somente a citologia por mais bem feita que tenha sido feita, a sensibilidade é de 76, 2% para detectar, só o teste de HPV 89,2 % e cito + HPV 96,9 %!!! A associação é o melhor método sem qualquer dúvida.



vírus HPV

O que se faz para prevenir o cancro?

As mulheres são rastreadas com citologias, as que não tenham uma citologia normal fazem uma biopsia da lesão e os percursores são tratados com cirurgia a laser e assim previne-se a progressão para cancro. Estes procedimentos eliminam quase 80% dos cancros do colo útero.

Qual é o problema que ainda se mantém?

O teste de Papanicolau tem sensibilidade baixa: cerca de 70% para mulheres que façam o teste todos os anos, que sejam seguidas em consultas regulares num programa de rastreio muito bem estruturado. Actualmente em Portugal só existe um programa com estas características: em Coimbra. Este problema reflecte-se nos dados: somos dos países da União Europeia com mais casos de cancro colo d útero. A Grécia também tem uma incidência elevada.

Se temos esse problema, qual a solução para eliminarmos os casos?

Já a temos porque sabemos o agente (HPV) que causa o cancro e isso é bom para a prevenção do cancro. Por exemplo, como há muitas causas no cancro da mama, torna-se muito difícil preveni-lo.

Há vários cancros que tal como o do colo do útero têm causa infecciosa: do estômago por *Helicobacter pylori*, do fígado pelo vírus hepatite, etc. Neste último diminuiu muito a incidência após o aparecimento da vacina contra a hepatite B, embora não haja vacina para a hepatite C mas é um exemplo de cancro onde se conseguiu diminuir bastante o número de casos através da administração de uma vacina.

O ideal era então criar uma vacina contra o HPV.

História do primeiro sucesso da vacina contra HPV: o professor fez a descrição da imagem de um cão com uma papilomatose oral. Foi na década de noventa que se conseguiu desenvolver uma vacina contra o HPV e essa vacina preveniu o aparecimento de novas lesões na cavidade oral do cão.

Qual é a principal proteína necessária para se desenvolver uma vacina?

È a proteína da cápsula do vírus porque ela é fundamental, sem a cápsula o vírus não sobrevive, ela entra dentro da célula mas não é capaz de induzir nenhuma alteração no DNA.

Como se fez a vacina?

A partir de um vírus retirou-se a cápsula, que é comum aos vários tipos de HPV, colocou no DNA de um plasmídeo, induziu-se este plasmídeo a produzir várias proteínas iguais às da cápsula do vírus e essas proteínas dos vírus foram injectadas em voluntários humanos para desenvolver anticorpos contra a proteína L1, proteína da cápsula do HPV.

O professor fez referência a um ensaio clínico de uma vacina monovalente, só contra o HPV 16, cujos resultados foram: 755 mulheres foram vacinadas, 750 receberam placebo e todas foram acompanhadas por um período de 5 anos. Dessas 750 mulheres que receberam placebo, 92 desenvolveram infecção persistente pelo HPV e 24 desenvolveram lesão intraepitelial escamosa. Das 755 mulheres vacinadas nenhuma desenvolveu infecções por HPV ou lesões intraepitelial escamosas, mostrando a **eficácia da vacina que é praticamente 100 %**.

Que vacinas existem em relação ao HPV?

Existem duas vacinas: uma **quadrivalente contra os HPVs 6, 11, 16 e 18** aprovada na Europa em Dezembro de 2006 e está no mercado desde Março, que previne tanto os condilomas (6 e 11) como as lesões intraepiteliais escamosas cancro colo útero; e a outra é **bivalente contra HPVs 16 e 18** que previne contra o cancro mas não contra os condilomas e provavelmente será aprovada ainda este ano. Ambas mostram-se muito eficazes em prevenir infecções persistentes e lesões intraepiteliais escamosas. Tem de ser dadas em 3 doses, como a vacina da hepatite B, e rondam os 400€.

Reacções adversas da vacina: algumas doentes relataram prurido no sítio onde foi dada a vacina, eritema e só 0,1% relataram sintomas sistémicos como febre. Estes dados permitem dizer que a vacina parece ser muito segura.

Em relação às reacções à vacina, há muito poucas experiências adversas com a vacina. Algumas doentes relataram prurido no sítio da injeção, eritema e, só 0,1% das doentes tiveram sintomas sistémicos como febre, portanto, intolerância à vacina, o que indica que a vacina parece ser muito segura.

Quando administrar a vacina?

A vacina é administrada em mulheres entre os 9 e os 26 anos de idade para prevenir as seguintes doenças causadas pelo HPV 6, 11, 16 e 18: cancro do colo do útero, verrugas genitais, lesões intra-epiteliais escamosas do colo, da vulva e da vagina.

Qual o potencial da vacina para reduzir a doença associada ao HPV?

Acredita-se que por ano, nos EUA, exista 1 milhão de novos casos de lesão intra-epitelial escamosa de grau 2 e grau 3, também quase 1 milhão de verrugas genitais e detectam-se quase 10 mil carcinomas do colo do útero e quase 5 mil carcinomas anais – seriam prevenidos. Para termos uma noção, a vacina contra a meningite previne cerca de 100 casos por ano, portanto não há dúvidas que a introdução desta vacina teria um grande impacto na saúde pública.

É importante referenciar que a aprovação da vacina não equivale à utilização da vacina. Primeiro há a questão do dinheiro – nos EUA a vacina será sempre paga pelo próprio, enquanto que na Europa existem já dois países cujo Sistema Nacional de Saúde paga a vacina, que é a França e a Áustria, estando em estudo essa hipótese em Itália. Existem outras vacinas que também não entraram imediatamente em utilização, por exemplo a vacina contra a Hepatite B, e a da Varicela (sendo esta ainda opcional).

A introdução da vacina requer um grande investimento em Educação Sexual – dos pais, dos médicos e das crianças. Provavelmente em alguns países haverá mais dificuldade em introduzir a vacina porque a melhor medida para prevenir o cancro do útero é nunca ter relações sexuais e os pais de uma criança com 9 ou 10 anos ainda não pensam que o filho terá relações sexuais. Nos EUA a média de idade em que as raparigas iniciam a vida sexual é aos 12 anos, daí a recomendação a partir dos 9. A partir dos 26 anos não se deve vacinar mais porque praticamente todas as mulheres já foram expostas ao HPV, portanto a vacina já não terá o efeito protector. Existem ainda muitos debates acerca da vacinação dos homens.

Vamos abordar três grandes grupos de citologia:

- Citologia Cervico-vaginal (esfoliativa)
- Citologia Esfoliativa não-ginecológica
- Citologia Aspirativa

Dentro da Citologia Esfoliativa não-ginecológica existe a Citologia dos Derrames Cavitários. A presença de células neoplásicas num derrame cavitário do pulmão é um sinal inequívoco de disseminação tumoral – metástase. Quando se esvazia um derrame pleural ou ascítico, realiza-se um exame citológico para detectar células neoplásicas. No líquido podem-se detectar metástases de adenocarcinoma, de carcinoma da mama... E como, por vezes, só a morfologia não é suficiente para determinar se são células malignas, utilizam-se outras técnicas como a Imunocitoquímica ou Técnicas de Biologia Molecular.

Podemos extrair o DNA do líquido e verificar se existem alterações. Por exemplo, num derrame pleural de um cancro da mama foi estudada uma região do

cromossoma 17. Na mama normal existem os dois alelos, como é de se esperar, enquanto que no tumor havia perda de um alelo, ou seja, perda de heterozigotia. Na metástase, se o perfil for igual ao do tumor, significa que lá existem células metastáticas. Mas podem existir células inflamatórias ou células mesoteliais (células de revestimento das cavidades).

Do mesmo modo, tanto a urina e para o lavado vesical são utilizados para acompanhar doentes com cancro da bexiga. Quando existem poucas células têm que se utilizar outras técnicas para detectar células neoplásicas, sendo as principais a Análise de Microssatélites e a Técnica de Fish (para ver múltiplas cópias de um cromossoma).

A Citologia Aspirativa é interpretada com a clínica e com a imagem. Praticamente todos os órgãos que estão ao alcance de uma agulha podem ser amostrado por citologia aspirativa, principalmente se ela for guiada por Ecografia. Pode-se aspirar nódulos da mama, nódulos da tiróide, gânglios linfáticos (tanto periféricos como profundos, sendo que nos profundos é guiada por Ecografia, RX ou TAC) e também tumores das partes móveis. É essencial que a agulha esteja no interior da lesão.

As grandes vantagens de se utilizar a citopatologia na clínica são:

- alívio da ansiedade do doente
- evitar ou adiar cirurgias
- prevenção do cancro, principalmente o do colo do útero
- o diagnóstico de malignidade pode auxiliar o estadiamento do planeamento cirúrgico
- reduz os custos
- as complicações são praticamente nulas (tanto da citologia esfoliativa como da aspirativa)

Leonor Fontes
Leonor Meira
Mariana Moreira
Turma 9

2006/2007