



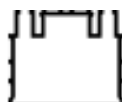
**Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Oswaldo Cruz
Doutorado em Biologia Celular e
Molecular**

**ESTUDO IMUNOISTOQUÍMICO DA PROTEÍNA p53 EM
LESÃO CONDILOMATOSA DE PÊNIS**

João Carlos de Souza Côrtes Junior

Rio de Janeiro

2006



FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Oswaldo Cruz
Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular

João Carlos de Souza Côrtes Junior

**ESTUDO IMUNOISTOQUÍMICO DA PROTEÍNA p53 EM LESÃO
CONDILOMATOSA DE PÊNIS**

Tese apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz
como parte dos requisitos para obtenção do
grau de Doutor em Biologia Celular e
Molecular

Orientadores: Prof. Dr. José Augusto da Costa Nery
Prof. Dr. Gerson Cotta-Pereira

Rio de Janeiro
2006



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Oswaldo Cruz

Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular

João Carlos de Souza Côrtes Junior

**ESTUDO IMUNOISTOQUÍMICO DA PROTEÍNA p53 EM LESÃO
CONDILOMATOSA DE PÊNIS**

**Orientadores: Prof. Dr. José Augusto da Costa Nery
Prof. Dr. Gerson Cotta-Pereira**

Aprovada em 28/11/2006

Examinadores:

Profa. Dra. Ester Maria Mota
Departamento de Patologia - Instituto Oswaldo Cruz
FIOCRUZ - Presidente

Prof. Dr. Mauro Romero Leal Passos
Setor de Doenças Sexualmente Transmissíveis – DST
Universidade Federal Fluminense (UFF)

Prof. Dr. Marcus José do Amaral Vasconcellos
Disciplina de Obstetrícia
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO)

Para Altamira de Souza Côrtes

AGRADECIMENTOS

A todos os colegas do serviço de Dermatologia Sanitária da Santa Casa da Misericórdia do Rio de Janeiro que me auxiliaram no atendimento aos pacientes.

Ao laboratório de histoquímica e imunohistoquímica da 3ª Enfermaria da Santa Casa da Misericórdia do Rio de Janeiro pelo patrocínio nas técnicas de microscopia de campo claro e imunoistoquímica.

A Profa. Priscila Tavares Guedes pelo auxílio com as técnicas de imunoistoquímica.

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Augusto da Costa Nery, pelo auxílio no atendimento ambulatorial.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Gerson Cotta-Pereira pelo grande auxílio, exemplo e apoio durante a realização do trabalho.

Aos meus pais que são meus exemplos e sempre estiveram ao meu lado, me apoiando e estimulando.

A Paula, João Pedro e João Vítor pelo apoio, estímulo, amor, compreensão e principalmente por serem a motivação da minha vida.

A Altamira de Souza Côrtes, minha querida avó, que foi uma das minhas maiores incentivadoras, sempre esteve ao meu lado e que apesar de sempre presente no meu coração, faz falta todos os dias da minha vida.

SUMÁRIO

	Página
I – INTRODUÇÃO	1
II – REVISÃO DA LITERATURA	3
II.1 – Definição	3
II.2 – Aspectos Históricos	4
II.3 – Etiologia	9
II.4 – Epidemiologia	14
II.5 – História natural da infecção pelo HPV	18
5.1 – HPV e carcinogênese cervical	23
5.2 – Participação da proteína p53 na carcinogênese	26
5.3 – Transmissão do HPV	29
5.4 – Diagnóstico	32
II.6 – Tratamento	35
III – OBJETIVOS	41
IV – METODOLOGIA	42
V – RESULTADOS	
ARTIGO 1: O impacto epidemiológico e clínico da infecção pelo HPV	44
ARTIGO 2: Estudo imunoistoquímico da infecção pelo papilomavírus humano (HPV): detecção da proteína p53 em condiloma acuminado de pênis	59

VI – CONSIDERAÇÕES FINAIS	87
VII – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88
VIII – ANEXOS	100

RESUMO

Nos últimos anos, o interesse pelo papilomavírus humano (HPV) tem crescido em função do acúmulo de evidências do seu potencial oncogênico, principalmente no trato anogenital. Existe cerca de 100 tipos de HPV, porém apenas 40 tipos geram lesões no trato anogenital. O objetivo deste trabalho é demonstrar a expressão imunoistoquímica da proteína p53 em lesões condilomatosas de pênis em pacientes acompanhados no setor de Dermatologia do Serviço da Santa Casa do Rio de Janeiro.

Foram escritos dois artigos. No primeiro artigo foi realizada uma revisão bibliográfica das manifestações clínicas e epidemiológicas da infecção pelo HPV e, no segundo, demonstrou a expressão imunoistoquímica da proteína p53 em lesão condilomatosa de pênis.

O primeiro artigo demonstrou que a epidemia de HPV tem crescido nas últimas décadas e, atualmente, pode ser considerada a doença sexualmente transmissível mais prevalente em todo o mundo, contudo a manifestação clínica da infecção (condilomatosa) manifesta-se em apenas 1% da população infectada e o maior problema estaria relacionado às infecções subclínicas ou latentes, que poderiam acometer grande parte da população sexualmente ativa, estando envolvidas em processos de carcinogênese. Apesar da importância das manifestações clínicas e epidemiológicas na infecção pelo HPV, o artigo também avaliou outros problemas subjetivos que não conseguem ser identificados por métodos laboratoriais: as complicações psicológicas e sociais da infecção pelo HPV.

O segundo artigo avaliou a expressão da proteína p53 em lesões condilomatosas de pênis. Foram selecionados três pacientes com diagnóstico clínico de condiloma acuminado sendo realizada biópsia das lesões

condilomatosas. As lesões dos três pacientes tiveram o diagnóstico histopatológico de infecção por HPV de baixo grau, com expressão positiva da proteína p53. Todos os casos demonstraram hiperplasia epitelial e coilocitose. Dois casos demonstraram paraqueratose e apenas um caso demonstrou hiperqueratose. A expressão da proteína p53 foi positiva em todas as camadas do epitélio infectado e, em um paciente, observou-se forte expressão concentrada na camada basal. A expressão da proteína p53 demonstrou não ser um marcador prognóstico eficiente na oncogênese pelo HPV, pois se encontra positivo em lesões de baixo grau.

A conclusão deste trabalho é que a expressão da proteína p53 está presente nas infecções pelo HPV e não pode ser relacionada com a apresentação clínica da lesão nem com a alteração histopatológica epitelial.

ABSTRACT

In the last years the interest in human papilloma-virus (HPV) has grown due to an accumulation of evidence of its oncogenic potential, mainly in the anogenital tract. There are about hundred types of HPV, however only 40 generate lesions in the anogenital tract. The purpose of this study is to demonstrate the immunohistochemistry expression of the p53 protein in the penis condylomatose lesions in accompanied patients at the Dermatology Sector of the Service of Santa Casa da Misericórdia of Rio de Janeiro.

Two articles have been written. A bibliographical review of the epidemiological and clinical manifestations of the infection by the HPV has been compiled in the first article, and in the second article the immunohistochemistry expression of the p53 protein in the penis condylomatose lesion has been evaluated.

It has been demonstrated in the first article that the HPV epidemic has increased in last decades, and nowadays it can be considered as the most prevalent transmittable sexual disease, although the clinical manifestation of the infection (condylomatose) manifests itself in only 1% of the infected population, and that the greatest problem would be related to the latent or subclinical infections that might affect great part of the sexually-active population being involved in the carcinogenic process. In spite of the importance of the epidemiological and clinical manifestations in the HPV infection, the article has

also evaluated other subjective problems which are impossible to be identified by laboratory methods: the social and psychological complications of the HPV infection.

The second article has evaluated the expression of p53 protein in the penis condylomatose lesions. Three patients with a clinical diagnosis of condylomata acuminata have been selected, and a biopsy of the condylomatose lesions has been performed. The three patients' lesions have had a histopathological diagnosis of a low HPV infection with positive expression of the p53 protein. All cases have demonstrated epithelial hiperplasia and koilocytosis. Two cases have demonstrated parakeratosis and only one case has demonstrated hiperkeratosis. The p53 protein expression was positive in all layers of the infected epithelium, and in one patient a strong expression concentrated in the basal layer has been observed. The p53 protein expression has not demonstrated as being an efficient prognostic marker in HPV oncogenesis, as it is found to be positive in low degree lesions.

Therefore, this work arrives to the conclusion that the expression of p53 protein is present within the HPV infections and cannot be related to the clinical presentation of the lesion and neither to the epithelial histopathological alteration.

I – INTRODUÇÃO

As verrugas genitais são conhecidas como manifestação de origem venérea desde a Antiguidade, presentes em escritos gregos e romanos (Almeida Filho *et al.*, 2005). Nos últimos anos, o interesse pelo papilomavírus humano (HPV) tem crescido em função do acúmulo de evidências do seu potencial oncogênico, principalmente no trato anogenital. Seqüências de DNA (ácido desoxirribonucléico) de HPV têm sido encontradas em até 99,7% dos carcinomas cervicais (Sanders & Taira, 2003) e em 42% dos carcinomas de pênis (Bleeker *et al.*, 2002). Aliado a este fato, há evidências de que a epidemia de HPV tem crescido nas últimas décadas e, atualmente, pode ser considerada a doença sexualmente transmissível (DST) mais prevalente em todo o mundo (Kjaer *et al.*, 2002).

Durante a vida sexual, 75% da população vão entrar em contato com o HPV, sendo 1% com infecção clínica, 4% com infecção subclínica e 70% com infecção latente (DNA-HPV+) (Heley, 2003). Contudo, o grande impacto da infecção pelo HPV é demonstrado na população feminina. Após a infecção por HPV de alto risco, a probabilidade de desenvolver uma lesão cervical de alto grau é cerca de 300 vezes maior do que em mulheres não-infectadas, enquanto a probabilidade de desenvolver câncer cervical é cerca de 50 a 100 vezes maior. Do total de casos de câncer na mulher, 11% são causados pelo HPV (Almeida Filho *et al.*, 2005). Com relação à estimativa mundial, a OMS calcula em 300 milhões de novos casos por ano de infecção cervical sem alterações citológicas detectáveis, 30 milhões de novos casos de lesões de baixo grau e 10 milhões de novos casos de lesões de alto grau com 493.000 novos casos de câncer cervical por ano. Destes casos de câncer, estimam-se 233.372 mortes por ano, sendo 39.350 em países desenvolvidos e 194.025 em países em desenvolvimento. A estimativa para o ano de 2050 é de 1.090.000 novos casos/ano, caso se mantenham os índices atuais de crescimento (Lorenzo *et al.*, 2000).

Todos os HPV apresentam um tropismo por epitélios pavimentosos estratificados, mas variam de acordo com a especificidade do local de infecção, porém não causam doenças sistêmicas (Park *et al.*, 1995). Geralmente não apresentam sinais ou sintomas agudos, promovendo o surgimento de lesões clínicas que crescem lentamente, mas que também podem permanecer como lesões subclínicas ou infecções latentes por longos períodos (McMurray *et al.*, 2001). Cerca de 40 tipos de HPV apresentam tropismo pelas mucosas anogenitais, sendo os mais prevalentes os tipos: 6, 11, 16, 18, 31, 33 e 45 (Pinto & Mellinger, 1999). Os vírus que infectam o trato genital inferior são classificados em duas categorias: alto risco e baixo risco. Os vírus de alto risco ou oncogênicos integram-se ao genoma da célula hospedeira, imortalizando-as e estimulando sua multiplicação, estando associados ao desenvolvimento de lesões pré-cancerosas e cancerosas. Essa imortalização se deve principalmente à ação da proteína viral E6, que inativa a proteína p53 da célula hospedeira, em

situações normais, induz à apoptose celular em caso de anormalidades no genoma celular (Jin & Levine, 2001).

A alta incidência da infecção por HPV associada ao seu potencial oncogênico e as altas taxas de recidiva, fazem com que esta enfermidade deva ser abordada de forma diferenciada. O tratamento da infecção por HPV é complexo e ainda não se consegue agir diretamente sobre o vírus, apenas estimular o sistema imune do hospedeiro a eliminá-lo. Muitas vezes se tem o diagnóstico da infecção por HPV sem o achado de lesões epiteliais ou apenas lesões de baixo grau que não têm indicação de tratamento, apenas de acompanhamento. O processo de evolução das lesões de baixo grau para as lesões de alto grau é lento e não existe fator prognóstico importante na determinação desta evolução. A proteína p53 não consegue ser identificada imunoistoquimicamente em células normais, pois apresenta meia-vida fugaz; contudo, quando mutada pelo HPV, torna-se imunoistoquimicamente identificável, o que poderia ser um marcador prognóstico nas lesões de baixo grau. O objetivo deste trabalho é demonstrar o papel da proteína p53 como um provável marcador prognóstico nas lesões condilomatosas de pênis.

II - REVISÃO DA LITERATURA

1 – DEFINIÇÃO

Os papilomavírus humanos (HPV) são pequenos vírus de DNA (genomas de aproximadamente 8 kDa) que causam, na maior parte das vezes, proliferações epiteliais benignas na pele e em mucosas, denominadas verrugas. Geralmente não apresentam sinais ou sintomas agudos, promovendo o surgimento de lesões clínicas que crescem lentamente, mas que também podem permanecer como lesões subclínicas ou infecções latentes por longos períodos. Um subgrupo de HPV está associado ao surgimento de doenças epiteliais malignas em ambos os sexos, porém o câncer na cérvice uterina acontece com maior frequência (Fitzpatrick *et al.*, 2001).

2 - ASPECTOS HISTÓRICOS

As verrugas genitais são conhecidas como manifestações de origem venérea desde a Antiguidade, presentes em escritos gregos e romanos (Fitzpatrick *et al.*, 2001). Suas denominações mais antigas são *thymus* e *fícus*. O termo *thymus*, logo abandonado, encontra-se em escritos médicos respeitáveis, enquanto *fícus*, era utilizado no sentido obsceno, sobreviveu até o século XIX nos idiomas francês, sueco, italiano e espanhol (Bafversted, 1967). Outras denominações, em distintas épocas, foram verrugas venéreas, verrugas gonocócicas e condiloma acuminado. No Brasil, as verrugas são conhecidas popularmente como “crista-de-galo”, “cavalo-de-crista” e “figueira” (Almeida Filho *et al.*, 2005).

O termo condiloma origina-se do grego antigo e significa algo como “tumor redondo” (Bafversted, 1967), enquanto acuminado provém do latim *acuminare*, que significa “tornar pontudo” (Butler & Stanbridge, 1984).

As verrugas genitais só despertaram real interesse após a epidemia de sífilis, na Europa, no final do século XV. A partir de então, todas as úlceras e descargas genitais passaram a ser atribuídas ao “veneno venéreo” da sífilis. Desta maneira, as verrugas genitais eram confundidas com os condilomas planos, sendo então considerados como manifestações clínicas da sífilis (Oriol, 1971).

Paget (1865), relatando um caso de “doença sifilítica do reto e do cólon”, alertou para o tipo de lesão perineal encontrada, que atribuiu à sífilis, demonstrando um equívoco histórico muito importante. O relato de Paget (1865) foi:

“Elas (as lesões) são crescimentos de pele agrupados ao redor do ânus, cor-de-rosa, com textura macia, carnudas, brilhantes, úmidas e tremendamente secretantes; com contorno irregular, bem agudas, cônicas ou achatadas como se por pressão mútua ou pressão entre as nádegas. Se pudessem ser comparadas com alguma coisa, o seriam com cristas-de-galo, com as quais, realmente parecem muito. Eu não ousarei afirmar que estes crescimentos

cutâneos só são encontrados com doença sífilítica do reto, mas eles são muito comuns em associação com ela e tão raras sem ela que eu não vi ainda um caso no qual existissem sozinhos ou com alguma outra doença que não a sífilis”.

Celsus, no primeiro século, referiu que as verrugas poderiam localizar-se nas plantas dos pés, nas palmas das mãos ou nos genitais, sendo possivelmente o primeiro a perceber uma identidade etiológica entre as verrugas cutâneas e as genitais (Bafversted, 1967).

No século XIX, as verrugas genitais passaram a ser atribuídas à gonorréia. Strumpke, em 1914, descreveu o desenvolvimento de vegetações em torno da genitália feminina e do ânus a partir da gonorréia (Ravogli, 1916). Contudo, tal crença só foi desprezada após a constatação de que mais da metade das pacientes com verruga genital não apresentavam sinais clínicos de gonorréia (Almeida Filho *et al.*, 2005).

Em meados do século XIX, surgiu a *teoria do irritante inespecífico*, que vigorou até meados do nosso século, e segundo a qual as verrugas genitais eram causadas por irritação cutânea determinada por corrimentos vaginais, esmegma decomposto e higiene genital precária. Ravogli (1916) defendia que o condiloma acuminado era originado por agentes irritantes de natureza específica, como o esmegma ou corrimentos vaginais capazes de inflamar a pele ou a mucosa, produzindo escoriações que desnudariam as papilas dérmicas e promoveriam o crescimento das vegetações papilares.

No final do século XIX, as verrugas genitais passaram a ser relacionadas com as verrugas cutâneas. Naquela época, observou-se a presença de ambos os tipos de verrugas, com grande semelhança histológica e constatou-se o desenvolvimento de verrugas cutâneas em áreas extragenitais após a inoculação com extrato de verrugas genitais. Estes achados levaram à teoria de origem única das verrugas, o que originou a teoria unitária (Oriol, 1971).

Light, em 1894, foi o primeiro a relatar o desenvolvimento da verruga humana, inoculando em sua própria pele material não-filtrado de verruga

removida de seu irmão e verificou o desenvolvimento de uma verruga em um dos locais inoculados (Rowson & Mahy, 1967).

Jadassohn, em 1896, confirmou a natureza infecciosa das verrugas cutâneas. Utilizou extrato não-filtrado de quatro lesões diferentes (duas verrugas planas e duas papilomatosas), inoculou-as em 74 áreas de pele normal de mãos e braços de seis indivíduos. Após um período de incubação de dois a três meses, surgiram lesões verrucosas planas em 31 locais inoculados. Todos desenvolveram pelo menos uma lesão e, alguns, várias lesões (Goldschmidt & Kligman, 1958).

Ciuffo (1907) foi o primeiro a provar a natureza viral das verrugas cutâneas. Utilizando extrato filtrado de verruga plana suspenso em solução salina, inoculou-o em área escarificada no dorso da própria mão, observando, cinco meses depois, o desenvolvimento de pequenas pápulas.

Waelsch, em 1917, foi o primeiro a obter sucesso com a inoculação de material de verruga genital na pele humana. Foi também o primeiro a confirmar a hipótese de que o mesmo agente causava a verruga genital e a verruga cutânea. Inoculou extrato não-filtrado de condiloma de pênis em áreas escarificadas da pele de três voluntários. Dois deles desenvolveram verrugas planas no antebraço, respectivamente, após três e nove meses. Surgiram, em uma voluntária, lesões típicas de condiloma em pequeno lábio, após três meses (Goldschmidt & Kligman, 1958).

Oriel & Almeida (1970) observaram que os experimentos com inoculação de extratos de verrugas genitais são poucos e o material utilizado tem sido obtido sempre de pênis, enquanto extratos de verrugas de vulva e ânus nunca foram empregados. Por outro lado, extratos de verrugas cutâneas jamais foram inoculados com sucesso na região genital.

Strauss *et al.* (1949) demonstraram a origem viral das verrugas cutâneas ao observarem em extrato de cinco papilomas cutâneos, através da microscopia eletrônica, a presença de partículas virais arranjadas em padrão de cristal. O exame histopatológico das lesões demonstrou corpos de inclusão intranucleares.

Apenas em 1954, foi demonstrada a transmissão sexual das verrugas genitais por Barret *et al.* Esta demonstração ocorreu através da observação de que dois terços das esposas de soldados americanos, que voltaram da guerra da Coreia e tiveram relações sexuais com mulheres com verrugas genitais, apresentaram verrugas genitais e anais após quatro a seis semanas de incubação (Pinto & Mellinger, 1999). A transmissão sexual foi posteriormente confirmada por Oriel (1971) que observou uma alta incidência de surgimento de verrugas genitais após contato sexual com indivíduos infectados.

Os vírus causadores das verrugas cutâneas e genitais têm aparência similar à luz da microscopia eletrônica. Todavia, foi demonstrado, através da imunomicroscopia eletrônica, que os vírus das verrugas genitais diferiam antigenicamente daqueles isolados de verrugas cutâneas (Almeida *et al.*, 1969)

A discussão em torno da etiologia e a aceitação por longo tempo de origem única das verrugas, desviaram a atenção dos estudiosos quanto ao modo de transmissão das verrugas genitais. Teokharov (1969), achando incomum a concomitância de verrugas genitais e cutâneas, concluiu que as primeiras eram infecções virais venéreas independentes e distintas das outras.

Oriel (1971) verificou que as verrugas genitais são de transmissão sexual provável e confirmou a independência dos dois tipos de verrugas. Contudo, ressaltou um pequeno grupo de pacientes com verrugas cutâneas que desenvolveram lesões genitais semelhantes, caracterizando-as como causadas pelo mesmo vírus transferido para a área genital através das próprias mãos.

O conhecimento mais profundo da estrutura e da organização viral permitiu o desenvolvimento de técnicas imunoquímicas, que possibilitaram a detecção do vírus através de seus antígenos. Zur Hausen *et al.* (1974) tiveram participação fundamental no processo de identificação viral, ao publicarem o primeiro trabalho sobre a hibridização molecular, utilizando sondas de DNA derivadas de verruga plantar. A técnica aperfeiçoada por Southern, em 1975, permite distinguir os vários tipos de HPV existentes, segundo o grau de semelhança de suas bases nitrogenadas (Southern, 1975).

Gissmann & zur Hausen (1976), somente dois anos após a publicação pioneira, obtiveram sucesso com a hibridização molecular e estabeleceram a pluralidade do vírus do papiloma humano.

O crescente e atual interesse pelo estudo das infecções causadas pelo HPV deveu-se aos trabalhos de Meisels & Fortin (1976) e Purola & Savia (1977) que caracterizaram os padrões cito-histológicos da infecção cervical e correlacionaram-nos às lesões subclínicas cervicais descritas, pela primeira vez, por Meisels *et al.* (1977).

zur Hausen (1976) admitiu a hipótese de envolvimento do papiloma vírus humano (HPV) na etiologia do câncer genital. Em 1977, publicou extensa revisão da literatura sobre a possibilidade de envolvimento do HPV na gênese dos carcinomas de células escamosas (zur Hausen, 1977).

O domínio e a diversificação das técnicas de hibridização molecular possibilitaram, em curto espaço de tempo, que fossem identificados vários tipos de HPV. Assim, foram caracterizados o tipo 6, derivado de um condiloma acuminado (Gissmann & zur Hausen, 1980); o tipo 11, de um papiloma de laringe (Gissman *et al.*, 1983); o tipo 16, de biópsias de carcinoma cervical (Durst *et al.*, 1983); e o tipo 18, de pacientes com neoplasia genital (Boshart *et al.*, 1984).

3 – ETIOLOGIA

Os vírus são parasitas intracelulares que não podem replicar-se por si próprios. Reproduzem-se pela infecção de uma célula hospedeira e pela usurpação da maquinaria celular para produzir mais partículas virais. Nas formas mais simples, os vírus são compostos somente do ácido nucléico genômico (RNA ou DNA) circundado por uma capa protéica (Cooper, 2001).

O papilomavírus humano (HPV) pertence à família *Papillomaviridae* e ao gênero alpha-papillomavirus. São vírus icosaédricos com 55nm e 72 capsômeros. O genoma é uma dupla hélice de DNA circular contendo 8.000 pares de bases que codificam cerca de nove proteínas.

Os papilomavírus têm diferenças significativas com relação aos outros grupos. Seus capsídeos são maiores (55nm), seus cromossomos são mais longos (cerca de 8.000 pares de bases nitrogenadas) e a análise das seqüências de bases do seu DNA revela diferenças marcantes (Almeida Filho *et al.*, 2005).

As partículas do vírus do papiloma isoladas de coelhos, de bois ou de homens infectados revelam aparência semelhante, porém são altamente espécie-específicos (McMurray *et al.*, 2001). Os *virions*, analisados à luz da microscopia eletrônica, têm um capsídeo de forma icosaédrica, composto por 72 capsômeros muito bem encaixados. Ao contrário dos vírus envelopados, não contêm membrana ou qualquer componente lipídico e são constituídos por poucas proteínas arranjadas de forma muito simples. A ausência do envelope lipídico proporciona maior estabilidade ao vírus, aumentando o seu poder de infectividade (McMurray *et al.*, 2001).

O cromossomo do HPV possui uma molécula do DNA, constitui 12% do peso do vírion, apresenta comprimento molecular de 7.900 pares de bases nitrogenadas, peso molecular de 5.200.000 dáltons e a relação de pares de bases adenina:timina e citosina:guanina é de aproximadamente 58% e 42%, respectivamente (Cooper, 2001).

A arquitetura geral da seqüência de DNA é constituída basicamente por três unidades: região de leitura precoce ou *early*, formada pelos genes E1, E2, E4, E5, E6 e E7; região de leitura tardia ou *late*, formada pelos genes L1 e L2; e a região controladora (Pinto & Mellinger, 1999).

A região precoce ou *early* composta pelos genes E1, E2, E4, E5, E6 e E7 codifica as proteínas implicadas na transcrição viral, na replicação viral e na transformação celular. Estes genes se manifestam precocemente no ciclo viral e não utilizam a DNA-polimerase ou a timidina quinase, com isso, não são suscetíveis à inibição pelo aciclovir (Park *et al.*, 1995).

Os genes E1 e E2 codificam proteínas regulatórias importantes para o HPV (proteínas E1 e E2). As funções destas duas proteínas são essenciais para o processo de replicação viral e infecção celular. A proteína E2 reprime a transcrição unindo-se a sítios de ligação específicos na região controladora. A proteína E1 facilita esta ligação. No caso de transformações malignas, quando o vírus se encontra incorporado ao genoma celular, a relação de E1 e E2 é modificada e o bloqueio da transcrição de E6 e E7 é retirado. O gene E4 poderia ser considerado como um gene “tardio”, uma vez que se expressa tardiamente no ciclo de replicação viral. E4 provavelmente se encontra na destruição da estrutura do citoesqueleto da célula hospedeira, facilitando a permanência e a maturação do vírus. Acredita-se que o E5 possa ser também um oncogene, porém pouco se sabe sobre a ação deste gene (Tyring, 2000).

A região tardia ou *late*, composta pelos genes L1 e L2, codifica as proteínas do capsídeo viral: proteína maior (L1) e proteína menor (L2). A proteína maior (L1) do capsídeo tem peso molecular de 54.000 dáltons (Almeida Filho *et al.*, 2005) e segundo Kurman *et al.* (1983), somente em 50% das infecções genitais causadas por HPV, são produzidas a proteína maior, sendo a percentagem ainda menor nos casos de neoplasia intra-epitelial. A proteína menor (L2) tem peso molecular de 76.000 dáltons, é bastante variável entre os HPV e serve como marcador para estudos imunoistoquímicos (Almeida Filho *et al.*, 2005).

A região controladora possui regiões promotoras e elementos envolvidos na replicação e transcrição do DNA viral (Tyring, 2000).

O DNA viral pode apresentar-se de forma integrada no interior da célula hospedeira. A integração do mesmo acontece em um ou mais sítios do DNA celular, freqüentemente próximos à protooncogenes que através da ação de proteínas virais (E6 e E7) podem transformar-se em oncogenes, determinando as graves lesões epiteliais (Thomas & Banks, 1999).

Todos os papilomavírus apresentam um tropismo por epitélios pavimentosos estratificados, mas variam de acordo com a especificidade do local de infecção, porém não causam doenças sistêmicas (Park *et al.*, 1995).

Os tipos de vírus do papiloma são identificados pelo grau de similitude de seus DNA. Para ser considerado um novo tipo, o HPV deve apresentar menos de 90% de similitude dos demais tipos. Caso a similitude esteja entre 90% a 98%, o vírus será considerado um subtipo (Tyring, 2000).

O desenvolvimento das técnicas de hibridização molecular permitiu o rápido reconhecimento de grande número de tipos e subtipos de HPV. Existem descritos atualmente mais de 100 tipos de HPV (*Quadro 1*). O trato genital pode ser infectado pelos seguintes tipos: 6, 11, 16, 18, 30, 31, 33, 34, 35, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 50 e 51-59 (Almeida Filho *et al.*, 2005).

Jenson *et al.* (1987) admitem que o tipo de HPV parece ter importância na localização anatômica, na aparência clínica e na história natural das lesões.

Os HPV 6 e 11 geralmente não se encontram integrados ao genoma da célula hospedeira. São considerados de baixo risco e têm sido demonstrados em lesões papilares e displasias leves genitais, papiloma de laringe e outras lesões orais com riscos mínimos de progredir para lesões mais graves (Broker, 1987).

Os HPV 16, 18, 30, 31, 33, 34 e 35 geralmente se encontram integrados ao genoma da célula hospedeira. São considerados de alto risco e estão associados às displasias moderadas, acentuadas, carcinomas *in situ*, invasores e metastáticos genitais (Broker, 1987). Para Syrjanen (1989), as infecções que contêm o HPV 16 são as que apresentam maior risco de progressão clínica.

QUADRO 1

Tipos de HPV e suas manifestações clínicas

(transcrito e adaptado de Almeida Filho et al., 2005)

HPV	MANIFESTAÇÃO CLÍNICA
1 a, b, c	Verrugas plantares tipo <i>Myrmecia</i>
2 a, e	Verrugas vulgares filiformes, plantares tipo mosaico, palatais
3 a, b	Verrugas planas, juvenis, forma leve da epidermodisplasia verruciforme (EV)
4	Verrugas planares e plantares tipo hiperkeratótico
5 a, b, 8	Lesões maculares da EV, carcinomas de células escamosas EV
6 a-f	Condiloma acuminado, NIC I-III, VIN I-III, papilomas laríngeos e tumores de Buschke-Löwenstein
7	Verrugas vulgares da mão de manipuladores de carnes e açougueiros
9, 12, 15, 19, 23, 24, 25, 97, 50	Verrugas verrucosas maculares e planas da EV
10 a, b	Verrugas planas
11 a,b	Condiloma acuminado, NIC I-III, papilomas laríngeos, conjuntivais e invertidos do nariz
13 a,b	Hiperplasia focal epitelial em mucosa oral
14 a, b; 17 a, b; 20	Lesões verrucosas maculares e planas da EV, carcinomas de células carcinosas EV
16	Condiloma acuminado, NIC I-III, VIN I-III, papulose Bowenóide, carcinoma da cérvix, pênis, brônquios e seios paranasais
18	Condiloma acuminado, NIC I-III, VIN I-III, papulose Bowenóide, carcinoma da cérvix e pênis
21	Lesões verrucosas planas de EV
22	Lesões maculares da EV
26, 27	Verrugas cutâneas (paciente imunodeprimido)

28, 49	Lesões verrucosas planas cutâneas
29, 60	Verrugas cutâneas
30	Carcinoma escamoso da laringe, NIC I, II
31, 35, 45, 52, 51	NIC I-III carcinoma da cérvix
32	Hiperplasia epitelial focal em mucosa oral, papiloma oral
33	Papulose bowenóide, NIC I-III, carcinoma da cérvix
34	Doença de Bowen, NIC
36	Ceratose actínica, lesões benignas da EV
37	Cerotoacantoma
38	Melanoma maligno
39	Carcinoma da cérvix, NIC I, II, papulose bowenóide
40	PIN, NIC
41	Lesões múltiplas verrucosas planas da pele, câncer de células escamosas
42	Papilomas genitais, papulose bowenóide, condilomas planos, NIC
43, 44, 53, 58, 59	NIC
46	Lesões benignas da EV
48	Carcinoma de células escamosas da pele
54	Condiloma acuminado
55	Papulose bowenóide
57	NIC, verrugas da pele, papilomas invertidos nasais

5 - HISTÓRIA NATURAL DA INFECÇÃO PELO HPV

Todos os papilomavírus (HPV) apresentam um tropismo por epitélios pavimentosos estratificados, mas variam de acordo com a especificidade do local de infecção, porém não causam doenças sistêmicas (Park *et al.*, 1995).

O ciclo biológico do HPV está diretamente relacionado ao processo de diferenciação da célula hospedeira (queratinócito), com consequente liberação de partículas virais maduras apenas nas camadas mais diferenciadas (superficiais) (Longworth & Laimins, 2004). Atualmente já se tornou possível o estudo das alterações do genoma viral através do uso de queratinócitos naturalmente ou experimentalmente infectados. Contudo, este método é limitado devido à curta vida do queratinócito em meio de cultura (Burd, 2003).

O processo de diferenciação dos queratinócitos pode ser interpretado de duas maneiras opostas em relação ao interesse viral. Em primeiro lugar, o vírus precisa de um certo grau de diferenciação dos queratinócitos para poder usar sua maquinaria para a síntese do capsídeo viral. Por outro lado, uma célula muito diferenciada irá apresentar uma maquinaria pouco funcional, dificultando a replicação viral. Com isso, observam-se estágios diferentes no processo de replicação viral de acordo com as camadas epiteliais (Tyring, 2000).

Os vírus penetram no epitélio através de microlesões e migram através dos queratinócitos para infectar as células da camada basal que expressam integrina $\alpha 6$. A adesão às células epiteliais parece ser intermediada pelo heparan sulfato e por outras proteoglicanas ainda não identificadas (Longworth & Laimins, 2004). Após a infecção, mantêm cerca de 50 a 100 genomas por célula. As células da camada basal estão em constante mitose e, após a divisão celular, sempre uma célula permanece na camada basal enquanto a outra segue o seu processo de diferenciação celular em direção ao ápice do epitélio (McMurray *et al.*, 2001).

As células basais possuem pequena quantidade de DNA viral no seu interior, parecendo funcionar como reservatórios de vírus. Nas camadas profundas do epitélio, a detecção do DNA viral situa-se abaixo do nível de

deteção, mesmo através da hibridização molecular. Nas camadas superficiais, os antígenos virais são facilmente identificáveis, mesmo com métodos menos sensíveis como a microscopia eletrônica e a imunquímica. Por esses motivos, o vírus consegue manter uma infecção constante nas camadas basais e fazer com que as células maduras nos estratos lúcido e córneo, que contêm grande quantidade de vírions, ao serem liberadas, durante a descamação celular, infectem as células vizinhas ou outros organismos, finalizando o chamado ciclo lítico viral (Almeida Filho *et al.*, 2005).

Após a infecção, o período de incubação é impreciso, podendo ser longo, parecendo estar intimamente associado à competência imunológica individual. Em seguida, quatro caminhos podem ser percorridos (Nery *et al.*, 2005):

1) A infecção clássica, na qual não há integração do DNA viral ao DNA da célula hospedeira. No processo de maturação natural do epitélio, a célula infectada alcança a camada superficial, não mais se multiplica, possibilitando, então, a replicação viral autônoma e seu efeito citopático clássico, a coilocitose. Estas células descamam, liberam os vírions que, em processo contínuo, infectam as células vizinhas, levando à formação das lesões planas e papilares (lesões de baixo grau causadas geralmente pelos tipos 6 e 11 do HPV – vírus de baixo risco);

2) A célula basal infectada, devido à nova infecção por HPV ou ação de um mutágeno qualquer, sofre a integração do DNA viral e profundas alterações em sua função. O DNA integrado promove o aparecimento de sínteses protéicas anormais e, em conseqüência, mitoses anárquicas e perda da diferenciação celular. A infecção traduz-se em graves lesões epiteliais (lesões de alto grau causadas geralmente pelos tipos 16 e 18 do HPV - vírus de alto risco);

3) A infecção pode permanecer latente sem que haja qualquer expressão clínica da ação viral, o que pode ser responsável pelas constantes recidivas observadas;

4) A eliminação do HPV pelo sistema imune.

No entanto, acredita-se que a infecção possa ter curso flutuante entre a infecção clínica, subclínica, latente e a cura (Syrjänen, 1989).

A quantidade de partículas virais detectáveis por microscopia eletrônica e imunoquímica está na dependência do tipo de vírus infectante. Nas verrugas comuns, a quantidade de vírus intracelular é enorme, enquanto que nas verrugas genitais é escassa. Da mesma forma, a quantidade de partículas virais livres está na dependência do grau de diferenciação da lesão. Nas lesões diferenciadas, o número de partículas é maior que naquelas pouco diferenciadas ou indiferenciadas (Almeida Filho *et al.*, 2005).

O vírus causa lesões semelhantes em epitélios de homens e mulheres, contudo o câncer cervical é mais comum que o câncer em outros locais (Malek, 1993). Este fato provavelmente ocorre pela ação do HPV na zona de transformação da cérvix (junção escamocolunar – JEC). Esta zona apresenta um epitélio imaturo, metaplásico e hormônio-dependente, que se demonstra mais suscetível a transformações pré-malignas e possivelmente malignas. As demais regiões dos “epitélios genitais” das mulheres e dos homens apresentam um epitélio maduro e menos suscetível às alterações malignas do vírus (McMurray, 2001).

As lesões de alto ou baixo grau não dependem exclusivamente do tipo viral, mas sim de um complexo mecanismo de agressão e defesa ainda não totalmente decifrado. Eventualmente podem existir lesões benignas causadas pelos tipos de alto risco e lesões malignas pelos de baixo risco (Passos, 2006).

Da mesma forma que na vagina e na vulva, o epitélio peniano contém, com grande frequência, o DNA do HPV. Rubin *et al.* (2001) demonstrou a presença do DNA do HPV 16 em 42% dos pacientes com carcinoma de pênis, em 90% dos pacientes com neoplasia intra-epitelial (PIN) e em 100% dos pacientes com condilomas.

As múltiplas localizações e expressões clínicas da infecção pelo HPV fazem com que a denominação de condiloma acuminado não deva ser utilizada como sinônimo de infecção por HPV. Atualmente, o termo mais aceito seria virose do papiloma humano ou

infecção pelo vírus do papiloma humano, devendo-se obrigatoriamente caracterizar a topografia e a localização da doença (Almeida Filho *et al.*, 2005).

As lesões clínicas manifestam-se principalmente na forma de verrugas. As verrugas não se distribuem uniformemente sobre a genitália e, tanto no homem como na mulher, algumas partes são mais frequentemente afetadas que outras (Heley, 2003).

Oriel (1971) observou que as partes mais acometidas no homem foram o freio, corona e glândula em 52% dos casos e o prepúcio em 33% dos casos. Na mulher, o autor observou a presença de verrugas na fúrcula (73%), pequenos lábios e clitóris (32%) e grandes lábios (31%). A parte menos acometida por verrugas, na genitália, foi a cérvice uterina (2%).

Chuang *et al.* (1984) observaram, em uma série de 500 casos de verrugas genitais em mulheres e 246 em homens, que 86% dos homens e 14% das mulheres apresentavam lesões localizadas em um único sítio. No homem, as partes mais envolvidas foram corpo do pênis (51%), glândula, freio e corona (10%) e prepúcio (8%), enquanto nas mulheres foram vulva/clitóris (66%), vagina/intróito vaginal (37%) e a cérvice envolvida em apenas 8% dos pacientes. O condiloma uretral não é comum, mas a uretoscopia deve ser considerada em pacientes com lesões no meato uretral ou história deste tipo de lesão. O condiloma vesical também é raro e geralmente está associado ao condiloma uretral (Pinto & Mellinger, 1999).

As verrugas genitais consistem em excrescências papilares vermelhas únicas ou múltiplas, sésseis ou pedunculadas, que variam de 1 mm a vários milímetros de diâmetro. Histologicamente, um estroma de tecido conjuntivo papilar viloso, formando ramos, é coberto por um epitélio que pode apresentar hiperqueratose superficial e espessamento da epiderme subjacente (acantose) consideráveis. A maturação ordenada e normal das células epiteliais é preservada. Nestas lesões, nota-se uma clara vacuolização das células espinhosas (coilocitose), característica da infecção por HPV. A membrana basal está intacta e não há evidências de invasão do estroma adjacente (Kumar *et al.*, 2005).

As lesões subclínicas podem ser identificadas através da histopatologia ou por meio da utilização de métodos de destacamento de alterações epiteliais (aplicação de ácido acético a 5% ou azul de toluidina) (Almeida Filho *et al.*, 2005). Lesões penianas são freqüentemente encontradas em parceiros de pacientes com NIC (68%). A maioria destas lesões são sub-clínicas (70%) e estão associadas à presença de HPV de alto risco, constituindo um reservatório de HPV de alto risco (Bleeker *et al.*, 2002).

As formas latentes não promovem a alteração epitelial e só podem ser diagnosticadas pela presença do DNA viral (Tyring, 2000).

Tseng *et al.* (1996) relataram que a infecção por HPV tem cura espontânea na maior parte das vezes com 31% da cura nos seis primeiros meses, 39% nos seis meses subsequentes e 11% nos próximos seis meses, totalizando um percentual de 81% em até 18 meses.

A manifestação inicial da infecção por HPV de alto risco pode-se apresentar como lesões de baixo grau, que se manifestam por alteração no processo de diferenciação no terço inferior do epitélio. Esta lesão pode permanecer como lesão de baixo grau, desaparecer ou transformar-se em uma lesão de alto grau (mais de dois terços do epitélio com alteração na diferenciação celular). A lesão de alto grau pode permanecer estacionada, regredir ou evoluir através da membrana basal do epitélio, caracterizando uma doença invasiva e metastática (McMurray, 2001).

No pênis, foram descritas duas lesões distintas que apresentam características histológicas de carcinoma *in situ*: doença de Bowen e papulose bowenóide. Todas estas lesões apresentam uma forte associação com infecção pelo HPV. Dados obtidos a partir de um grande número de estudos revelam que o DNA do HPV, mais comumente o do tipo 16, é encontrado em 80% dos casos (Kumar *et al.*, 2005).

A doença de Bowen ocorre na região genital de homens e mulheres, geralmente com mais de 35 anos de idade. Em homens, tende a envolver a pele da haste do pênis e o escroto. Macroscopicamente, aparece como uma placa solitária, espessada, branco-acinzentada e opaca, com ulceração superficial e formação de crosta. Pode também se manifestar na glande e no prepúcio como placas vermelhas brilhantes, às vezes aveludadas, onde é clinicamente chamada de eritroplasia de Queyrat. Histologicamente, a

epiderme apresenta proliferação com numerosas mitoses, algumas atípicas. As células são acentuadamente displásicas, com grandes núcleos hipercromáticos e ausência de maturação ordenada. Entretanto, a borda derme-epiderme encontra-se nitidamente delineada por uma membrana basal intacta. Ao longo de anos, a doença de Bowen pode-se transformar em carcinoma de células escamosas em aproximadamente 10% dos pacientes (Kumar *et al.*, 2005).

A papulose bowenóide ocorre em adultos sexualmente ativos. Clinicamente, difere da doença de Bowen pela idade mais precoce dos pacientes e pela presença de múltiplas (em vez de solitárias) lesões papulares. Em alguns casos, as lesões podem ser verrucóides e facilmente confundidas com o condiloma acuminado. Histologicamente, a papulose bowenóide é indistinguível da doença de Bowen e também está relacionada com o HPV 16. Em contraste com a doença de Bowen, a papulose bowenóide praticamente nunca se transforma em carcinoma invasivo e, em muitos casos, regride espontaneamente (Kumar *et al.*, 2005).

O carcinoma de células escamosas do pênis geralmente é encontrado em pacientes com idades entre 40 e 70 anos. Geralmente começa na glândula ou na superfície interna do prepúcio, próximo ao sulco coronal. As lesões não são dolorosas até que sofram ulceração e infecção secundária. Frequentemente são hemorrágicas, sendo observados dois padrões macroscópicos: papilar e plano. As lesões papilares simulam os condilomas acuminados e podem produzir uma massa vegetante em forma de couve-flor. As lesões planas aparecem como áreas de espessamento epitelial, acompanhadas de coloração acinzentada e fissuras da superfície mucosa. Com a progressão, desenvolve-se uma pápula ulcerada. Histologicamente, as lesões papilares e planas são carcinomas de células escamosas com graus variados de diferenciação. Metástases para linfonodos ilíacos e inguinais caracterizam o estágio inicial, mas a disseminação generalizada é extremamente incomum até que a lesão seja muito avançada. O carcinoma verrucoso é uma variante incomum, bem diferenciada, de carcinoma de células escamosas, que apresenta baixo potencial maligno. Estes tumores são localmente invasivos, mas raramente produzem metástases. Apresentam uma aparência verrucosa (papilar), semelhantes aos condilomas acuminados, mas são maiores que os condilomas habituais. Em contraste com os condilomas

acuminados, entretanto, os carcinomas verrucosos podem invadir os tecidos adjacentes (Kumar *et al.*, 2005).

A circuncisão masculina está associada a um risco reduzido de infecção pelo HPV no homem e uma menor incidência de câncer cervical na parceira (Castellsagué *et al.*, 2002).

Existe uma marcante correlação entre a prática de circuncisão e a ocorrência de câncer de pênis. A circuncisão confere proteção; portanto, este câncer é extremamente raro entre judeus e muçulmanos. Postula-se que a circuncisão esteja associada a uma melhor higiene genital, que, por sua vez, reduz a exposição a carcinógenos, que podem estar concentrados no esmegma, demonstrando mais uma vez a teoria multifatorial na carcinogênese pelo HPV (Kumar *et al.*, 2005).

O homem pode ser considerado como de alto risco na etiologia do câncer cervical, funcionando como “reservatório” e “vetor” na transmissão do HPV de alto grau (Castellsagué *et al.*, 2001).

5.1 - HPV E CARCINOGENESE CERVICAL

Nenhuma outra forma de câncer documenta melhor os notáveis efeitos da prevenção, do diagnóstico precoce e do tratamento curativo sobre a taxa de mortalidade do que o câncer de colo de útero. Segundo a OMS (Organização Mundial de Saúde), o câncer de colo de útero é a segunda maior causa de mortes por câncer na mulher, com uma perspectiva de 470.000 casos novos por ano e 233.000 mortes por ano. (OMS, 2006).

Na patogênese do câncer de colo de útero encontram-se envolvidos vários fatores, sendo o de maior destaque o HPV. O HPV pode ser detectado por técnicas de hibridização *in situ* em cerca de 99,7% dos cânceres cervicais. Contudo, as evidências não implicam o HPV como único fator e acredita-se na existência de outros fatores associados que não foram completamente elucidados e que até poderiam explicar o comportamento diferenciado do HPV em diferentes indivíduos (Kumar *et al.*, 2005). Uma grande quantidade de dados epidemiológicos obtidos de estudos moleculares estabeleceu os seguintes fatores de risco para a neoplasia cervical (Woodworth *et al.*, 2000):

- Início da atividade sexual precoce
- Multiplicidade de parceiros sexuais

- Parceiro sexual que já teve muitas parceiras sexuais
- Infecções genitais
- Tabagismo e uso de anticoncepcionais
- Presença de HPV de risco
- Persistência do HPV de risco por longo tempo
- Estado imunológico do hospedeiro

O rastreamento com o esfregaço de Papanicolaou é muito eficaz na prevenção do câncer cervical porque a maioria dos cânceres é precedida por uma lesão pré-cancerosa. Essa lesão pré-cancerosa pode permanecer em um estágio não invasivo durante um período muito longo (até 20 anos) e desprender células anormais que podem ser detectadas pelo exame citológico. Essas alterações pré-cancerosas devem ser interpretadas tendo em mente o seguinte:

- 1) que elas representam um *continuum* de alterações morfológicas com linhas de demarcação pouco nítidas;
- 2) que elas não evoluem invariavelmente para um câncer e que podem regredir espontaneamente; e o risco de não desaparecerem ou de evoluírem para um câncer aumenta conforme a gravidade da alteração pré-cancerosa;
- 3) que elas estão associadas ao HPV e que os tipos de HPV de alto risco são encontrados com maior frequência nas lesões precursoras de grau mais alto (Oliveira *et al.*, 2002).

Os pré-cânceres cervicais já foram classificados de diversas maneiras e atualmente são divididos em lesões de baixo grau (NIC I) e lesões de alto grau (NIC II e NIC III) (Kumar *et al.*, 2005).

O espectro das lesões precursoras é muitas vezes ilustrado como uma simples progressão de NIC I até câncer, mas na realidade é muito complexo por causa das características do local onde essas lesões surgem, a zona de transformação. Essa área exhibe uma ampla gama de diferenciação epitelial, que abrange o epitélio estratificado pavimentoso (escamoso), o epitélio colunar e uma mistura dos dois. É muito provável que

as lesões de NIC de baixo grau, que incluem os condilomas, não progridam, enquanto as lesões que contêm graus maiores de atipia celular apresentem um risco maior de progressão. Nem todas as lesões começam como condilomas ou como uma NIC I; na realidade, elas podem encaixar-se em qualquer ponto da seqüência do espectro, dependendo do tipo de HPV associado e de outros fatores de hospedeiro, que abrangem o tipo de célula infectada pelo vírus (escamosa madura, metaplásica imatura, colunar etc). As taxas de progressão das lesões não são uniformes, e embora o tipo de HPV encontrado seja um indicador potencial do comportamento da lesão, é difícil prever o desfecho em cada paciente. Esses achados confirmam a teoria de que o risco de câncer se deve apenas em parte ao tipo de HPV e pode depender tanto das interações hospedeiro-vírus quanto de fatores ambientais para desencadear a evolução de uma lesão cancerosa (Kumar *et al.*, 2005).

Como esperado, as lesões que evoluem completamente (NIC III) apresentam maior risco de se transformarem em câncer. A NIC III está frequentemente associada ao câncer invasivo, quando este último é identificado. A progressão até carcinoma invasivo, quando ocorre, desenvolve-se em um período de tempo que pode variar de alguns meses a mais de 20 anos (Kumar *et al.*, 2005).

5.2 - PARTICIPAÇÃO DA PROTEÍNA p53 NA CARCINOGENESE

A transformação maligna pelo HPV resulta da expressão de dois genes da região inicial, E6 e E7. As proteínas virais E6 e E7 interferem com a função das proteínas celulares p53 e Rb (Munger, 2002). Em especial, E7 liga-se a Rb, e E6 estimula a degradação da proteína p53 (Koromilas *et al.*, 2001, Pinheiro & Villa, 2001). Alterações da proteína p53 são consideradas críticas para o desenvolvimento de tumores, uma vez que essa proteína está relacionada com o controle do ciclo celular, com a resposta celular a danos no DNA, com o início do reparo do DNA e a indução da apoptose (Oliveira *et al.*, 2002). Além disso, as proteínas E6 e E7 podem imortalizar os queratinócitos, que são os hospedeiros do papilomavírus (Nauenburg *et al.*, 2001; KIM *et al.*, 2000). O receptor para o fator de crescimento epidérmico também se encontra aumentado nas displasias e

carcinomas associados ao HPV, ressaltando a sua importância na progressão dos queratinócitos à malignidade (Woodworth *et al.*, 2000).

O produto do gene Rb é uma fosfoproteína de 110 KDa (pRb) com capacidade de impedir a proliferação celular. A introdução deste gene em células sem o mesmo, impede o crescimento celular e a formação de tumores. Esta proteína começa a exercer suas funções numa janela de tempo durante a fase G1 do ciclo celular, justamente no ponto de restrição (R), onde a célula “decide” sobre o prosseguimento do ciclo ou seu arresto. Nas horas que precedem R, a pRb encontra-se numa forma não fosforilada ou hipofosforilada, no entanto, durante as últimas horas de G1, a pRb apresenta-se hiperfosforilada. A proteína mantém-se desta forma por todo o ciclo celular, vindo a perder os múltiplos fosfatos somente após a mitose. A pRb controla indiretamente a expressão de um grupo de genes capazes de medir o avanço pelo ciclo. Quando a pRb está hipofosforilada, ou seja ativa, ela é capaz de se ligar a um fator de transcrição chamado E2F; quando é fosforilada, torna-se inativa, permitindo que E2F inicie a transcrição de vários genes. Recentemente, observou-se que a pRb recruta a enzima histona deacetilase para reprimir E2F. Esta enzima funcionaria como um co-repressor de E2F, convertendo a cromatina de uma forma transcricionalmente ativa (hiperacetilada) para uma transcricionalmente inativa (hipoacetilada). O termo E2F refere-se a um grupo de pelo menos cinco fatores de transcrição distintos que, formando heterodímeros com fatores do tipo DP1, são capazes de se ligar a uma seqüência de nucleotídeos consenso TTTCGCGC. Esta seqüência está presente em promotores importantes para o controle do ciclo celular, tais como c-myc, B-myb, cdc-2, ciclina E, timidina quinase e o próprio promotor de E2F. Dos cinco E2F conhecidos, apenas três são regulados pela pRb. Os demais (E2F-4 e E2F-5) são controlados pelas proteínas p107 e p130, membros da mesma família de pRb (Carvalho & Recco-Pimentel, 2001).

O gene p53 foi descrito em 1979 e foi o primeiro gene supressor de tumor identificado. Esse gene foi originalmente classificado como um oncogene, porém, após dez anos de estudos, foi finalmente classificado como gene supressor de tumor, ao mesmo tempo em que foi observado que o seu produto, a **proteína p53 (p53)**, encontrava-se inativado em cerca de 50% dos tumores. A descoberta de que a p53 é um denominador comum em cânceres humanos, ocasionou uma avalanche de trabalhos desde 1989. Neste período foram publicados cerca de 17.000 trabalhos referentes à p53, sendo 3.300

apenas no último ano. Com isso, mais de 10.000 tipos de p53 mutantes foram descobertos em diferentes organismos (Vogelstein *et al.*, 2000).

O gene p53 é um gene supressor de tumor que apresenta um papel fundamental na manutenção da integridade do genoma. O circuito da p53 geralmente permanece “desligado” até que haja um estímulo para o seu funcionamento. A p53 é um fator transcricional que permanece em baixas concentrações sob condições normais na célula. Alguns sinais de alterações celulares, como danos do DNA, podem estabilizar e ativar a p53. Uma vez ativada, a p53 liga-se a elementos promotores dos genes alvos e regula suas transcrições, que geralmente estão envolvidas com funções de supressão de tumores (Jin & Levine, 2001).

O circuito da p53 consiste na presença de **mediadores iniciais**, que detectam e sinalizam danos celulares ao gene p53, de **mediadores centrais**, que mantêm e controlam o nível da p53, e os **mediadores finais**, que iniciam os programas de resposta celular (Jin & Levine, 2001).

Os **mediadores iniciais** demonstram alterações do DNA celular como por exemplo, ativação de oncogenes, hipóxia, depleção de nucleotídeos, alterações no fuso mitótico ou produção de óxido nítrico. Esses mediadores incluem proteínas quinases (ATM, ATR, CHK1, CHK2) e outros moduladores da atividade de p53 como as Sumo-1 ligases, complexo PML, proteína HMG-1 entre outras. Esses mediadores promovem a fosforilação de p53 e/ou Mdm2, que ativam o p53 (Jin & Levine, 2001).

Estudos recentes demonstraram a existência de pelo menos três vias principais de ativação do circuito da p53. A primeira via seria deflagrada por um dano ao DNA e seria dependente principalmente de duas proteínas quinases: ATM (*ataxia telangiectasia mutated*) e Chk2. A ATM é estimulada pela quebra da dupla fita de DNA e estimula a Chk2. A segunda via é iniciada pela presença de fatores de crescimento irregulares como os resultantes da expressão de oncogenes (Ras ou Myc) e ocorre através da proteína p14^{ARF}. A terceira via é induzida por uma gama de quimioterápicos, luz ultra-violeta e proteínas inibidoras de quinases. Essa via pode ser diferenciada das demais por não depender da ATM, Chk2 ou p14^{ARF} e envolve outras quinases denominadas ATR (*ataxia telangiectasia*) e quinase caseína II (Vogelstein *et al.*, 2000).

A p53 ativada irá agir sobre as regiões controladoras dos genes dos **mediadores finais**, inibindo ou estimulando a transcrição destes. A ativação destes genes efetores funciona como um gatilho para diversos programas celulares incluindo: interrupção do ciclo celular, apoptose, inibição da angiogênese e reparo do DNA. A interrupção do ciclo celular entre G1-S ocorre pela ativação da p21, que é uma inibidora da CDK2 ou pelo bloqueio em G2-M pela indução de 14-3-3 σ , GADD45, Reprimo e b99, que inibem CDC2. A apoptose ocorre pela ativação de genes pró-apoptóticos, que ativam Apaf-1 e caspase 9. A inibição da angiogênese acontece pela ativação de

genes antiangiogênicos, como TSP1, BAI-1, MASPIN e GD-AiF, enquanto o reparo do DNA pelos genes p48 e R2 (Jin & Levine, 2001).

O **circuito central** é formado por p53, Mdm2, p14^{ARF} e pelo E2F-1 que estão organizados em dois sistemas de *feedback* interligados. O primeiro sistema é formado pelos genes p53 e Mdm2. Neste, a p53 atua estimulando positivamente o Mdm2 através de um estímulo positivo à região regulatória do gene Mdm2. Por outro lado, o Mdm2 atua negativamente sobre p53 estimulando sua degradação. Por esse motivo, a quantidade de p53 nas células é determinada principalmente pela taxa de degradação e não pela de formação (Vogelstein *et al.*, 2000). Essa degradação é denominada de proteólise mediada pela ubiquitina (Koromilas *et al.*, 2001; Vogelstein *et al.*, 2000; Pinheiro & Villa, 2001). A proteína Mdm2 liga-se à proteína p53 e estimula a adição de grupos de ubiquitina na sua extremidade final. Esse complexo formado passa então a agir como um sinalizador à maquinaria de degradação protéica. A baixa taxa de p53 reduz a transcrição de Mdm2 fechando o *feedback*. O segundo sistema é formado pelo E2F-1 e pelo p14^{ARF}. Neste, a proteína E2F-1 estimula a transcrição de ARF enquanto a proteína p14^{ARF} facilita a degradação de E2F-1. Os dois sistemas comunicam-se de duas formas. Primeiro, o p14^{ARF} interage com o Mdm2 inibindo a deposição de ubiquitina, estabilizando a p53. Segundo, a p53 inibe a transcrição do gene ARF. Esse complexo circuito é importante para a manutenção e a regulação dos níveis intracelulares de p53. Alguns aspectos desse circuito estão alterados em todos os tumores malignos como, por exemplo, mutações de p53, amplificação de Mdm2, atenuação ou deleção do ARF e/ou perda da regulação de E2F-1 pela mutação da proteína Rb (Vogelstein *et al.*, 2000).

Zhang *et al.* (2001) afirmam que a p53 encontra-se aumentada em cerca de 63% dos casos de carcinomas de células escamosa no pênis, enquanto nos casos de condiloma acuminato a expressão aumentada não seria tão freqüente.

Nas células normais, a concentração da forma original da p53 é geralmente inferior ao nível detectável pela imunistoquímica. Além disso, a forma original da p53 apresenta uma meia vida curta (cerca de 20 minutos), o que também impossibilita sua detecção na corrente sangüínea. Contudo, nas células tumorais, observa-se a presença de mutações da p53 em concentrações elevadas, que podem ser detectadas pela imunistoquímica. Em 22% a 76% das transformações malignas, a p53 pode ser identificada imunistoquimicamente (Vojtesek *et al.*, 1992).

5.3 - TRANSMISSÃO DO HPV

A discussão gerada em torno da etiologia das verrugas genitais reteve a atenção dos autores, evitando, assim, que se estudasse mais precocemente a forma de transmissão da doença (Almeida Filho *et al.*, 2005).

Existe uma grande dificuldade em se estudar as formas de transmissão do HPV, uma vez que não se consegue reproduzir sua infecção em meios de cultura e que o HPV é espécie-específico, impossibilitando a utilização de modelos animais experimentais (Arena *et al.* 2002).

Apenas em 1954 foi demonstrada a transmissão sexual das verrugas genitais por Barret *et al.* Esta demonstração ocorreu através da observação de que dois terços das esposas de soldados americanos que voltaram da guerra da Coréia, apresentaram verrugas genitais e anais após quatro a seis semanas de incubação. Ao avaliarem os maridos, foi observado que todos tiveram relações sexuais com mulheres com verrugas genitais durante a guerra (Pinto & Mellinger, 1999). A transmissão sexual foi posteriormente confirmada por Oriel (1971) que observou uma alta incidência de surgimento de verrugas genitais após contato sexual com indivíduos infectados.

Tay *et al.* (1990) em um estudo clínico envolvendo 111 casais, demonstraram a presença de infecção por HPV em 77,1% de homens que tinham esposas com presença de HPV no trato genital inferior e 13,3% de presença de infecção em homens cujas esposas não apresentavam sinais de infecção pelo HPV.

A transmissão sexual continua a ser a principal via de transmissão na infecção pelo HPV, contudo existem outras formas de transmissão além da via sexual (Rando *et al.*, 1989).

Frega *et al.* (2003), através da presença do DNA do HPV e Tay *et al.* (1990), através de lesões histológicas e colposcópicas, demonstraram a presença do HPV em mulheres que nunca tiveram relação sexual.

Oriel (1971) admitiu a auto-inoculação como forma de transmissão. Destacando a auto-inoculação como a forma usual de disseminação locorregional da doença, levando à formação de múltiplas lesões ou massas volumosas.

A transmissão através de fômites, embora seja possível, não foi demonstrada de maneira inquestionável. Partindo do princípio de que a infecção pelo HPV envolve o contato de uma célula infectada e uma célula alvo, várias formas de transmissão poderiam ser discutidas. Contudo a presença de DNA do HPV e a possibilidade de infecção seriam fatos não necessariamente associados (Tay *et al.* 1990).

Segundo Gross (1987), teoricamente, células epiteliais HPV positivas podem ser transmitidas por meio do uso repetido de luvas ou instrumental endoscópico.

Bergeron *et al.* (1990) realizaram *swabs* em 74 peças íntimas de mulheres com infecção genital e encontraram a presença do DNA do HPV em 13 (9%). Além disso, ainda demonstraram que, nestas mulheres em que se encontraram DNA do HPV nas peças íntimas, a taxa de lesões recorrentes era de 61% comparadas a 29% nas demais. Com isso propuseram que as peças íntimas funcionariam como disseminadoras da infecção na área genital da própria mulher.

Olatinbomum *et al.*, (2001) detectaram DNA de HPV por PCR em esperma, sugerindo ser uma via de contaminação em pacientes sem lesões clínicas e também demonstraram que a carga viral do indivíduo pode ser fator determinante ou até potencializador no mecanismo de transmissão.

O estudo da transmissão vertical ganhou muito destaque devido à discussão referente à presença de HPV em crianças e recém-nascidos. Vários estudos foram realizados e tinham como objetivo demonstrar que a presença de lesões por HPV em crianças não são necessariamente originadas de abuso sexual (Arena *et al.* 2002).

Até hoje, a participação do sistema imune da mãe durante a gestação ainda não foi completamente esclarecido. Por isso, é muito difícil avaliar o comportamento imunológico da infecção pelo HPV em gestantes. Segundo Rando *et al.* (2001) e Fife *et al.* (1996), a presença do DNA do HPV aumenta no decorrer da gestação e diminui radicalmente no período de pós-parto. Já Kemp *et al.* (1992) admite uma diminuição constante da infecção durante a gestação.

Shushen *et al.* (1998) demonstraram a presença de DNA do HPV no líquido amniótico coletado durante a cesárea.

Vários autores estudaram a prevalência do HPV em recém-nascidos com diferentes resultados. Cason *et al.* (1995) demonstraram que mais de 60% dos

recém-nascidos de mães infectadas eram HPV-DNA positivos. Já Alberico *et al.* (1996) demonstraram que apenas 20% dos recém-nascidos seriam positivos. Contudo, vários outros autores demonstram taxas superiores a 40% de infecção nos recém-nascidos: Kaye *et al.* (1994); Parakian *et al.* (1994) e Watts *et al.* (1998). Todos detectados através de *swab* de cavidade oral.

Por outro lado, apesar da alta taxa de positividade nos recém-nascidos, observou-se que a permanência do HPV após um determinado período é mínima (Arena *et al.*, 2002). Parakian *et al.* (1994) e Cason *et al.* (1995) que encontraram altas taxas de positividade ao nascimento, demonstraram uma redução de mais da metade em seis semanas e a remissão de todos os casos em até seis meses. Kaye *et al.* (1994) não descreveram uma diminuição significativa em seis semanas, porém também demonstraram a remissão total em seis meses.

Quando a avaliação levou em conta a presença do DNA do HPV 16 e 18 nos recém-nascidos, Alberico *et al.* (1996) observaram alta prevalência de ambos os tipos ao nascimento, que se perpetuaram até seis semanas. O HPV 18 diminuiu sua prevalência enquanto o HPV 16 se manteve constante.

Com relação ao tipo de parto, Tseng *et al.* (1996) e Sedlacek *et al.* (1986) demonstraram uma prevalência menor de contaminação por HPV quando do parto cesáreo. Os valores foram respectivamente para parto cesáreo de 36,5% e 51,4% contra 0% e 27,3% de parto vaginal.

Apesar destas diferenças, Tseng *et al.* (1996) relatam a presença do vírus no sangue do cordão umbilical, o que sugeriria um mecanismo de transmissão transplacentária.

Kaye *et al.* (1994) demonstram que a carga viral materna pode ser determinante na transmissão vertical.

Jesus *et al.* (2001) concluem que as verrugas anogenitais em crianças, apesar de sugestivas, não podem ser consideradas como certeza de abuso sexual. Obalek *et al.* (1990) caracterizam uma alta prevalência de verugas

anogenitais em crianças causadas por tipos de HPV não genitais, o que provavelmente seria causado por heteroinoculação ou auto-inoculação.

5.4 - DIAGNÓSTICO

O diagnóstico, na prática diária, baseia-se nos dados do exame clínico e nos achados da peniscopia, associados ao encontro de alterações citológicas e histopatológicas compatíveis com a infecção pelo HPV, além da pesquisa direta ao HPV (hibridização molecular ou reação em cadeia de polimerase - PCR). Podem-se, ainda, utilizar métodos menos usados como a imunistoquímica e a microscopia eletrônica (Almeida Filho *et al.*, 2005).

Na maior parte das vezes, o paciente do sexo masculino procura atendimento por orientação de ginecologistas que atenderam suas parceiras e detectaram a presença do HPV.

As alterações celulares determinadas pelo HPV são conhecidas há muito tempo. As características citopatológicas não distinguem as várias formas clínicas e histopatológicas da infecção, no entanto, identificam eficazmente alterações benignas, bem como aquelas de maior gravidade (Almeida Filho *et al.*, 2005).

A citologia da região do prepúcio interno e da coroa da glândula raramente leva ao diagnóstico da infecção nesta topografia, pois o material obtido, apesar de abundante, é composto de células queratinizadas e anucleadas ou com núcleo picnótico. A análise citológica de raspados desta região, colhidos de parceiros de mulheres com infecção genital por HPV, revelou coilocitose em 1,6% dos casos (Nicolau, 1997).

Estudos citológicos da região uretral detectaram alterações compatíveis com a infecção viral de 4,7% a 49% dos casos, mesmo sem lesão visível. Além disso, outros autores observaram que as alterações celulares sugestivas de infecção por HPV foram encontradas em 81% dos homens que apresentavam

lesões uretrais e em somente 15% daqueles sem lesões e concluíram que, embora a citologia seja suficientemente sensível, não é específica e seu uso como método de rastreamento pode levar a uma alto índice de falso-positivos (Nicolau, 1997).

A coleta de material para citologia da região do prepúcio distal e da glândula, tem o inconveniente de causar traumatismo do epitélio e pode levar a resultados falso-positivos à peniscopia (Nicolau, 1997).

A histopatologia demonstra um estroma de tecido conjuntivo papilar viloso, formando ramos, coberto por um epitélio que pode apresentar hiperqueratose superficial e espessamento da epiderme subjacente (acantose) consideráveis. A maturação ordenada e normal das células epiteliais é preservada. Nestas lesões, nota-se uma clara vacuolização perinuclear, das células espinhosas (coilocitose), característica da infecção por HPV. A membrana basal está intacta, e não há evidências de invasão do estroma adjacente. Podem também surgir lesões compatíveis com neoplasia intra-epitelial e câncer invasivo, que já foram abordados nesta revisão (Kumar *et al.*, 2005).

A peniscopia é, no momento, reconhecidamente um método que tem altos índices de resultados falso-positivos relacionados com o aparecimento de lesões acetobranças secundárias a processos inflamatórios inespecíficos, que raramente têm anormalidades HPV-induzidas. Nicolau (1997) não encontraram padrão consistente nas lesões do pênis, induzidas pelo HPV à peniscopia e apenas 23,5% de confirmação pela histologia, sendo o encontro de neoplasia intra-epitelial do pênis (PIN) raro (0,94%).

A observação de lesões acetobranças, à peniscopia, em parceiros de mulheres com infecção genital pelo HPV é descrita em vários estudos, entre 18% e 68% dos casos (Bleeker *et al.*, 2002; Frega *et al.*, 1999).

Processos inflamatórios e infecciosos, bacterianos ou fúngicos na região interna do prepúcio distal, assim como microtraumas após o coito, coleta de material citológico desta porção e a presença de papilas hipertróficas na região da coroa da glândula ou ventrais junto a freio podem levar a resultados falso-positivos (Almeida Filho *et al.*, 2005).

Com relação ao diagnóstico utilizando métodos moleculares, diversas pesquisas foram realizadas com o intuito de se definir a metodologia ideal de avaliação biomolecular, assim como o local e a maneira de se realizar a coleta do material. Quando a quantidade de partículas virais no interior da célula é pequena, sua identificação só se torna viável através da hibridização molecular. No entanto, através deste método, a detecção do HPV só é possível quando são encontradas cerca de 50 cópias do DNA em cada célula. A técnica do PCR é mais precisa e tem a capacidade de detectar uma cópia viral por grupo de até 10 células (Almeida Filho *et al.*, 2005).

Neste sentido, Nicolau (1997) demonstraram que a melhor estratégia para o diagnóstico de infecção por HPV nos homens foi a pesquisa do DNA do HPV, por meio da coleta de esfregaços de pênis e uretra distal com escova e análise pela técnica de captura híbrida. A positividade do DNA viral foi muito superior nos esfregaços quando comparada com a obtida nos fragmentos de biópsia realizada nas mesmas áreas afetadas além de identificar a presença de tipos de HPV com potencial carcinogênico (alto grau). Além disso, a adição do material obtido na uretra distal foi importante, pois aumentou significativamente a positividade para o DNA do HPV. Os tipos de HPV encontrados não coincidiram entre os parceiros, quando o resultado foi positivo para ambos, o que também foi referido por Franceschi *et al.* (2002).

Bleeker *et al.* (2002) observaram em parceiros de mulheres com neoplasia intra-epitelial do colo que, nos casos em que foram observados lesões penianas à peniscopia, 67% dos raspados foram positivos para o HPV. Quando não havia lesão peniana, a positividade para o DNA viral foi de 37%.

4 – EPIDEMIOLOGIA

Nos últimos anos, o interesse pelo HPV tem crescido em função do acúmulo de evidências do seu potencial oncogênico, principalmente no trato anogenital. Seqüências de DNA de certos tipos de HPV têm sido encontradas em até 90% dos carcinomas cervicais (Cavalcanti *et al.*, 2000). Contudo, segundo alguns estudos este valor chega a 99,7% (Sanders & Taira, 2003). Aliado a este fato, existem evidências de que a epidemia de HPV tem crescido nas últimas décadas e, atualmente, pode ser considerada a doença sexualmente transmissível mais prevalente em todo o mundo (Longworth & Laimins, 2004).

Jenkis & Riley (1980) relataram que a incidência de condiloma vulvar tem crescido 10% ao ano no Reino Unido. Um estudo observou que na Inglaterra, no período de 1972 a 2000, o número de casos em homens elevou-se de 39,8 para 270 enquanto que em mulheres passou de 25,3 para 190 por 100.000 habitantes (CDR,2000).

Becker *et al.* (1987) baseados no *National Disease and therapeutic Index* (EUA), relataram que o número de “consultas” por verrugas genitais, que incluem consultas em hospitais, em consultório e por telefone, no período de 1966 a 1984, passou de 169.000 para 1.150.000.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a cada ano, apenas nos Estados Unidos, ocorrem cerca de 10 milhões de novos casos de infecção cervical sem alterações citológicas detectáveis, um milhão de novos casos de lesões de baixo grau e 300.000 novos casos de lesões de alto grau.

Em relação à estimativa mundial, a OMS estima em 300 milhões de novos casos por ano de infecção cervical sem alterações citológicas detectáveis, 30 milhões de novos casos de lesões de baixo grau e 10 milhões de novos casos de lesões de alto grau com 493.000 novos casos de câncer cervical por ano. Destes casos de câncer estima-se 233.372 mortes por ano, sendo 39.350 em países desenvolvidos e 194.025 em países em desenvolvimento. A estimativa

para o ano de 2050 é de 1.090.000 novos casos/ano caso se mantenham os índices atuais de crescimento (OMS – 2006).

No Brasil, os dados estatísticos dos órgãos oficiais são escassos e com certeza não traduzem a verdadeira magnitude da infecção induzida pelo HPV. Em 2002, a prevalência estimada de infecções por HPV no Brasil foi de apenas 25% nas mulheres, com cerca de 10.775.000 infecções e, 5% nos homens, com cerca de 2.085.000 infecções (Ministério da Saúde - Brasil, 2005).

Os dados referentes ao câncer de colo de útero podem indiretamente ser avaliados como indicadores do HPV, lembrando sempre que apenas cerca de 1% das infecções por HPV pode gerar lesões cancerosas (Heley, 2003). No Brasil, em 2005, a estimativa do Instituto Nacional do Câncer (INCA) para câncer de colo de útero foi de 20.690 casos, com risco estimado de 22 casos a cada 100 mil mulheres (Ministério da Saúde - Brasil, 2005).

É inegável que a otimização dos métodos de diagnósticos e identificação viral, para detectar infecções subclínicas em mulheres e homens, pode modificar os dados estatísticos disponíveis (Almeida Filho *et al.*, 2005). Atualmente, as infecções subclínicas são mais frequentes que as clinicamente aparentes (Becker *et al.*, 1987).

Bernstein *et al.* (1985) revisando 1.264 biópsias cervicais consecutivas do ano de 1972, com prevalência original de 0,7%, obtiveram 36,5% de prevalência da infecção. No ano de 1982, em 965 biópsias cervicais consecutivas, observaram a prevalência de 34%. Com isso, concluem que a infecção da cérvix pelo HPV não constitui uma nova entidade clínica.

No homem, a detecção da infecção subclínica também tem sido avaliada. Sedlacek *et al.* (1986), estudando 51 parceiros de mulheres com infecção pelo HPV comprovada histologicamente, observaram que 88% apresentavam sinais histológicos de infecção, sendo que 72% apresentavam infecção subclínica do pênis detectada pela peniscopia.

Bleeker *et al.* (2002) afirmaram que as lesões penianas são freqüentemente encontradas em parceiros de pacientes com NIC (68%). A maioria destas lesões são subclínicas (70%) e estão associadas à presença de HPV de alto risco, constituindo um reservatório de HPV de alto risco.

No Brasil, Jacyntho (1989) submeteu 70 parceiros de mulheres com infecção pelo HPV à peniscopia, detectando 60% de infecção subclínica do pênis.

Alguns itens podem ser destacados na prevalência das infecções pelo HPV:

a) *Idade*

As verrugas genitais são doenças do adulto jovem. Todavia podem incidir em qualquer faixa da vida, sendo mais freqüentes naquelas em que há maior vigência de relações sexuais (Almeida Filho *et al.*, 2005).

Gorthey & Krembs (1954) registraram, em sua série de 6.531 pacientes, idade média de 21,5 anos.

Stone *et al.* (1986), analisando dados clínicos de Ohio (EUA), no período de 1980 a 1985, revelaram que as taxas mais altas da infecção ocorreram até os 19 anos entre as mulheres e até os 29 anos entre os homens.

Melkert *et al.* (1993) descreveram que cerca de 25% dos indivíduos infectados por HPV têm entre 19 a 24 anos, seguidos por cerca de 20% na faixa etária de 25 a 29 anos e por 15% na faixa etária entre 15 a 18 anos.

No Brasil, Carestiato *et al.* (2002) demonstraram que a faixa etária da infecção pelo HPV também está compreendida entre 20 e 30 anos de idade, coincidindo com o pico das atividades sexuais. Demonstraram também um

declínio na prevalência de infecções pelo HPV, conforme o aumento da idade das pacientes.

Uma explicação possível para este fenômeno pode ser dada pelo fato de a infecção pelo HPV apresentar uma alta taxa de eliminação espontânea, cerca de 70% em 12 meses e 80% em até 18 meses. Ou ainda que, nas idades mais avançadas, ocorre uma diminuição da atividade sexual, resultando em menor exposição a novas infecções virais (Heley, 2003).

b) Raça

Os dados relacionados com a distribuição da infecção por raça são conflitantes. Oriel (1971), em sua série de 332 casos, observou que as verrugas genitais foram mais freqüentes em brancos, contudo em sua amostra, 91% dos pacientes eram brancos e apenas 6% eram negros.

Chuang *et al.* (1984) também observaram maior prevalência entre os brancos (98%), no entanto, ressaltaram que a população estudada na cidade de Rochester (EUA) era constituída predominantemente por indivíduos brancos.

Por outro lado, Stone *et al.* (1986) baseados em dados de clínica de DST em Ohio (EUA) no período de 1980 a 1985, observaram que as verrugas genitais aumentaram 138% em mulheres brancas e 225% em mulheres negras.

c) Sexo

A maioria dos estudos realizados em clínicas de DST revela que as verrugas genitais são mais comuns em homens do que em mulheres (Oriel, 1971; Schofield, 1979). Chuang *et al.* (1984) mostram dados opostos. No período de 1950 a 1978, em Rochester (EUA), demonstraram maior incidência nas mulheres.

No Brasil, segundo dados do Ministério da Saúde, as mulheres apresentam maior prevalência do que os homens (Ministério da Saúde – Brasil, 2002).

Sánchez-Alemán *et al.* (2002), demonstraram que adolescentes do sexo feminino que tiveram mais de dois parceiros sexuais no mesmo ano, apresentam maior prevalência de infecção por HPV.

No Brasil, Murta *et al.* (2002) demonstraram que a infecção por HPV é mais freqüente em mulheres adolescentes que fazem uso de anticoncepcionais orais e que apresentam o achado citológico de *clue cells*.

6 - TRATAMENTO

A multiplicidade de drogas e métodos existentes torna possível o tratamento de todas as formas de apresentação da infecção genital causada pelo HPV, tanto no homem quanto na mulher. Todavia, nenhum dos métodos é considerado ideal. Por outro lado, a persistência e as recidivas tornam o tratamento desgastante e desanimador para o paciente e o médico. Seja qual for o método empregado, as taxas de sucesso situam-se entre 50% e 75% e as taxas de recorrência em 30% (Almeida Filho *et al.*, 2005).

Alguns fatores podem influenciar no tratamento da infecção pelo HPV. Wilson *et al.*, (2001) demonstraram que o número de verrugas pode influenciar em seu tempo de regressão. Estes autores afirmam que quanto maior for o número de lesões, maior será o tempo de involução das lesões.

Feldman *et al.* (1997) demonstraram que a presença de lesões perianais, lesões persistentes e o fumo favorecem a uma involução mais lenta das lesões. Com relação ao fumo, a explicação sugerida pelos autores seria uma menor eficiência do sistema imune devido a uma diminuição das células de Langerhans causadas pelo fumo.

Wilson *et al.* (2001) concluíram que, além do fumo, a radiação ultravioleta, produzida principalmente em processo de “bronzamento artificial”, também seria um fator que aumentaria o tempo de involução das lesões epiteliais pela diminuição das células de Langerhans e a supressão das células NK (*natural killer*).

Contudo, Hippelainen *et al.* (1994) afirmam que o fumo não está envolvido no processo de regressão das lesões.

As lesões clínicas e as subclínicas devem ser tratadas, enquanto as infecções latentes não devem ser tratadas, apenas acompanhadas (Almeida Filho *et al.*, 2005).

Todos os tipos de tratamento atualmente utilizados não atuam diretamente sobre o vírus, mas sim de forma indireta, ao ativarem o sistema imune do hospedeiro, na expectativa de que este sistema imune identifique a infecção viral e a resolva (Tyring, 2000).

O tratamento das lesões clínicas e subclínicas causadas pelo HPV é complexo, pois não existe o melhor tratamento para todos os pacientes. Cada paciente deverá ser avaliado e vários fatores serão considerados (Nery *et al.*, 2005):

- a) Seguimento do paciente. É fundamental o seguimento das consultas até a total resolução das lesões. Alguns tipos de tratamento podem gerar escoriações e até úlceras na epiderme, o que poderia gerar complicações
- b) Ao realizar o tratamento, deve-se ter o cuidado para não gerar uma agressão tecidual superior à lesão causada pela virose
- c) Deve-se tratar apenas o que existe e não promover tratamentos profiláticos ou “intuitivos”
- d) Orientação quanto à necessidade de avaliação da parceira
- e) Avaliação da imunidade do paciente
- f) Observação de outras afecções no trato genital
- g) Anatomia local, tamanho e forma da lesão e número de lesões
- h) Custo do tratamento e taxa de recorrência
- i) Experiência prévia com a técnica
- j) Efeitos adversos
- k) Preferência do paciente
- l) Verificar a necessidade de apoio psicológico ao paciente.

Os métodos atualmente utilizados são:

- **ANTIMITÓTICOS:** podofilina e podofilotoxina.

A **podofilina** é um agente citotóxico constituído por uma mistura de resinas extraídas do *Podophyllun peltatum*. Tem ação cáustica, ceratolítica, escarótica e antimitótica. É utilizada em concentrações variáveis (10% a 25%) em veículo alcoólico ou tintura de benjoim. As aplicações devem ser feitas duas vezes por semana. Por ter ação lesiva sobre a pele, deve ser aplicada pelo médico assistente, sendo contra-indicada a auto-aplicação. A pele ao redor da lesão deve ser protegida com vaselina ou pasta de óxido de zinco e a região deve ser lavada com água e sabão após quatro horas da aplicação. Não pode ser utilizada durante a gravidez e em dosagem excessiva pode determinar efeitos neurotóxicos e nefrotóxicos. Atualmente, a podofilina é pouco utilizada, já que apresenta muitos efeitos colaterais e não pode ser aplicada pelo paciente, necessitando de inúmeras consultas (Almeida Filho *et al.*, 2005).

A **podofilotoxina** é o princípio ativo purificado da podofilina. Deve ser aplicada duas vezes ao dia, por três dias consecutivos, seguindo-se de quatro dias de descanso. Os ciclos podem ser repetidos por quatro semanas. Tem como principal vantagem a facilidade do uso (auto-aplicável), a aderência do paciente e a ausência de efeitos colaterais sistêmicos (Almeida Filho *et al.*, 2005). Contudo, além do custo elevado do tratamento, o paciente deve ser alertado quanto à formação de úlceras, que facilmente envolvem com a interrupção do tratamento (Nery *et al.*, 2005).

- **DESTRUTIVOS:** ácido tricloroacético (ATA), crioterapia, *laser*, diatermoterapia, cirurgia de alta frequência e excisão da lesão.

Os métodos destrutivos, exceto a aplicação tópica do ATA, apresentam rápida resolução, porém a literatura demonstra taxas altas de recidiva das lesões (40% a 70%,) quando não associados a outros métodos (Nery *et al.*, 2005).

O **ácido tricloroacético** (ATA) é substância extremamente cáustica, com ação ceratolítica e escarótica. Utilizado em concentração de 70% a 90%. Seu uso deve ser precedido por proteção da pele ao redor com vaselina ou óxido de zinco, sendo contra-indicada a auto-aplicação pelo paciente. Deve ser aplicado

de uma a duas vezes por semana, não sendo obrigatória a lavagem após a aplicação. Utilizado preferencialmente em lesões de pele e com muito cuidado em mucosa. Não apresenta efeitos colaterais sistêmicos e pode ser utilizado durante a gestação (Almeida Filho *et al.*, 2005).

A **crioterapia** consiste em congelação direta das lesões com uma sonda proveniente de um aparelho, utilizando o princípio de retenção de gás (CO₂ ou NO₂) sob pressão para deter a temperatura, não ultrapassando -800 C. O método pode ser utilizado em lesões de pele e mucosas. É necessária a aplicação de anestesia local e o seu mecanismo de ação é por desnaturação das proteínas e cristalização da água intracelular, que promove a ruptura celular. As lesões tendem a regredir em uma a duas semanas e as aplicações podem ser repetidas. O método é pouco agressivo, porém pouco eficaz, exibindo recorrências freqüentes. Pode ser realizado em gestantes e o principal problema é o descontrole na profundidade e extensão do seu efeito no tecido (Almeida Filho *et al.*, 2005).

O aparelho de **laser** (*light amplification by the stimulated emission of radiation*) mais empregado para o tratamento de lesões do trato genital inferior é o de dióxido de carbono, que determina corte preciso, além de vaporização e coagulação adequadas dos tecidos. A terapia pelo *laser* pode ser utilizada nas lesões verrucosas da pele e de mucosas e nas lesões subclínicas. Seu modo de ação é simples: o feixe dirigido do *laser* é, instantaneamente, convertido em calor que, agindo sobre as moléculas de água intracelular, faz com que estas se agitem e façam com que a água entre em ebulição, explodindo as células e liberando vapor. O *laser* vaporiza o tecido e o carboniza, e ao mesmo tempo provoca hemostasia. O resultado é um *spot* ou uma cratera, dependendo da potência empregada. A cicatrização é boa, pode ser utilizado durante a gravidez, contudo é um procedimento de alto custo e requer treinamento profissional mais prolongado (Savoca *et al.*, 2002).

A **diatermoterapia** utiliza a alta temperatura na ponta do eletrodo para gerar destruição térmica. Pode ser utilizada para cauterização ou excisão das

lesões. O procedimento desencadeia destruição tecidual cega, mal controlada em profundidade. A cicatrização é lenta, sujeita à infecção secundária e produz cicatriz retrátil. Necessita de anestesia local e tem como vantagem a aplicabilidade ambulatorial, o baixo custo e o fácil treinamento profissional (Almeida Filho *et al.*, 2005).

A **cirurgia de alta frequência** utiliza corrente de alta frequência e baixa voltagem. A corrente ao passar pelo tecido aquece a água intracelular, ocasionando vaporização do mesmo e explosão celular. O método pode ser utilizado para cauterização e ressecção de lesões de pele e de mucosas. O procedimento pode ser realizado ambulatorialmente e necessita de anestesia local. A profundidade e a extensão da excisão podem ser controladas pelo emprego de eletrodos de dimensões e formas variadas, adequadas a cada caso. Além do mais, apresenta baixo custo e fácil treinamento (Almeida Filho *et al.*, 2005).

A **exérese cirúrgica** convencional pode ser utilizada para as lesões verrucosas de pele e mucosas. O procedimento pode ser ambulatorial sob anestesia local. As principais complicações são a hemorragia imediata ou tardia e a cicatrização (Almeida Filho *et al.*, 2005).

- **IMUNOMODULADORES:** interferons e imiquimod.

Os **interferons** são glicoproteínas de origem celular cuja síntese é induzida por vírus e outros indutores. Agem reprimindo a multiplicação viral (ação antiviral), inibindo a multiplicação celular e a proliferação epitelial (ação anti-proliferativa) e estimulando as células NK (*natural killer*), os linfócitos T citotóxicos e os macrófagos (ação imunomoduladora). Existem três tipos de interferon: o alfa, produzido por leucócitos; o beta, produzido por fibroblastos; e o gama, produzido por linfócitos. Podem ser utilizados por via sistêmica, intralesional ou tópica. Os efeitos colaterais mais comuns imitam um estado gripal, podendo acometer o trato gastrointestinal (náuseas, vômitos, diarréias e dor), o sistema nervoso central (tontura, vertigem, sonolência, confusão,

depressão), o sistema nervoso periférico (parestesia e tremores), o sistema cardiovascular (edema, hipotensão, palpitações, arritmias) e até a pele (alopecia, pruridos, ressecamento). O tratamento deve ser monitorado com hemograma e bioquímica sanguínea. O custo elevado da droga e os efeitos colaterais, associados a uma baixa eficácia, limitam a sua utilização (Almeida Filho *et al.*, 2005).

O ***imiquimod*** é uma droga que atua como um indutor da produção endógena de interferon do tipo alfa e de citocinas (fator de necrose tumoral e interleucina 1, 6 e 8). Tem portanto ação antiviral, antiproliferativa e imunomoduladora. É recomendado apenas para as lesões da pele e da região perianal. Utilizado sob a forma de creme a 5%, sendo sua posologia de três vezes por semana em dias alternados, ao deitar, até a completa remissão das lesões ou até 16 semanas. A região deve ser lavada 6 a 10 horas após a aplicação. Os principais efeitos colaterais são locais e incluem: eritema, edema, ardência, prurido e hipersensibilidade. Reações sistêmicas são menos freqüentes e seu uso deve ser evitado durante a gravidez. Tem como vantagem a auto-aplicação e a boa aceitação e como desvantagem, o alto custo (Gollnick *et al.*, 2001).

Além dos tratamentos utilizados diretamente sobre as lesões, existem estudos que demonstram medidas acessórias que podem ser utilizadas no auxílio ao sistema imunológico no processo de regressão das lesões causadas por HPV. Deve-se avaliar a presença de outras afecções associadas na mesma região ou à distância, como por exemplo, infecções persistentes por *Chlamydia Trachomatis*, que podem dificultar a regressão das lesões (Nery *et al.*, 2005).

Vecchia *et al.* (1984) e Cuzick *et al.* (1990) descreveram a deficiência da vitamina A como indutora no processo de neoplasia intra-epitelial. Já Butterworth *et al.* (1992) demonstraram a deficiência de ácido fólico relacionada com a perpetuação da infecção pelo HPV 16 em mulheres.

Atualmente, utiliza-se a associação entre diferentes tratamentos, sendo a avaliação dos parceiros à procura de lesões clínicas ou subclínicas de fundamental importância (Nery *et al.*, 2005).

A utilização da vacina quadrivalente foi recentemente autorizada na prevenção da infecção pelo HPV, contudo apresenta ação preventiva e não terapêutica, constituindo uma grande ferramenta futura no controle das infecções por HPV.

III – OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Demonstrar a expressão imunoistoquímica da proteína p53 em lesões condilomatosas de pênis causadas pelo papilomavírus humano (HPV).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1 Descrever o impacto clínico e epidemiológico da infecção pelo HPV.
- 2 Observar as alterações morfológicas no epitélio infectado relacionando-as ao ciclo biológico do HPV.
- 3 Caracterizar a expressão imunoistoquímica da proteína p53 em células infectadas por HPV.

IV – METODOLOGIA

Os resultados deste trabalho foram demonstrados através da realização de dois artigos.

No primeiro artigo intitulado: “O impacto epidemiológico e clínico da infecção pelo HPV”, foi realizada uma extensa revisão bibliográfica sobre a etiopatogenia e a epidemiologia das infecções por HPV no Brasil e no Mundo através de levantamento bibliográfico na LILACS, SciELO e PUBMED de artigos relacionados.

O segundo artigo intitulado: “Estudo imunoistoquímico da infecção pelo papilomavírus humano (HPV): detecção da proteína p53 em condiloma acuminado de pênis” foi realizado utilizando-se a seguinte metodologia:

Após aprovação pelo comitê de ética em pesquisa (CEP), três pacientes com diagnóstico clínico de condiloma genital de pênis foram selecionados no ambulatório de dermatologia sanitária do Instituto de Dermatologia da Santa Casa da Misericórdia do Rio de Janeiro. Eles apresentavam lesão condilomatosa pela primeira vez e não haviam realizado nenhum tratamento prévio. A idade era de 13, 23 e 16 anos respectivamente. Foi realizada biópsia nos três pacientes, retirando-se parte da lesão condilomatosa e parte da pele adjacente. Cada paciente recebeu tratamento individualizado de acordo com o protocolo do serviço e todos apresentaram cura.

O material da biópsia foi encaminhado ao serviço de imunoquímica e histoquímica da 3ª enfermaria da Santa Casa da Misericórdia do Rio de Janeiro para diagnóstico histopatológico e imunoistoquímico.

Os fragmentos obtidos na biópsia foram fixados com formalina tamponada e incluídos em parafina. Para a avaliação histopatológica, os cortes histológicos foram desparafinizados e submetidos à coloração de hematoxilina-eosina.

Para o procedimento imunohistoquímico, os cortes histológicos foram desparafinados em xilol, hidratados em concentrações decrescentes de etanol e

levados até água destilada. A seguir, a recuperação antigênica foi realizada utilizando-se tampão citrato pH 6,0 (S1699 DakoCytomation) em banho-maria à 96°C por uma hora. Os cortes foram esfriados, lavados em água destilada e tratados por 30 minutos com peróxido de hidrogênio a 6% para inativar as peroxidases endógenas. Após lavados em água destilada, os cortes foram incubados por 10 minutos em tampão Tris-HCl (pH 7,6).

Os cortes foram tratados com o anticorpo anti-ptn P53 (1:200) (Monoclonal mouse anti-human p53 protein \ clone DO-7 código M7001 LOTE 108 - DAKO), por uma hora a 25°C em câmara umidificada; em seguida, foram lavados com tampão Tris-HCl (pH 7,6) por 10 minutos e incubados por 40 minutos com Envision (K1491 DakoCytomation). Após a lavagem em tampão tris-HCl (pH7,6), a reação foi revelada utilizando diaminobenzidina (DAB) (K3468 DakoCytomation) que mostra coloração marrom. Os núcleos foram corados com Hematoxilina de Mayer.

Como controles positivos foram utilizados cortes de tecidos mamários com células positivas para a proteína p53. Controles negativos foram realizados por omissão do anticorpo primário, substituído pela solução diluente (S3022 DakoCytomation).

Em um paciente foi realizada a detecção imunoistoquímica do HPV. Os cortes foram tratados com o anticorpo anti-HPV (1:200) (Monoclonal mouse anti-human HPV \ clone K1H8 código M3528 LOTE 0108C - DAKO), por uma hora à 25°C em câmara umidificada; em seguida, foram lavados com tampão Tris-HCl (pH 7,6) por 10 minutos e incubados por 40 minutos com Envision (K1491 DakoCytomation). Após a lavagem em tampão Tris-HCl (pH7,6), a reação foi revelada utilizando diaminobenzidina (DAB) (K3468 DakoCytomation) que mostra coloração marrom. Os núcleos foram corados com Hematoxilina de Mayer.

As imagens histológicas e imunoquímicas, analisadas em microscopia de campo claro, foram capturadas com câmera Nikon Colpix, estocadas em sistema

de arquivo TIFF (“tagged-image file format”) e impressas em impressora fotográfica colorida (HP deskjet 6122).

V – RESULTADOS

ARTIGO 1: O IMPACTO EPIDEMIOLÓGICO E CLÍNICO DA INFECÇÃO PELO HPV

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o interesse pelo papilomavírus humano (HPV) tem crescido em função do acúmulo de evidências do seu potencial oncogênico, principalmente no trato anogenital. Sequências de DNA de certos tipos de HPV têm sido encontradas em até 90% dos carcinomas cervicais para alguns autores¹ e até 99,7% para outros autores². Aliado a este fato, existem evidências de que a epidemia de HPV tem crescido nas últimas décadas e, atualmente, pode ser considerada a doença sexualmente transmissível (DST) mais prevalente em todo o mundo³.

O HPV é um vírus de DNA que causa, na maior parte das vezes, proliferações epiteliais benignas na pele e em mucosas, denominadas verrugas. Geralmente não apresentam sinais ou sintomas agudos, promovendo o surgimento de lesões clínicas que crescem lentamente, mas que também podem permanecer como lesões sub-clínicas ou infecções latentes por longos períodos⁴. Um subgrupo de HPV está associado ao surgimento de doenças epiteliais malignas em ambos os sexos, porém o câncer na cérvix uterina acontece com maior frequência⁵. O objetivo desta revisão é integrar a etiopatogenia do HPV à sua epidemiologia e às conseqüências sociais, através de levantamento bibliográfico na LILACS, SIELO e PUBMED de artigos relacionados com a etiopatogenia e a epidemiologia das infecções por HPV no Brasil e no Mundo.

HISTÓRICO

As verrugas genitais são conhecidas como manifestação de origem venérea desde a Antiguidade, presentes em escritos gregos e romanos, porém só despertaram real interesse após a epidemia de sífilis na Europa, no final do século XV. A partir de então, todas as úlceras e descargas genitais passaram a ser atribuídas ao “veneno venéreo” da sífilis. Desta maneira, as verrugas genitais eram confundidas com os condilomas planos, sendo então consideradas como manifestação clínica da sífilis⁶. Somente em 1949, através da microscopia eletrônica, foi demonstrada a origem viral das verrugas cutâneas⁷ e, em 1954, foi demonstrada a transmissão sexual das verrugas genitais⁸. Em 1976, um trabalho demonstrou sucesso com a hibridização molecular e estabeleceu a pluralidade do papilomavírus humano⁹. Na mesma época, outros trabalhos caracterizavam os padrões cito-histológicos da infecção cervical, correlacionando-os às lesões subclínicas cervicais^{10,11}. Outro estudo de 1977, através de extensa revisão da literatura, admitiu a hipótese do envolvimento do HPV na gênese dos carcinomas de células escamosas¹². Desde então, muitos estudos demonstraram a participação do HPV na carcinogênese, principalmente a cervical e, apenas em 1991, a Organização Mundial de Saúde (OMS) concluiu oficialmente a participação do HPV na carcinogênese cervical⁶.

ETIOLOGIA

Os papilomavírus humano (HPV) pertencem à família *Papovaviridae*, são vírus icosaédricos com 55 nm e 72 capsômeros, com o genoma formado por uma dupla hélice de DNA circular contendo cerca de 8.000 pares de bases que codificam nove proteínas¹³. Todos os HPV apresentam um tropismo por epitélios pavimentosos estratificados, mas variam de acordo com a especificidade do local de infecção, porém não causam doenças sistêmicas¹⁴. Cerca de 40 tipos de HPV apresentam tropismo pelas mucosas anogenitais, sendo os mais prevalentes os tipos: 6, 11, 16, 18, 31, 33 e 45¹⁵.

Os vírus que infectam o trato genital inferior são classificados em duas categorias: alto risco e baixo risco. Os vírus de alto risco ou oncogênicos (16, 18, 31, 33 e 45) integram-se ao genoma da célula hospedeira e estão associados ao desenvolvimento de lesões pré-cancerosas e cancerosas. Os vírus de baixo risco (6 e 11) não se integram ao genoma da célula, estando relacionados à formação das verrugas genitais. Contudo, existe a possibilidade de infecção por diferentes tipos de HPV simultaneamente.

HISTÓRIA NATURAL DA DOENÇA

O ciclo viral está relacionado ao processo de diferenciação celular das células infectadas (queratinócitos), com liberação de partículas virais maduras apenas nas camadas mais superficiais. A infecção pelo HPV ocorre através de microlesões no epitélio que favorecem o contato deste com as células da camada basal. A penetração do HPV nas células da camada basal parece estar relacionada à expressão de integrina $\alpha 6$ por estas células e pela mediação do heparan sulfato na adesão do HPV às células epiteliais, porém acredita-se na existência de outros mediadores neste processo.

Após a infecção, o período de incubação é impreciso, podendo ser longo, estando intimamente associado à competência imunológica individual.

Em seguida, quatro caminhos podem ser percorridos:

1) A infecção clássica, na qual não há integração do DNA viral ao DNA do queratinócito na camada basal. As células basais, por ação do DNA viral, não interrompem seu ciclo celular nas camadas suprabasais, como seria de se esperar, mas continuam a se multiplicar. Essa multiplicação pode gerar hiperplasia epitelial (acantose), paraqueratose, hiperqueratose e a vacuolização citoplasmática típica (coilocitose). Estes fatores associados levam à formação das lesões clínicas (lesões planas ou papilares).

2) A célula da camada basal infectada, devido à nova infecção por HPV ou à ação de um mutágeno qualquer, sofre a integração do DNA viral e

profundas alterações em sua função. O DNA integrado promove o aparecimento de sínteses protéicas anormais e, em conseqüência, mitoses anárquicas e perda da diferenciação celular. A infecção traduz-se em graves lesões epiteliais (lesões de alto grau causadas geralmente pelos tipos 16 e 18 do HPV - vírus de alto risco).

3) A infecção pode permanecer latente sem que haja qualquer expressão clínica da ação viral, o que pode ser responsável pelas constantes recidivas observadas.

4) A eliminação do HPV pelo sistema imune.

No entanto, acredita-se que a infecção possa ter curso flutuante entre a infecção clínica, subclínica, latente e a cura¹⁶. Uma característica importante é verificada pelo fato de que a infecção pelo HPV apresenta uma alta taxa de eliminação espontânea, cerca de 70% em 12 meses e 80% em até 18 meses¹⁷.

O vírus causa lesões semelhantes em epitélios de homens e mulheres, contudo as lesões cervicais são mais acentuadas. Este fato provavelmente ocorre devido à ação do HPV na zona de transformação da cérvix (junção escamocolunar – JEC). Esta zona apresenta um epitélio imaturo, metaplásico e hormônio-dependente, que se demonstra mais suscetível a transformações pré-malignas e possivelmente malignas. As demais regiões dos “epitélios genitais” das mulheres e dos homens apresentam um epitélio maduro e menos suscetível às alterações malignas do vírus⁴.

As lesões clínicas são representadas principalmente por verrugas genitais isoladas ou agrupadas, formando o condiloma acuminado, que pode ocorrer na genitália externa, em áreas perineais, mucosa anal ou até eventualmente em mucosa oral. No pênis, estas lesões ocorrem mais frequentemente perto do sulco coronal e na superfície interna do prepúcio. Na vulva, ocorrem principalmente na fúrcula, nos pequenos e grandes lábios e no clitóris. Estas lesões consistem em excrescências papilares vermelhas únicas ou múltiplas, sésseis ou pedunculadas, que variam de 1 mm a vários milímetros de diâmetro. Histologicamente, um estroma de tecido conjuntivo papilar viloso, formando ramos, é coberto por um epitélio que pode apresentar hiperqueratose superficial e espessamento da

epiderme subjacente (acantose) consideráveis. A maturação ordenada e normal das células epiteliais é preservada. Nestas lesões, nota-se uma clara vacuolização das células espinhosas (coilocitose), característica da infecção por HPV. A membrana basal está intacta, e não há evidências de invasão do estroma adjacente¹⁸.

As manifestações iniciais da infecção por HPV de alto risco podem ser lesões subclínicas de baixo grau, que se manifestam por alteração no processo de diferenciação no terço inferior do epitélio. Estas lesões podem permanecer como lesões de baixo grau, desaparecer ou transformarem-se em lesões de alto grau (mais de 2/3 do epitélio com alteração na diferenciação celular). A lesão de alto grau pode permanecer estacionada, regredir ou evoluir através da membrana basal do epitélio, caracterizando uma doença invasiva e metastática⁴.

As lesões de alto ou baixo grau não dependem exclusivamente do tipo viral, mas sim de um complexo mecanismo de agressão e defesa ainda não totalmente decifrado. Eventualmente podem surgir lesões benignas causadas por tipos de alto risco ou lesões malignas por tipos de baixo risco⁶.

A infecção pelo HPV provoca respostas celulares importantes e humorais mínimas. A imunidade celular à infecção depende do tipo viral, da suscetibilidade do hospedeiro e da presença de co-fatores que atuem sinergicamente, como fumo, gestação e outras infecções virais, entre os quais o HIV. Foi demonstrada a presença de células mononucleares (células CD4 e macrófagos) em papilomas em regressão, desta forma, pacientes HIV-positivos, transplantados ou diabéticos insulino-dependentes, têm risco 10 a 15 vezes maior de progressão para neoplasia, quando comparados a grupos-controle³.

Eventualmente, o HPV pode estar envolvido na etiologia de duas lesões distintas, que apresentam características histológicas de carcinoma *in situ*: a doença de Bowen e a papulose bowenóide¹⁹.

TRANSMISSÃO

Os estudos referentes à etiologia das verrugas genitais retiveram a atenção da maioria dos autores, desviando, assim, o estudo das formas de transmissão da doença⁶.

Na Antiguidade, o condiloma acuminado não era considerado como doença venérea verdadeira. Entretanto, admitia-se que fosse, primariamente, transmitida pelo intercuro homossexual masculino²⁰.

A transmissão sexual é a principal forma de transmissão do HPV, porém, somente em 1954, um estudo⁸ demonstrou clinicamente esta possibilidade. Esta demonstração foi possível após a avaliação e tratamento de um grupo com 24 mulheres com verrugas vulvares, esposas de militares das forças armadas americanas que prestaram serviços na guerra da Coréia. Todos os parceiros admitiram ter tido relações sexuais prévias com mulheres nativas que apresentavam verrugas genitais. Destes, 22 apresentavam verrugas penianas e estavam em tratamento e dois apresentaram a lesão quando ainda no Oriente. Outro estudo mais recente⁵, reportou a detecção de infecção por HPV em 77,1% de 96 parceiros de mulheres com evidências de infecção do trato genital inferior por HPV, em contraste com 13,3% de positividade em parceiros de mulheres sem evidência de infecção por HPV. Com o advento dos estudos moleculares, confirmou-se definitivamente a transmissão sexual através do isolamento em ambos os parceiros do mesmo HPV²¹.

A auto-inoculação pode ser considerada como uma das formas de transmissão do HPV²⁰, fato que hoje é visto como a forma usual de disseminação locorregional da doença, que leva à formação de múltiplas lesões ou massas volumosas.

A transmissão não-sexual do HPV foi demonstrada através da detecção de infecção vulvar por HPV em 42,2% de 45 mulheres virgens, em comparação a 51,9% de 162 mulheres com vida sexualmente ativa. A prevalência semelhante de infecção vulvar indicou que a transmissão não-sexual do HPV é comum¹⁷.

A transmissão através de fômites, embora sugerida por vários autores^{23,24}, ainda não foi demonstrada de maneira inquestionável.

O modo de infecção das crianças é facilmente explicável quando se pode constatar abuso ou agressão sexual. Contudo, na impossibilidade de confirmação destas situações, a forma de transmissão passa a ser especulativa. Há um grande espectro de opções, desde a contaminação intra-uterina² à contaminação acidental através de outras pessoas que interajam com a criança²⁵.

DIAGNÓSTICO

O diagnóstico do condiloma acuminado típico é primariamente clínico, confirmado por histopatologia, citologia e identificação do vírus através dos métodos de biologia molecular, como hibridização, captura híbrida e PCR.

Na forma subclínica da doença, a análise de pele e mucosas com a utilização de lentes de aumento, associada à aplicação tópica de ácido acético e azul de toluidina são fundamentais ao diagnóstico. Estas substâncias revelam as regiões epiteliais acometidas pela infecção, uma vez que o ácido acético a 5% provoca vasoconstrição e coagulação temporária das proteínas, conferindo cor branca a áreas ricas em proteínas, e o azul de toluidina tem grande afinidade por estruturas ácidas, impregnando, portanto, células ricas em DNA. Após a visualização das áreas acometidas, procede-se à confirmação por histopatologia, citologia ou biologia molecular.

Na forma latente, o diagnóstico só é factível pela pesquisa do DNA do HPV. Pode ser realizada a detecção direta do DNA viral pelos ensaios de hibridização do DNA (hibridização *in situ*, captura híbrida) ou a detecção do DNA viral com base em sua amplificação através da reação em cadeia de polimerase (PCR). A PCR é considerada o exame de melhor sensibilidade, comparativamente aos exames de hibridização *in situ* e de captura híbrida¹³. O HPV tem expressividade variável: 25% das pacientes previamente positivas podem estar, entre 5 a 7 dias depois, negativas, quando rastreadas com PCR, o que ilustra o valor prognóstico limitado de uma das técnicas mais sensíveis disponíveis na atualidade⁶.

EPIDEMIOLOGIA

A infecção pelo HPV acomete cerca de 75% da população sexualmente ativa, sendo 1% com infecção clínica, 4% com infecção subclínica e 70% com infecção latente (DNA-HPV +)¹⁷.

Porém, o grande impacto da infecção pelo HPV é demonstrado na população feminina. Após a infecção por HPV de alto risco, a probabilidade de desenvolver uma lesão cervical de alto grau é cerca de 300 vezes maior do que

em mulheres não-infectadas, enquanto a probabilidade de desenvolver câncer cervical é cerca de 50 a 100 vezes maior⁶. No câncer cervical, a presença do HPV é de 99,7%². Do total de casos de câncer na mulher, 11% são causados pelo HPV⁶. Nos homens, apenas 42% dos pacientes com carcinoma de pênis apresentam a co-infecção pelo HPV ²⁶.

Um estudo observou que, na Inglaterra, no período de 1972 a 2000, o número de casos em homens elevou-se de 39,8 para 270 por 100.000 habitantes, enquanto em mulheres passou de 25,3 para 190 por 100.000 habitantes²⁷.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a cada ano, apenas nos Estados Unidos, ocorrem cerca de 10 milhões de novos casos de infecção cervical sem alterações citológicas detectáveis, um milhão de novos casos de lesões de baixo grau e 300.000 novos casos de lesões de alto grau.

Em relação à estimativa mundial, a OMS calcula em 300 milhões de novos casos por ano de infecção cervical sem alterações citológicas detectáveis, 30 milhões de novos casos de lesões de baixo grau e 10 milhões de novos casos de lesões de alto grau com 493.000 novos casos de câncer cervical por ano. Destes casos de câncer, estima-se 233.372 mortes por ano, sendo 39.350 em países desenvolvidos e 194.025 em países em desenvolvimento. A estimativa para o ano de 2050 é de 1.090.000 novos casos/ano, caso se mantenham os índices atuais de crescimento²⁸.

Foi demonstrada a incidência de câncer de colo de útero em alguns países e verificou-se uma grande variação, indo desde 1,9/100.000 habitantes/ano em Israel até 83,2/100.000 habitantes/ano no Recife (Brasil)²⁹.

No Brasil, os dados estatísticos dos órgãos oficiais são escassos e com certeza não traduzem a verdadeira magnitude da infecção induzida pelo HPV. Em 2002, a prevalência estimada de infecções por HPV no Brasil foi de 25% nas mulheres, com cerca de 10.775.000 infecções, e 5% nos homens, com cerca de 2.085.000 infecções. Em 2005, a estimativa do Instituto Nacional do Câncer (INCA) para câncer de colo de útero foi de 20.690 casos, com cerca de 4.000 mortes²⁹. Contudo, deve-se atentar que as lesões subclínicas e latentes apresentam uma prevalência muito maior.

Além do câncer cervical e de pênis, o HPV pode estar presente em outros tipos de câncer, como o de vulva, ânus, boca, orofaringe e laringe¹³. Atualmente, apenas nos Estados Unidos, observa-se cerca de 4.000 casos de câncer vulvar e 2.000 casos de câncer vaginal por ano, sendo que em 70% há a detecção do HPV³⁰.

As verrugas genitais manifestam-se principalmente no adulto jovem. Todavia, podem incidir em qualquer faixa da vida, sendo mais freqüentes naquelas em que há maior vigência de relações sexuais⁶. No Brasil, a faixa etária da infecção pelo HPV está compreendida entre 20 a 30 anos de idade, coincidindo com o pico das atividades sexuais. Observa-se um declínio na prevalência das infecções pelo HPV conforme o aumento da idade³¹. Os dados relacionados à distribuição da infecção por raça e sexo são conflitantes.

COMENTÁRIOS

Os conhecimentos referentes à etiopatogenia do HPV vêm aumentando rapidamente. Contudo, muitos aspectos ainda são desconhecidos, sendo muitos deles fundamentais ao completo entendimento do processo de infecção.

A infecção pelo HPV deve ser abordada em três frentes: as manifestações somáticas (lesões clínicas, subclínicas e latentes), as manifestações epidemiológicas e as manifestações psicológicas. Por esse motivo, podemos afirmar que a infecção pelo HPV gera um impacto somático, epidemiológico e psicológico ou social. Contudo, a prática clínica diária demonstra que, muitas vezes, é mais difícil o tratamento das manifestações psicológicas do que das somáticas.

Impacto somático

A resposta imune à infecção pelo HPV apresenta vários pontos desconhecidos. É difícil compreender o motivo para cada indivíduo responder de forma diferente à infecção pelo HPV, podendo gerar lesões clínicas, subclínicas ou a cura. Qual seria o motivo para o sistema imune não agir imediatamente

após a infecção, uma vez que todos os tratamentos atualmente utilizados, na verdade, não agem diretamente sobre o HPV, mas estimulando o sistema imune a eliminá-lo? Esse fato ocorre provavelmente pela capacidade do HPV de não ser identificado pelo sistema imune através das células apresentadoras de antígenos no epitélio (células de Langerhans), porém não explica a manifestação de um tipo de HPV específico em caso de infecção por diferentes tipos.

O grande problema na abordagem prática à infecção pelo HPV é que esta infecção, na maior parte das vezes, não se comporta como um quadro infeccioso típico: infecção, manifestação clínica, diagnóstico e tratamento. Primeiro, por não apresentar um período determinado de incubação, podendo permanecer latente por muito tempo; segundo, pela variedade das manifestações clínicas ou subclínicas que podem ocorrer; e terceiro, porque muitas vezes a infecção pelo HPV pode ser diagnosticada, mas devido à ausência de lesões, não é necessário tratamento específico, apenas acompanhamento.

O efeito carcinogênico do HPV de alto risco diferenciado em cada indivíduo pode ser explicado pela necessidade de co-fatores neste processo. É como se o câncer induzido pelo HPV fosse um bolo de chocolate, onde, além do chocolate, que seria o HPV, são necessários outros componentes para formá-lo. Este fato deve ser ponderado, pois apenas a presença do HPV de alto risco não indica a existência de lesões cancerosas.

Algumas pessoas podem ser consideradas como vetores de transmissão do HPV, principalmente indivíduos do sexo masculino. Esta evidência foi demonstrada em um estudo avaliando o pênis de 51 parceiros de mulheres com infecção pelo HPV, o qual observou que 88% dos indivíduos apresentavam sinais histológicos de infecção e 72% apresentavam diagnóstico de infecção subclínica à peniscopia³². Estudo mais recente afirmou que as lesões penianas são encontradas em 68% dos parceiros de pacientes com neoplasia intracervical (NIC), sendo 70% subclínicas e associadas a tipo viral de alto risco¹⁹. Por esses motivos, a abordagem ao portador de HPV deve sempre contemplar os parceiros sexuais.

Cabe, ainda, dizer que, embora não sejam nem se transformem em doença maligna, os condilomas acuminados causam, por vezes, altos custos para o tratamento, falta ao trabalho (absenteísmo) e seqüelas locais (por conta de cirurgias, cauterizações). Isso tudo é agravado porque em muitos casos a recidiva é grande, fazendo com que a pessoa com quadro de verruga genital tenha que fazer mais de dez visitas médicas para o seu completo tratamento.

Impacto epidemiológico

Atualmente, a maioria dos estudos epidemiológicos está de acordo em demonstrar um aumento progressivo das infecções por HPV e dos casos de câncer de colo de útero. Este pode ser considerado um problema mundial, pois apesar de apresentarem um índice menor em relação aos países em desenvolvimento, os países desenvolvidos também apresentam altas taxas de infecção, ressaltando a questão de que a infecção pelo HPV tem abrangência mundial. A previsão de crescimento para a infecção por HPV é muito alta, e poderia saltar dos atuais 470.000 casos por ano para cerca de 1.090.000 casos por ano em 2050²⁶. O maior problema da infecção por HPV seria o grande número de indivíduos assintomáticos que, além de transmissores, estão suscetíveis às complicações da doença.

Por outro lado, não se pode sair atrás de portadores assintomáticos, pois o custo seria extremamente alto, no tratamento das infecções e principalmente nas implicações psicológicas e sociais.

Impacto psicológico/social

O impacto psicológico da infecção pelo HPV é o mais difícil de ser abordado. Como o número de infecções que não sofrem malignização é bem menor do que o de infecções que sofrem, geralmente o complicador na abordagem ao portador do HPV é a conscientização do paciente sobre os riscos da infecção sem gerar pânico ou um trauma emocional.

Atualmente a população tem acesso a muita informação sobre a infecção por HPV, contudo não tem a capacidade de filtrá-la. Com isso, muitas vezes

temos pacientes em pânico por possuírem um vírus carcinogênico e que, além de tudo, ainda não possui um tratamento 100% eficaz. A repercussão desta preocupação pode se manifestar no trabalho, no estudo ou até mesmo no convívio social e familiar deste paciente³². Geralmente o paciente apresenta dúvidas que não conseguem ser sanadas, como por exemplo, a origem da contaminação e o tempo de incubação da doença, pois como o HPV é considerado uma doença sexualmente transmissível (DST), levanta-se a questão de desconfiança e infidelidade conjugal.

Existem algumas atitudes que nunca devem ser realizadas, como por exemplo:

- Ter uma atitude preconceituosa sobre a sexualidade do paciente.
- Emitir diagnósticos baseados em suposições, sem averiguar dados clínicos e laboratoriais.
- Tomar uma atitude de juiz.
- Ignorar toda a trama emocional e existencial envolvida no caso.
- Desconhecer o custo-benefício das ações praticadas.

O limite entre conduta deficiente e exagerada é muito tênue, por isso não se deve ser negligente no tratamento e prevenção do HPV, mas também não se deve ser terrorista, gerando pânico e imensas complicações psicológicas e sociais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1- Cavalcanti SM, Zardo LG, Passos MR, Oliveira LH. Epidemiological aspects of human papillomavirus infection and cervical cancer in Brazil. J Infect 2000;40(1):80-7

2- Sanders GD & Taira AV. Cost effectiveness of a potential vaccine for human papillomavirus. *Emerg Infect Dis* 2003; 9(1):37-48.

3- Kjaer SK, Van den Brule AJ, Paull G, Svare EI, Sherman ME, Thomsen BL, Suntum M, Bock JE, Poll PA, Meijer CJ. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ* 2002; 325(7364):572.

4- McMurray HR, Nguyen D, Westbrook TF, Mcance DJ. Biology of human papillomaviruses. *Int J Exp Path* 2001; 82:15-33.

5- Tay SK. Genital Oncogenic Human Papillomavirus Infection: A Short review on the mode of Transmission. *Ann Acad Med Singapore* 1995; 24:598-601.

6- Almeida Filho GL, Passos MRL, Val IC, Lopes PC. Papilomatose Genital (Condiloma acuminado). In: Passos MRL. *Deesetologia, DST 5. 5ª Ed.* Rio de Janeiro: Editora Cultura Médica; 2005. p.483-522.

7- Strauss MJ, Shaw EW, Bunting H, Melnick JL. Crystalline virus-like particles from skin papillomas characterized by intranuclear inclusion bodies. *Proceedings of the society for experimental Biology and Medicine* 1949; 72:46.

8- Barret TJ, Silbar JD, Mcglnley JP. Genital warts – a venereal disease. *JAMA* 1954;154:333.

9- Gissmann L & zur Hausen H. Human papilloma viruses: physical mapping and genetic heterogeneity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976; 73:1310.

10- Meisels A & Fortin R. Condilomatous lesions of the cervix and vagina: I. Cytologic patterns. *Acta Cytol* 1976; 20:505.

11 - Purola E & Savia E. Cytology and gynaecologic condiloma acuminatum. Acta Citol 1977; 21:26.

12- zur Hausen H. Condylomata acuminata and human genital cancer. Cancer Res 1976; 36:530.

13 - Tyring SK. Human papillomavirus infections: epidemiology, pathogenesis, and host immune response. J Am Acad Dermatol 2000; 43(1 pt 2):S18-26.

14- Park TW, Fujiwara H, Wright TC. Molecular Biology of Cervical Cancer and its precursors. Cancer 1995; 76:1902-13

15- Pinto PA & Mellinger BC. HPV in the male patient. Urologic clinics of North América 1999; 26(4):797-807.

16- Syrjanen KJ. Epidemiology of human papillomavirus. HPV infections and their associations with genital squamous cell cancer. APMIS 1989; 97:957.

17- Heley S. Human papillomavirus: beware the infection you can't see. Aust Fam Physician 2003; 32(5):311-5.

18- Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins & Cotran Patologia. 7ª Ed. Rio de Janeiro: Editora Elsevier; 2005.

19- Bleeker MC, Hogewoning CJ, Van Den Brule AJ, Voorhorst FJ, Van Andel RE, Risse EK. Penile lesions and human papillomavirs in male sexual partners of women with cervical intraepithelial neoplasia. J Am Acad Dermatol 2002; 47(3): 351-7.

20- Bafversted B. Condyloma acuminata – past and present. Acta Derm. Venereol. 1967; 47: 376.

21- Ho L, Tay SK, Chan SY, Bernard HU. Sequence variants of human papillomavirus type 16 from couples suggested sexual transmission with low infectivity and polyclonality in genital neoplasia. J Infect Dis 1993;168:804-9.

22- McCance DJ, Campion MJ, Baram A, Singer A. Risk of transmission of human papillomavirus by vagina specula. Lancet 1986;4:816.

23- Gross G. Lesions of the male and female external genitalia associated with human papillomaviruses. In: Syrjanen KJ, Gissmann L, Koss L. papillomaviruses and human diseases. Heidelberg: Springer-Verlag; 1987.

24- Baruah MC, Lal S, Selvaraju M, Veliath AJ. Perianal condyloma in male child. Br J Vener Dis 1984;60:60.

25- Rubin MA, Zhou M, Ayala G, Cubilla AL, Quint WG. Detection and typing of human papillomavirus DNA in penile carcinoma: evidence for multiple independent pathways of penile carcinogenesis. Am J Pathol 2001;159(4):1211-8.

26- Organização Mundial de Saúde (OMS). Disponível em: http://who.int/vaccine_research/diseases/viral_cancers/en/index3.html

27- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. CA Cancer J Clin 2005;55:74-108

28- Lorenzo F, Ho L, Terry G, Singer A, Santos LC, Lubambo T. Int J Gynecol cancer 2000;10(2):143-150.

29- Ministério da Saúde. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/area.cfm?id_area=966

30- CDC – Atlanta 2005. Disponível em: <http://www.cdc.gov/node.do/id/0900f3ec80009a98>

31- Sedlacek TU, Cunnane M, Capiniello V. Colposcopy in the diagnosis of penile condiloma. Am J Obstet Gynecol 1986; 154:494.

32- Passos MRL. HPV: que bicho é esse? 4ª ed. Piraí: Editora RQV;2006.

ARTIGO 2: ESTUDO IMUNOISTOQUÍMICO DA INFECÇÃO PELO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV): DETECÇÃO DA PROTEÍNA p53 EM CONDILOMA ACUMINADO DE PÊNIS

INTRODUÇÃO

Os papilomavírus humanos (HPV) pertencem à família *Papovaviridae*, são vírus icosaédricos com 55 nm e 72 capsômeros, com o genoma formado por uma dupla hélice de DNA circular contendo cerca de 8.000 pares de bases que codificam nove proteínas (Tyring, 2000). Todos os HPV apresentam um tropismo por epitélios pavimentosos estratificados, mas variam de acordo com a especificidade do local de infecção, porém não causam doenças sistêmicas (Park *et al.*, 1995). Cerca de 40 tipos de HPV apresentam tropismo pelas mucosas anogenitais, sendo os mais prevalentes os tipos: 6, 11, 16, 18, 31, 33 e 45 (Almeida Filho *et al.*, 2005).

Os vírus que infectam o trato genital inferior são classificados em duas categorias: alto risco e baixo risco. Os vírus de alto risco ou oncogênicos (16, 18, 31, 33 e 45) integram-se ao genoma da célula hospedeira e estão associados ao desenvolvimento de lesões pré-cancerosas e cancerosas. Os vírus de baixo risco (6 e 11) não se integram ao genoma da célula, estando relacionados com a formação das verrugas genitais. Contudo existe a possibilidade de infecção por diferentes tipos de HPV simultaneamente.

O ciclo viral está relacionado com o processo de diferenciação celular das células infectadas (queratinócitos), com liberação de partículas virais maduras apenas nas camadas mais superficiais. A infecção pelo HPV ocorre através de microlesões no epitélio que favorecem o contato deste com as células da camada basal. A penetração do HPV nas células da camada basal parece estar relacionada com a expressão de integrina $\alpha 6$ por estas células e pela mediação

do heparan sulfato na adesão do HPV às células epiteliais, porém se acredita na existência de outros mediadores neste processo (Longworth & Laimins, 2004).

A ação carcinogênica do HPV, principalmente do HPV 16, já foi bem descrita e deve-se principalmente à imortalização dos queratinócitos à custa da inativação da proteína p53 e das proteínas da família retinoblastoma (pRb) pelas oncoproteínas virais E6 e E7, respectivamente. A proteína p53 é uma proteína supressora de tumor que regula a expressão de proteínas envolvidas no controle do ciclo celular, incluindo a proteína p21. Em caso de dano ao DNA, a proteína p53 torna-se ativada e induz a expressão de altos níveis de p21, resultando em interrupção do ciclo celular e apoptose. Para impedir a ação da proteína p53, a proteína E6 liga-se à proteína p53, inativando-a e conseqüentemente gerando a perda dos mecanismos de controle sobre as alterações no DNA do queratinócito. A identificação imunistoquímica da proteína p53 em tecidos normais não é possível devido a sua rápida expressão, contudo, quando modificada pela proteína viral E6, torna-se imunistoquimicamente identificável (Woodworth *et al.*, 2000).

Com relação aos tipos de HPV de baixo risco, principalmente representados pelos tipos 6 e 11, também se observa uma imortalização dos queratinócitos com conseqüente proliferação de todas as camadas do epitélio, exceto a camada basal, o que promove a formação das verrugas genitais. Contudo, apesar de também produzirem as proteínas E6 e E7, denominadas E6 e E7 de baixo risco, há a imortalização do queratinócito sem a incorporação do DNA viral ao genoma do hospedeiro, ou seja, não funcionam como proteínas oncogênicas. Estudos recentes demonstraram que a proteína E6 de baixo risco, além da ligação com a p53, também se liga a outras proteínas que não se ligam à proteína E6 de alto risco, o que demonstra um aspecto funcional diferente (Longworth & Laimins, 2004). O objetivo deste trabalho é avaliar a expressão da proteína p53 em lesões condilomatosas de pênis e correlacioná-la com as alterações epiteliais.

MATERIAL E MÉTODOS

Após aprovação pelo comitê de ética em pesquisa (CEP), três pacientes com diagnóstico clínico de condiloma genital de pênis foram selecionados no ambulatório de dermatologia sanitária do Instituto de Dermatologia da Santa Casa da Misericórdia do Rio de Janeiro. Eles apresentavam lesão condilomatosa pela primeira vez e não haviam realizado nenhum tratamento prévio. A idade era de 13, 23 e 16 anos respectivamente. Foi realizada biópsia nos três pacientes, retirando-se parte da lesão condilomatosa e parte da pele adjacente. Cada paciente recebeu tratamento individualizado de acordo com o protocolo do serviço e todos apresentaram cura.

O material da biópsia foi encaminhado ao serviço de imunohistoquímica e histoquímica da 3ª enfermagem da Santa Casa da Misericórdia do Rio de Janeiro para diagnóstico histopatológico e imunohistoquímico.

Os fragmentos obtidos na biópsia foram fixados com formalina tamponada e incluídos em parafina. Para a avaliação histopatológica, os cortes histológicos foram desparafinizados e submetidos à coloração de hematoxilina-eosina (Polak, 1997).

Para o procedimento imunohistoquímico, os cortes histológicos foram desparafinados em xilol, hidratados em concentrações decrescentes de etanol e levados até água destilada. A seguir, a recuperação antigênica foi realizada utilizando-se tampão citrato pH 6,0 (S1699 DakoCytomation) em banho-maria à 96°C por uma hora. Os cortes foram esfriados, lavados em água destilada e tratados por 30 minutos com peróxido de hidrogênio a 6% para inativar as peroxidases endógenas. Após lavados em água destilada, os cortes foram incubados por 10 minutos em tampão Tris-HCl (pH 7,6).

Os cortes foram tratados com o anticorpo anti-p53 P53 (1:200) (Monoclonal mouse anti-human p53 protein \ clone DO-7 código M7001 LOTE 108 - DAKO), por uma hora a 25°C em câmara umidificada; em seguida, foram lavados com tampão Tris-HCl (pH 7,6) por 10 minutos e incubados por 40 minutos com Envision (K1491 DakoCytomation). Após a lavagem em tampão tris-HCl (pH7,6), a reação foi revelada utilizando diaminobenzidina (DAB) (K3468

DakoCytomation) que mostra coloração marrom. Os núcleos foram corados com Hematoxilina de Mayer (Bacchi, 1996).

Como controles positivos foram utilizados cortes de tecidos mamários com células positivas para a proteína p53. Controles negativos foram realizados por omissão do anticorpo primário, substituído pela solução diluente (S3022 DakoCytomation).

Em um paciente foi realizada a detecção imunoistoquímica do HPV. Os cortes foram tratados com o anticorpo anti-HPV (1:200) (Monoclonal mouse anti-human HPV \ clone K1H8 código M3528 LOTE 0108C - DAKO), por uma hora à 25°C em câmara umidificada; em seguida, foram lavados com tampão Tris-HCl (pH 7,6) por 10 minutos e incubados por 40 minutos com Envision (K1491 DakoCytomation). Após a lavagem em tampão Tris-HCl (pH7,6), a reação foi revelada utilizando diaminobenzidina (DAB) (K3468 DakoCytomation) que mostra coloração marrom. Os núcleos foram corados com Hematoxilina de Mayer (Bacchi, 1996).

As imagens histológicas e imunoquímicas, analisadas em microscopia de campo claro, foram capturadas com câmera Nikon Colpix, estocadas em sistema de arquivo TIFF (“tagged-image file format”) e impressas em impressora fotográfica colorida (HP deskjet 6122).

RESULTADOS

Os resultados dos três pacientes foram analisados separadamente.

O **primeiro paciente** tinha 13 anos de idade e apresentava lesão condilomatosa única com superfície úmida vegetante medindo aproximadamente 4 cm localizada em sulco bálango prepucial (fig. 1 A). Relatou início do quadro há cerca de 2 meses com rápida progressão após contato sexual com parceira que apresentava lesões vulvares semelhantes.

A histopatologia demonstrou hiperplasia epitelial (acantose), principalmente da camada de Malpighi (figs.1 B e C). Foram observadas paraqueratose (fig. 1 F) e

vacuolização citoplasmática (coilocitose) em queratinócitos com atipia nuclear (células largas, usualmente poligonais com um núcleo picnótico rodeado por um vacúolo citoplasmático), principalmente no estrato granuloso e no estrato córneo (figs. 1 D, E, F, J, K e L). Verificou-se um aumento dos leucócitos no epitélio (figs. C e E) porém, não foi observado uma alteração característica que é o alongamento das papilas dérmicas que podem formar um padrão de pseudo-hiperplasia epitelomatosa²⁷.

A imunoistoquímica para a proteína p53 demonstrou marcação em todas as camadas do epitélio com destaque para as camadas mais superficiais (figs. 1 G, H, I, J, K e L). A marcação da camada basal apesar de presente, não era contínua e não estava relacionada a células morfológicamente distintas (figs. 1 H e J). A maioria das células marcadas demonstrava atipia nuclear (coilocitose) (figs. 1 I, J, K e L) e algumas já apresentavam núcleos picnóticos (fig. 1 L).

O **segundo paciente** tinha 23 anos de idade e apresentava lesões múltiplas, algumas isoladas outras confluentes, com aspecto de pápulas com coloração acastanhadas localizadas em corpo de pênis (figs. 2 A e B). Relatou início do quadro há cerca de 4 meses com progressão lenta, nega contato sexual com parceira com lesões semelhantes.

A histopatologia demonstrou discreta hiperplasia epitelial (fig. 2 C) e hiperqueratose (fig. 2 D), contudo se observou intensa vacuolização citoplasmática (coilocitose) em queratinócitos com atipia nuclear desde o estrato granuloso até o ápice do epitélio (figs. 2 C e D).

A imunoistoquímica para a proteína p53 demonstrou marcação em todo o epitélio (figs. 2 E e F), contudo com grande destaque para a camada basal e progressiva diminuição em direção ao ápice (figs. E, F, G, H, I e J). Verificou-se núcleos picnóticos em todas as camadas, inclusive na camada basal (figs. 2 F e G).

O **terceiro paciente** tinha 16 anos de idade e apresentava lesões múltiplas com aspecto de pápulas coalescentes de superfície úmida vegetante localizada em glândula (figs. 3 A e B). Relatou início do quadro há cerca de 2 meses com progressão rápida, nega contato sexual com parceira com lesões semelhantes.

A histopatologia demonstrou hiperplasia epitelial (acantose) e extensa vacuolização citoplasmática (coilocitose) em queratinócitos com atipia nuclear, principalmente no terço apical do epitélio (fig. 3 C). Não foi observado nenhum sinal de invasão no tecido conjuntivo.

A imunohistoquímica para HPV marcou as células dos dois terços superiores do epitélio (fig. 3 D).

A imunohistoquímica para a proteína p53 (figs. 3 E, F, G e H) marcou células em todas as camadas do epitélio, porém com pequena intensidade. A marcação foi maior nas camadas superiores do epitélio (figs. E e F) do que na camada basal (figs. E, F, G e H). Núcleos picnóticos foram visualizados em toda a extensão do epitélio (figs. E e F).

Lesão condilomatosa única com superfície úmida vegetante medindo aproximadamente 4 cm localizada em sulco bálano prepucial.

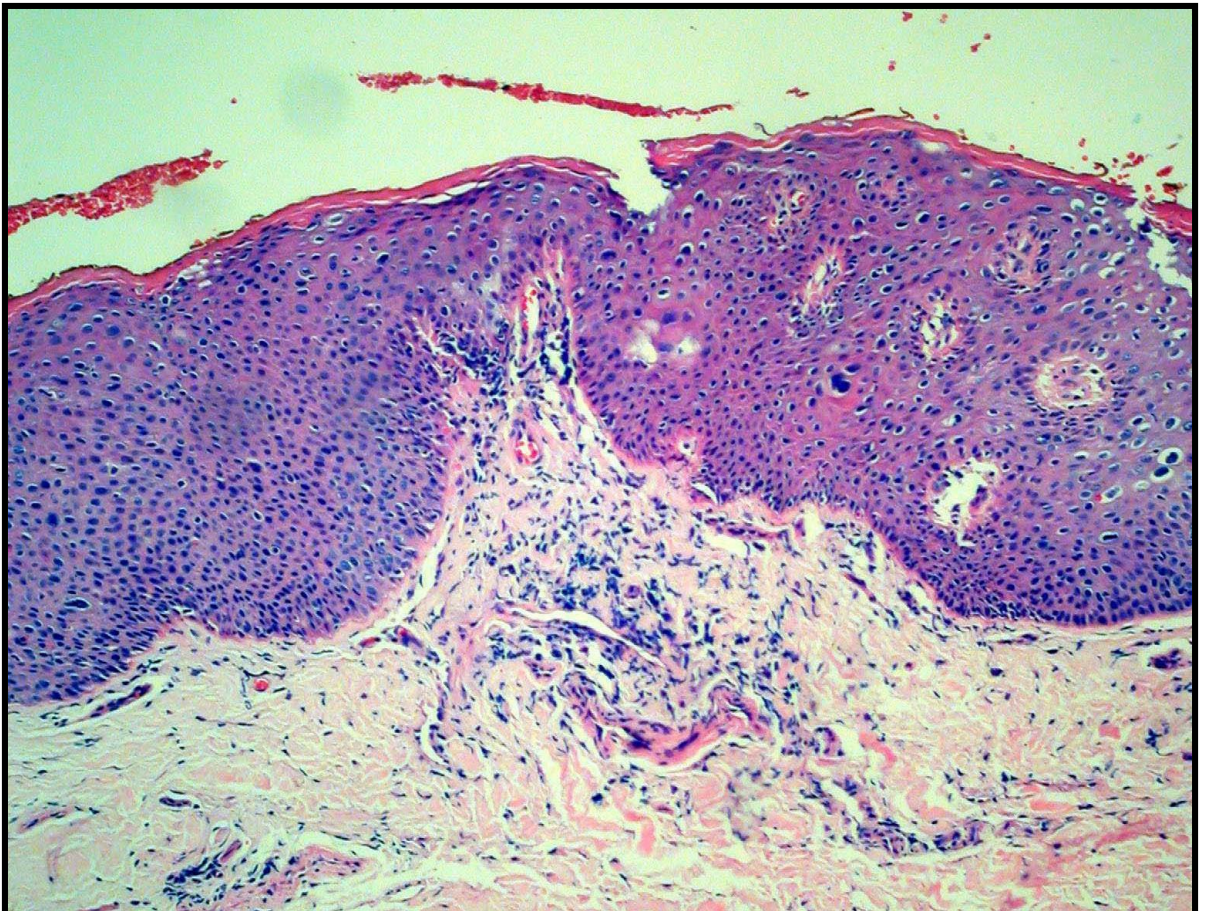
FIGURA 1 - B

Fotomicrografia de pele com hiperplasia epitelial, principalmente na camada de Malpighi (estrato basal e estrato espinhoso).

(Hematoxilina-Eosina, 40x)



FIGURA 1 - B



Fotomicrografia de pele com hiperplasia epitelial, paraqueratose e coilocitose.
(Hematoxilina-Eosina – 100x)

FIGURA 1 - D

Fotomicrografia de pele destacando a coilocitose em todas os estratos da epiderme.
(Hematoxilina-Eosina, 400x)

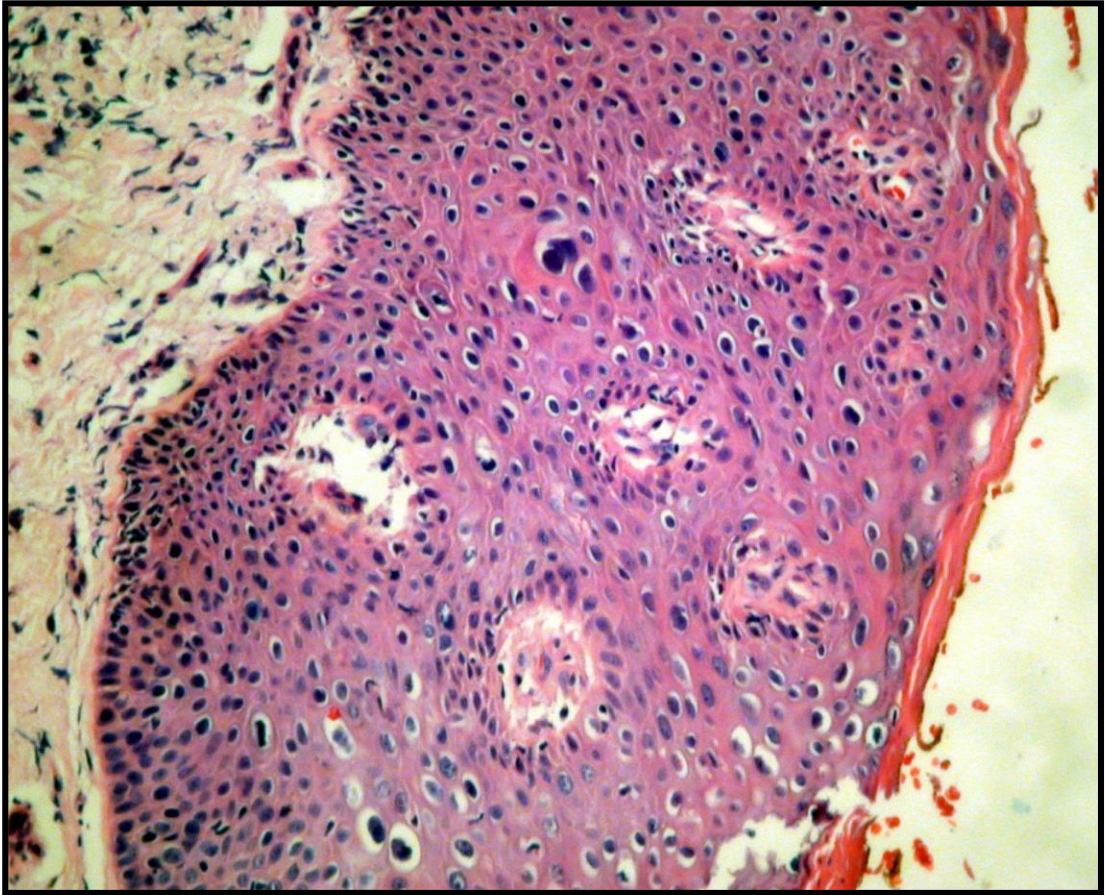
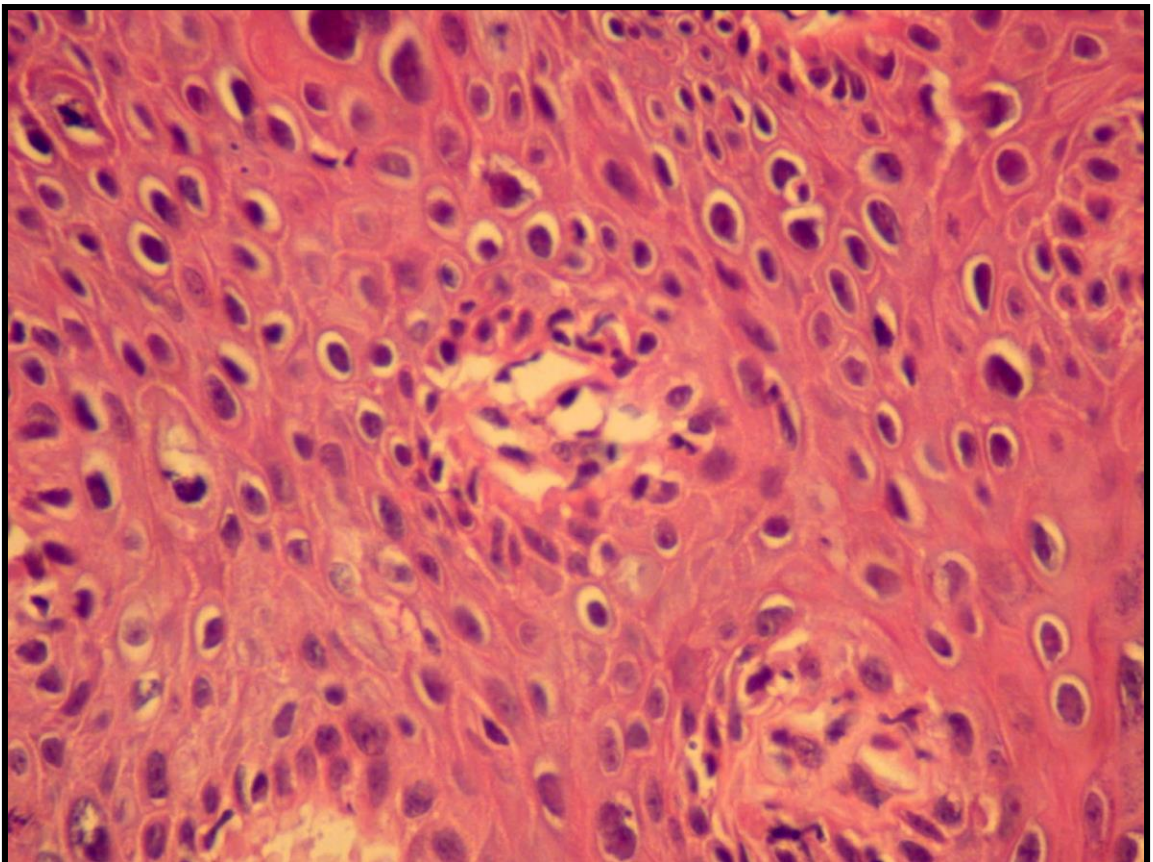


FIGURA 1 - D



Fotomicrografia de pele com coilocitose desde o estrato granuloso e presença aumentada de leucócitos intra-epiteliais.

(Hematoxilina-Eosina – 400x)

FIGURA 1 - F

Fotomicrografia de pele com paraqueratose e coilocitose nos estratos mais superficiais da epiderme.

(Hematoxilina-Eosina, 400x)

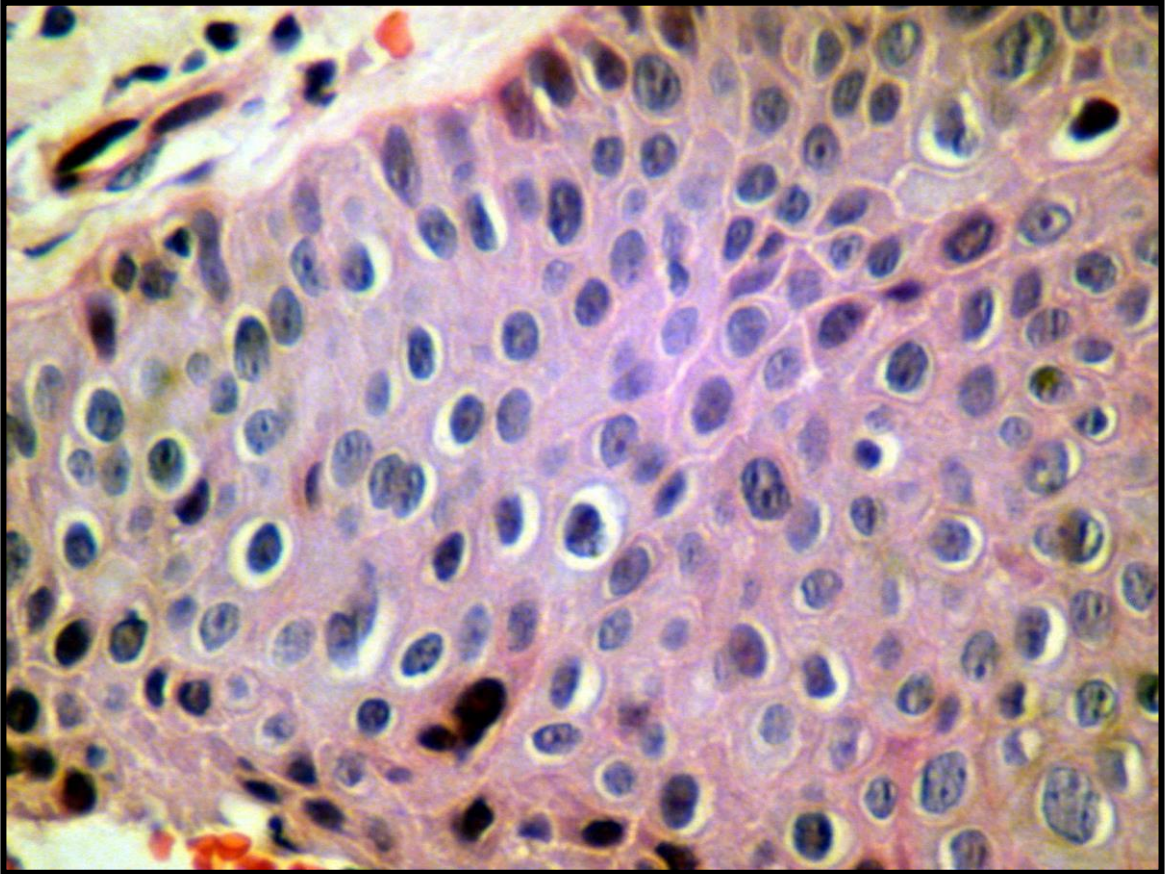
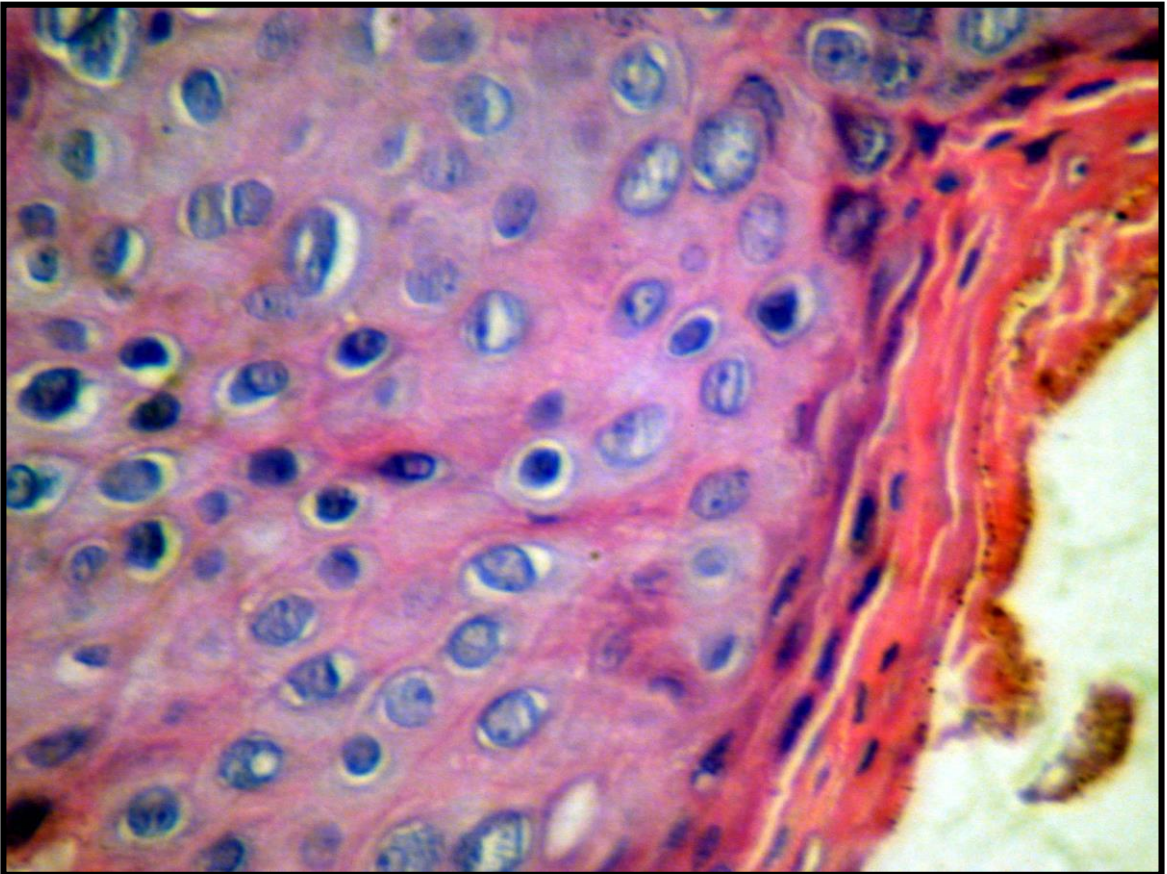


FIGURA 1 - F



Fotomicrografia de pele demonstrando a expressão imunoistoquímica da proteína p53 em diferentes estratos epidérmicos.

(Imunoistoquímica proteína p53 – 100x)

FIGURA 1 - H

Fotomicrografia de pele demonstrando a expressão imunoistoquímica da proteína p53 desde o estrato basal até o estrato lúcido com maior intensidade nas camadas superficiais.

(Imunoistoquímica proteína p53 – 100x)

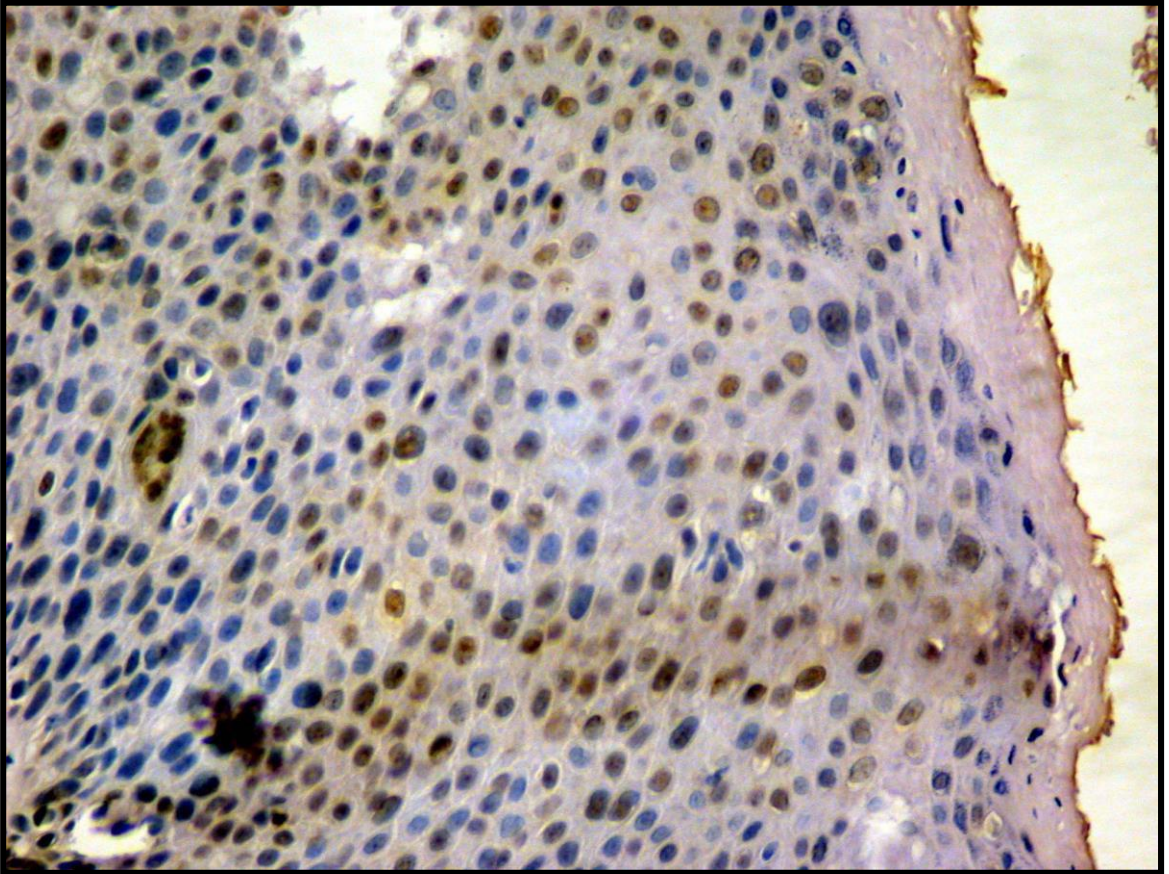
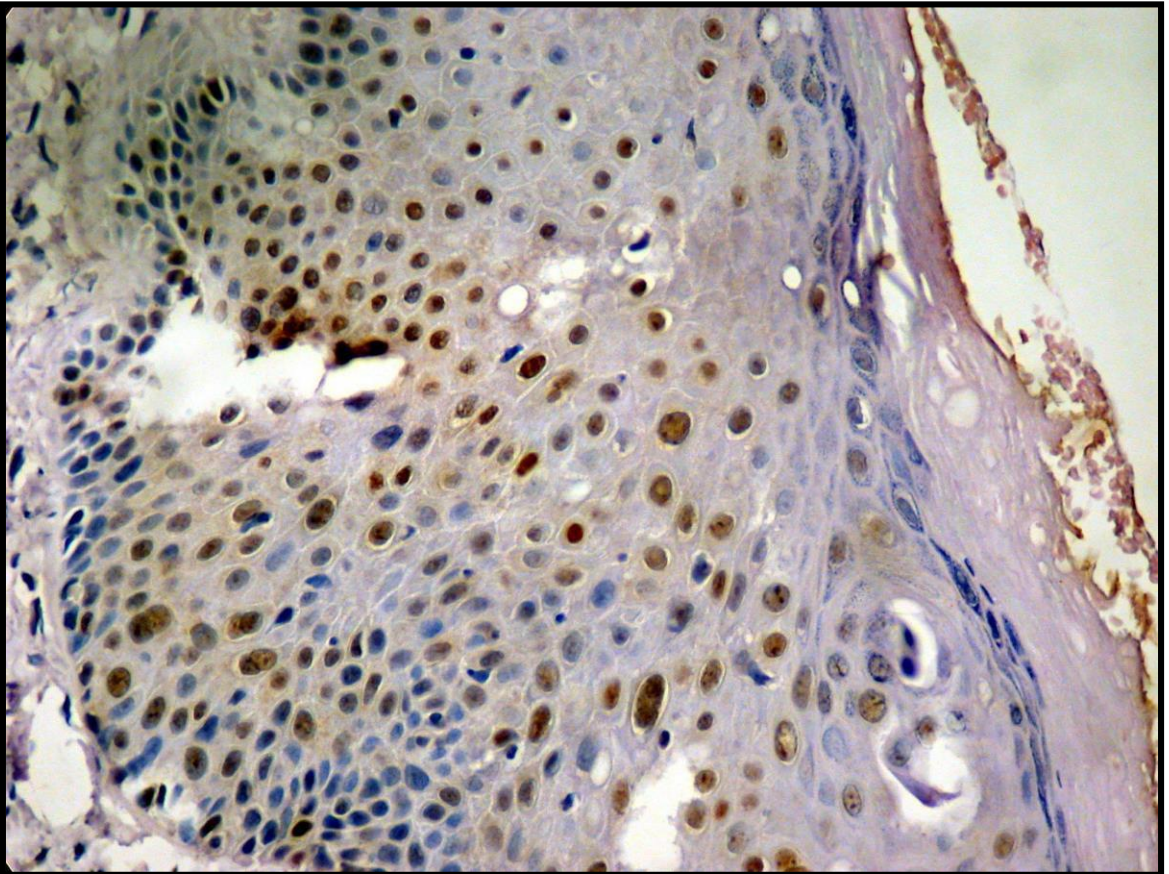


FIGURA 1 - H



Fotomicrografia de pele demonstrando a expressão imunoistoquímica da proteína p53 associada a coilocitose nos estratos superficiais. (Imunoistoquímica proteína p53 – 400x)

FIGURA 1 - J

Fotomicrografia de pele demonstrando a expressão imunoistoquímica da proteína p53 no estrato basal (Imunoistoquímica proteína p53 – 400x)

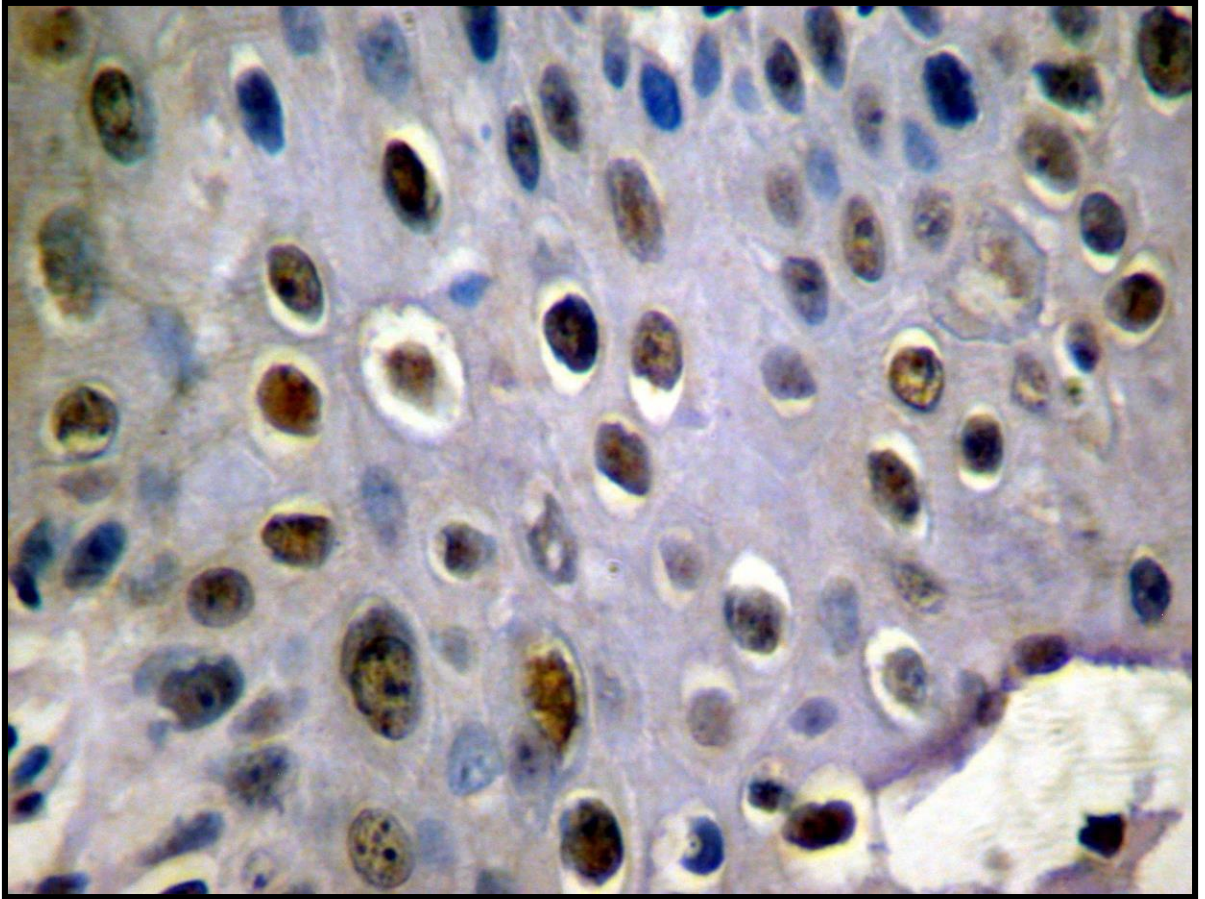
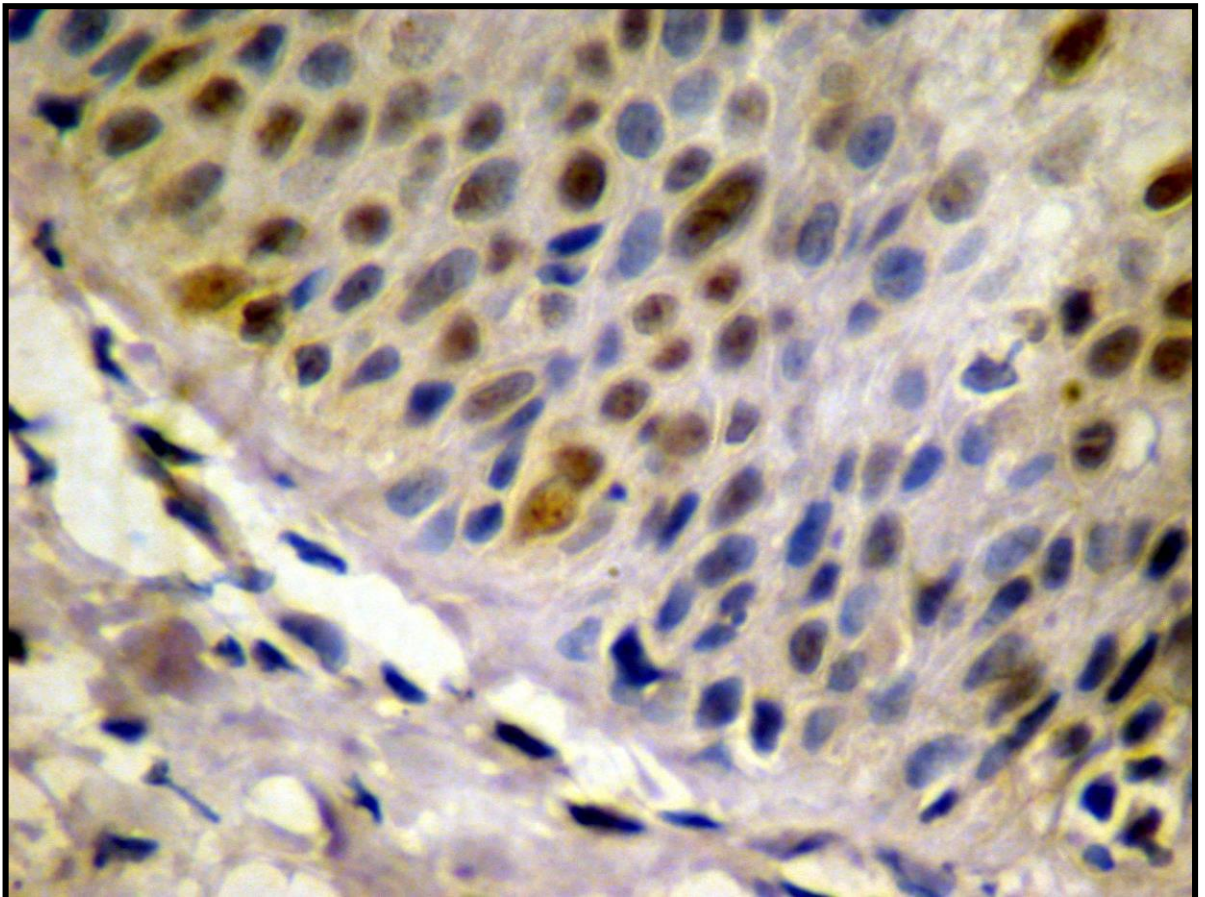


FIGURA 1 - J



Fotomicrografia de pele demonstrando a expressão imunoistoquímica da proteína p53 em toda a epiderme com coilocitose associada nos estratos superficiais.

(Imunoistoquímica proteína p53 – 400x)

FIGURA 1 - L

Fotomicrografia de pele demonstrando a expressão imunoistoquímica da proteína p53 associada a núcleos picnóticos.

(Imunoistoquímica proteína p53 – 400x)

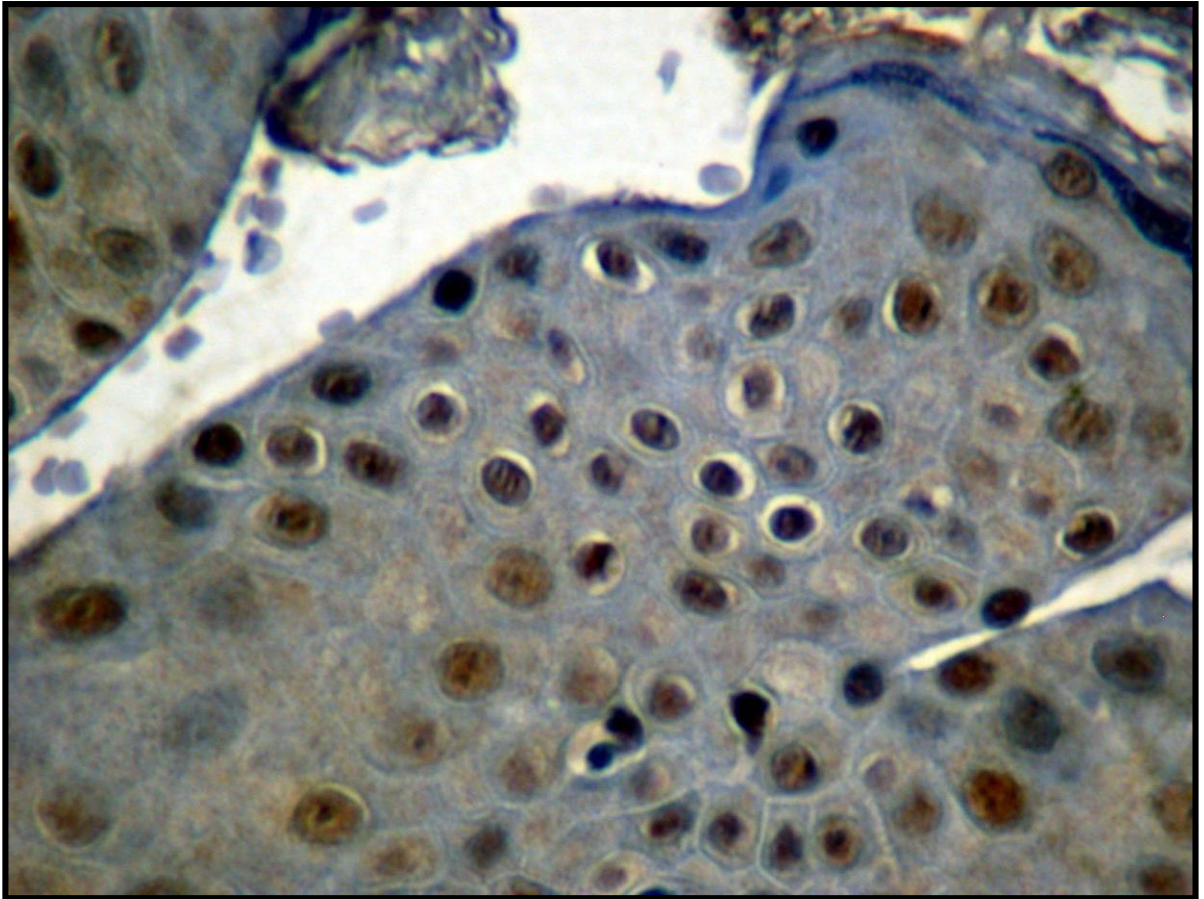
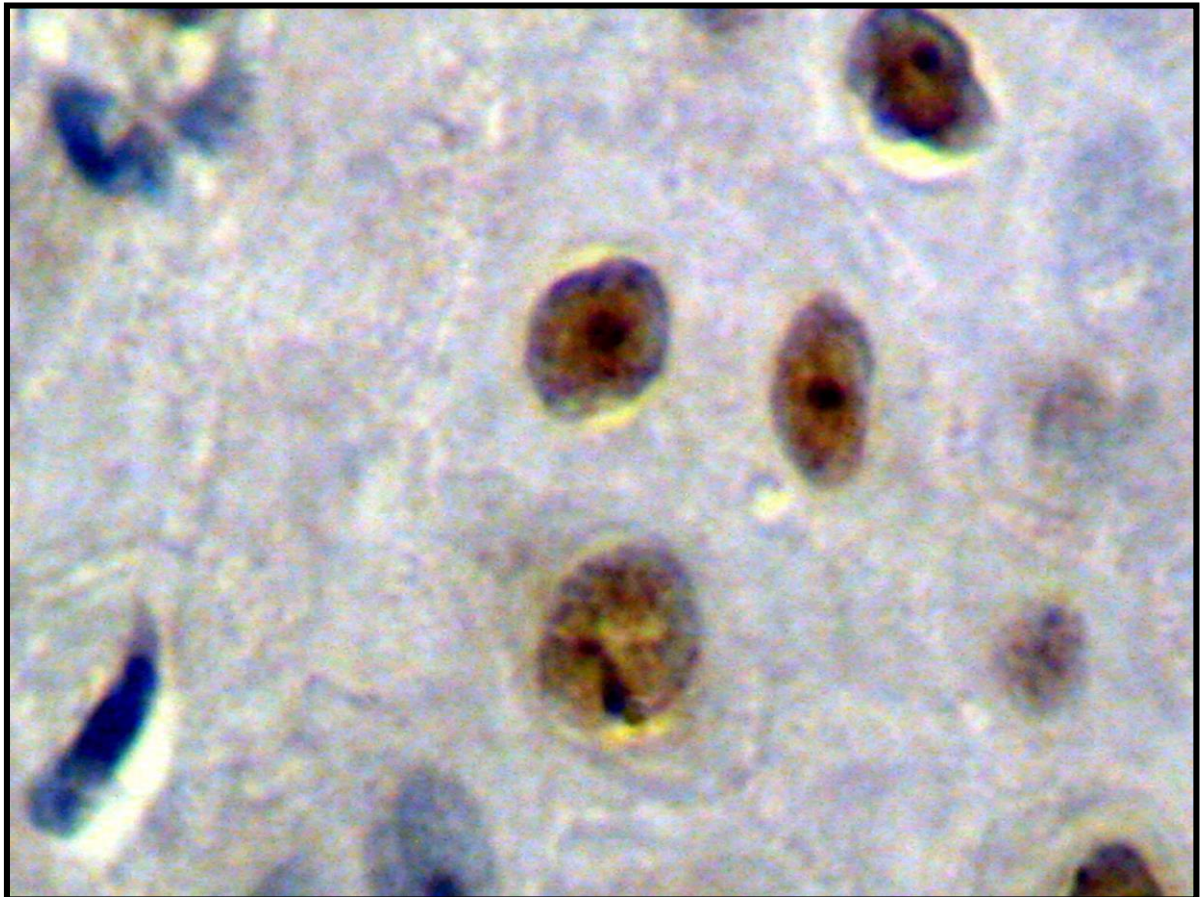


FIGURA 1 - L



Lesões múltiplas. Algumas isoladas outras confluentes, com aspecto de pápulas e coloração acastanhada localizadas em corpo de pênis



FIGURA 2 - B



Fotomicrografia de pele com coilocitose limitada aos estratos supra-espinhoso.

(Hematoxilina-Eosina – 400x)

FIGURA 2 - D

Maior destaque aos coilócitos nas camadas superficiais associado a paraqueratose. (Hematoxilina-Eosina, 400x)

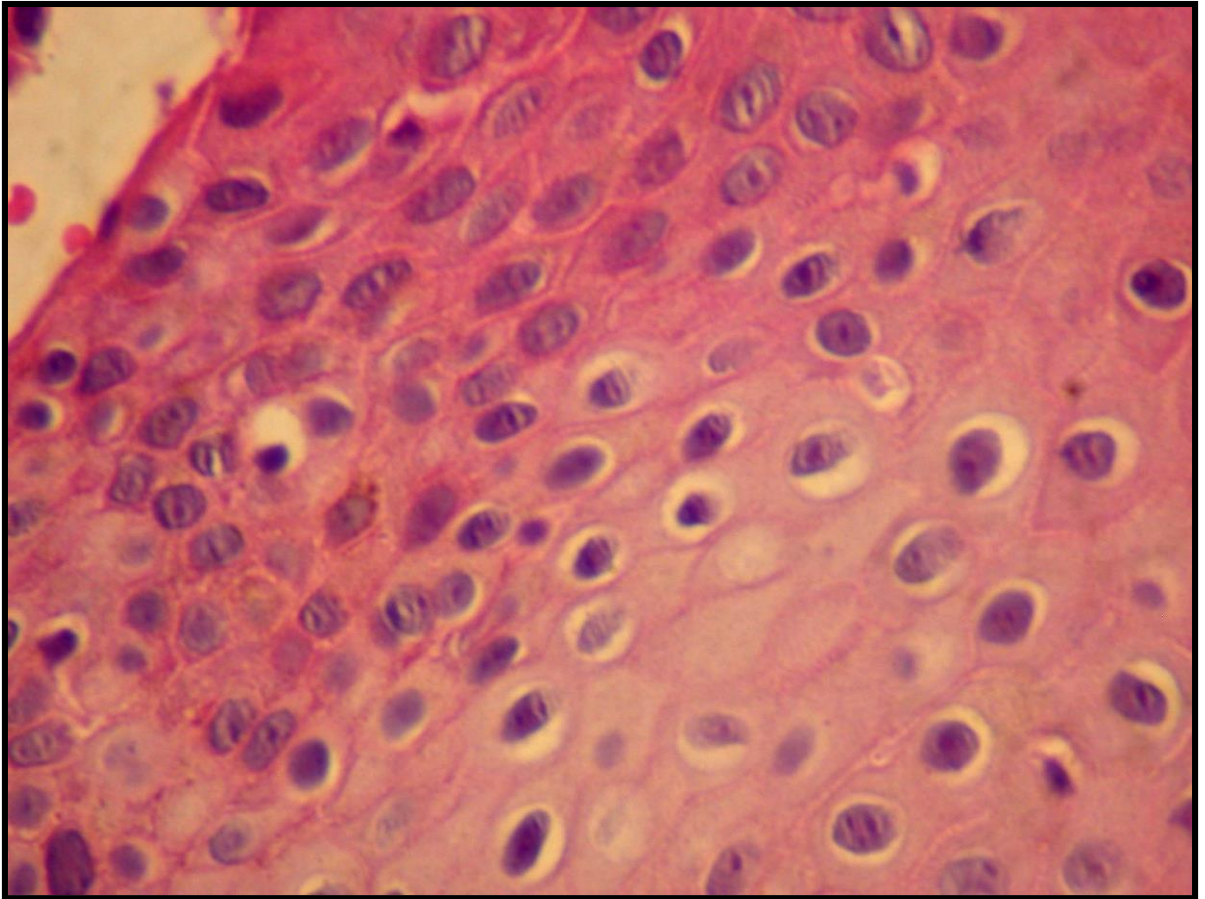
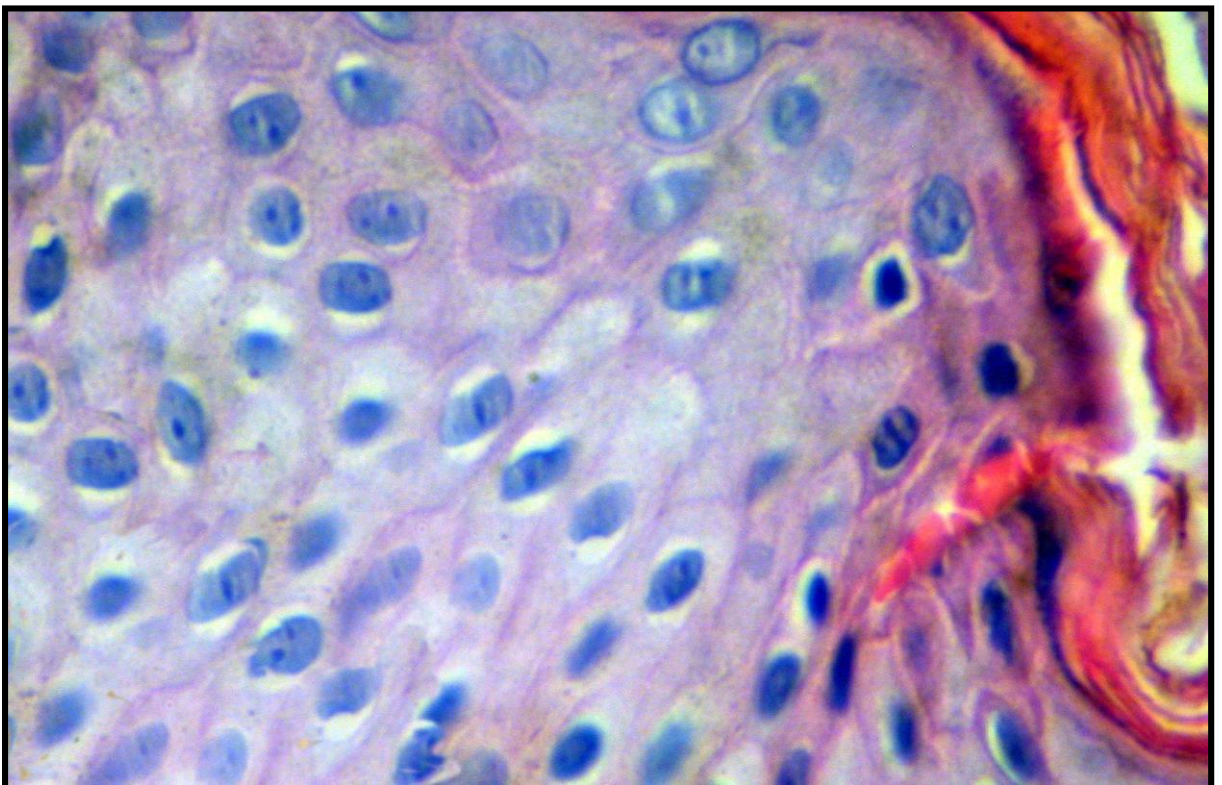


FIGURA 2 - D



Fotomicrografia de pele demonstrando a expressão imunoistoquímica da proteína p53
em todos os estratos epidérmicos.

(Imunoistoquímica proteína p53 – 100x)

FIGURA 2 - F

Fotomicrografia de pele demonstrando a expressão imunoistoquímica da proteína p53
acentuada no estrato basal.

(Imunoistoquímica proteína p53 – 400x)

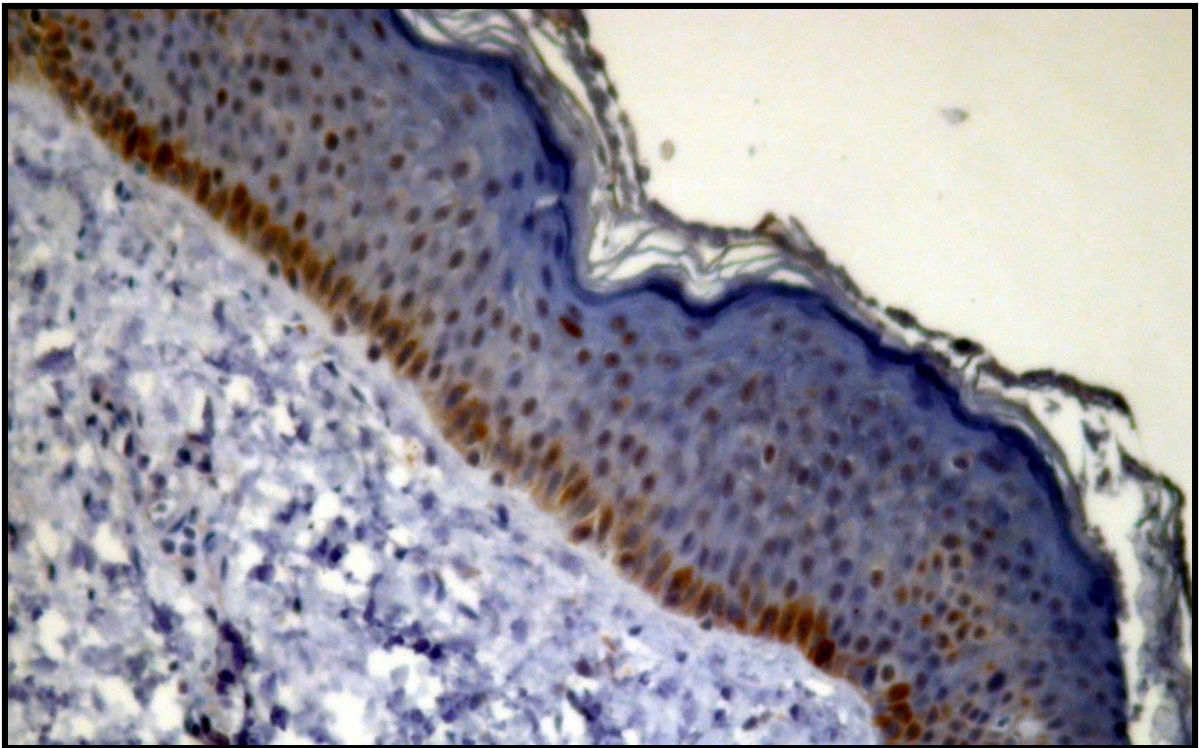
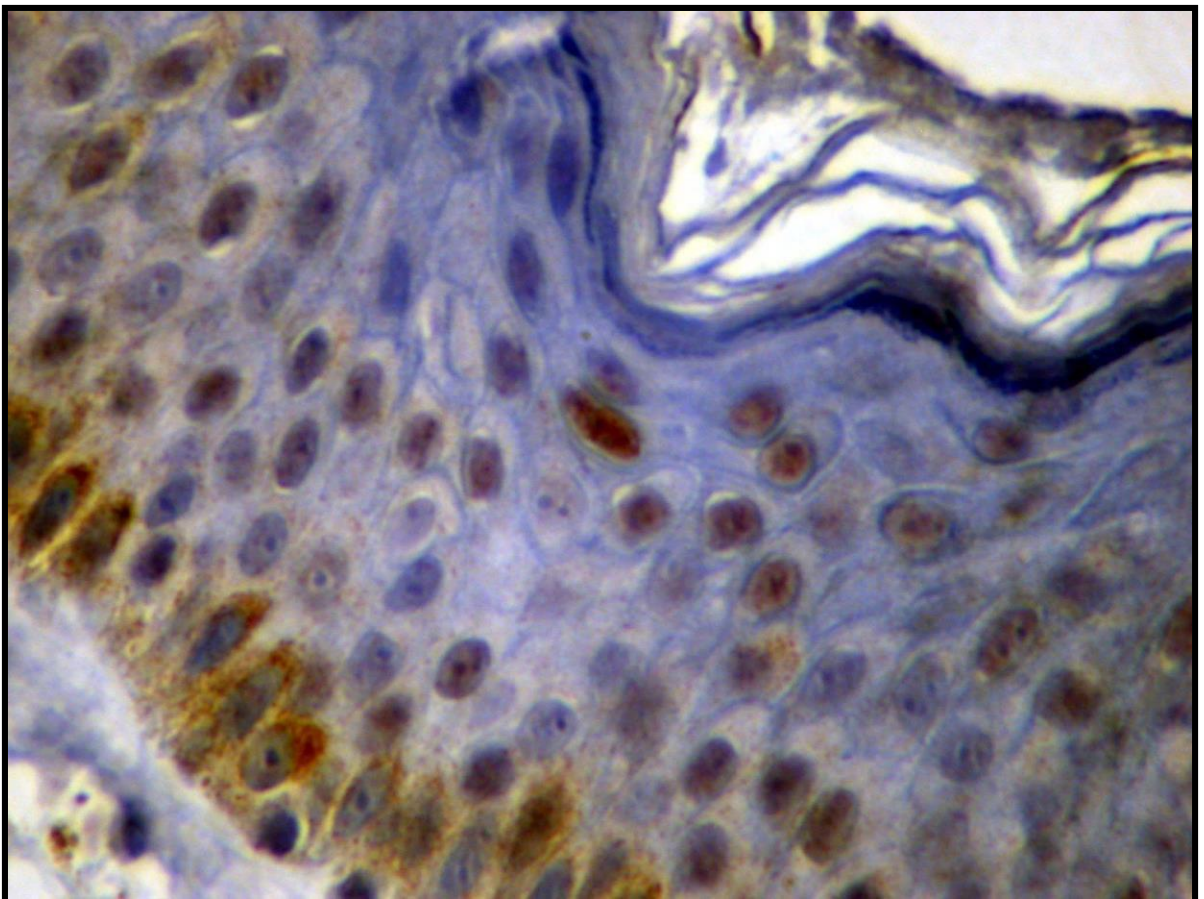


FIGURA 2 - F



Fotomicrografias de pele destacando a expressão imunoistoquímica da proteína p53
no estrato basal sem coilocitose.

(Imunoistoquímica proteína p53 – 400x)

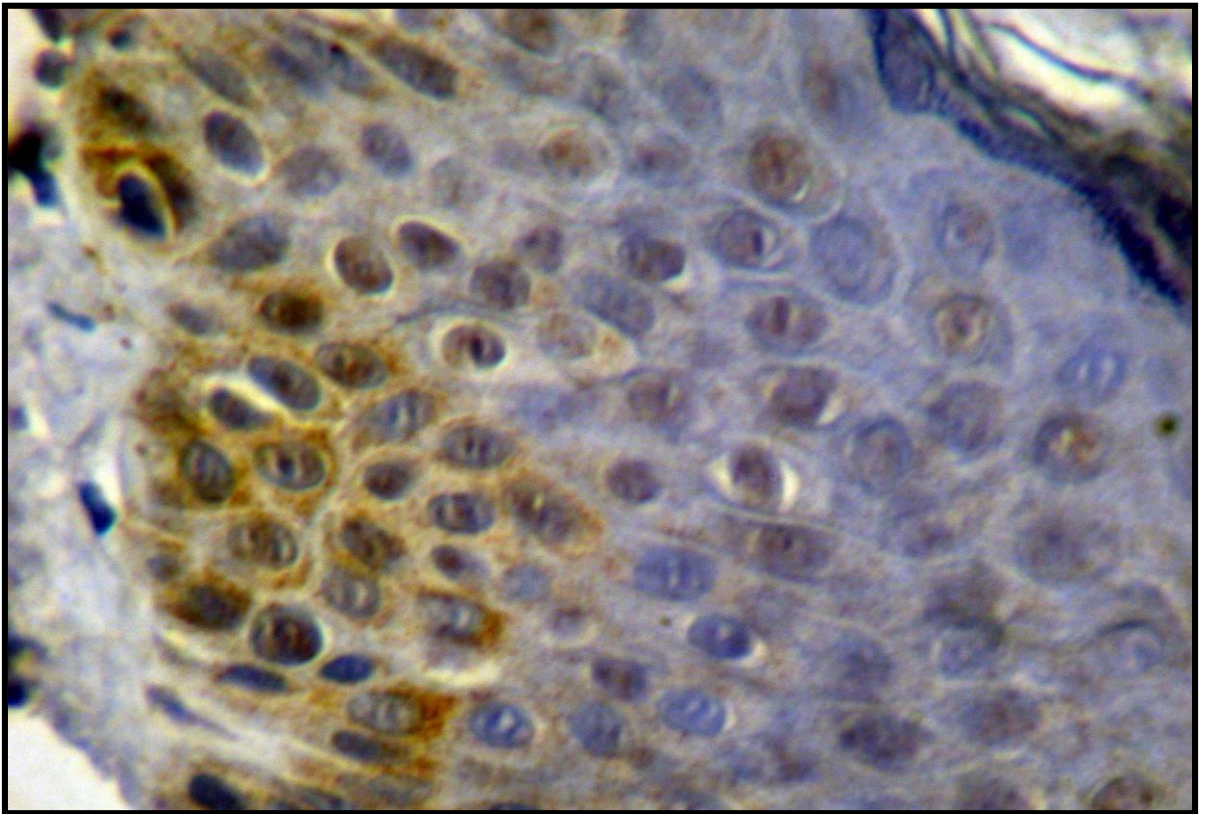
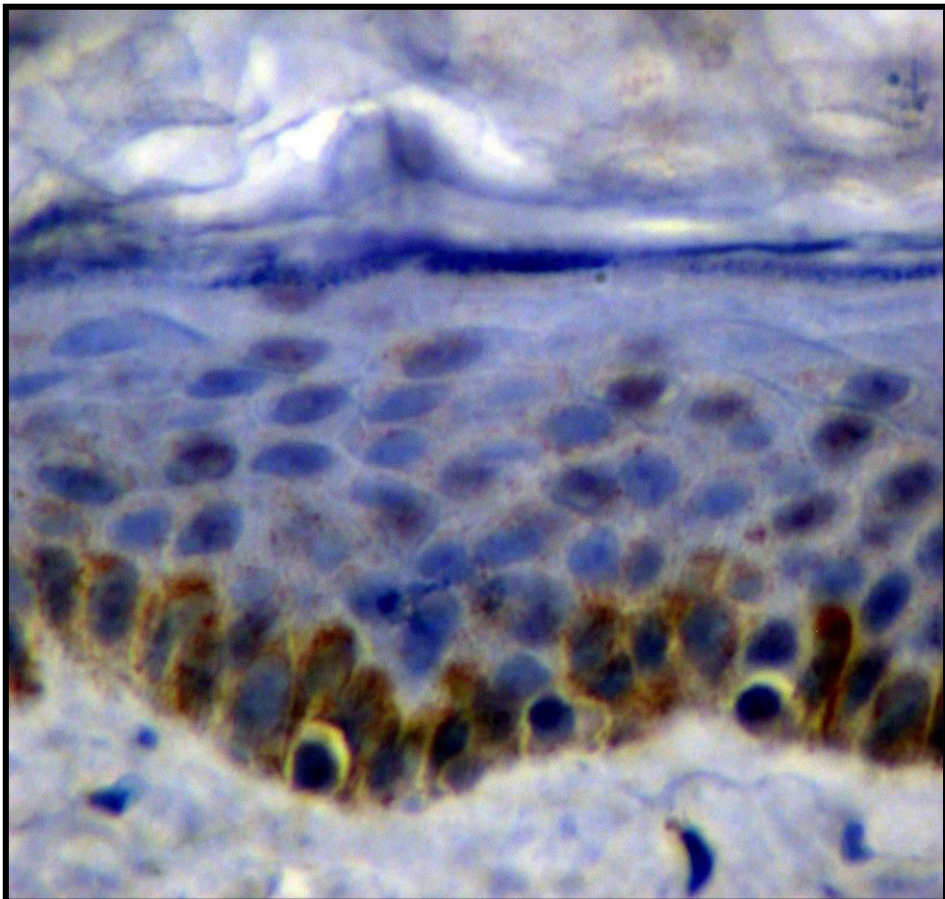


FIGURA 2 - H



Fotomicrografias de pele destacando a expressão imunoistoquímica da proteína p53 no estrato basal. (Imunoistoquímica proteína p53 – 400x)

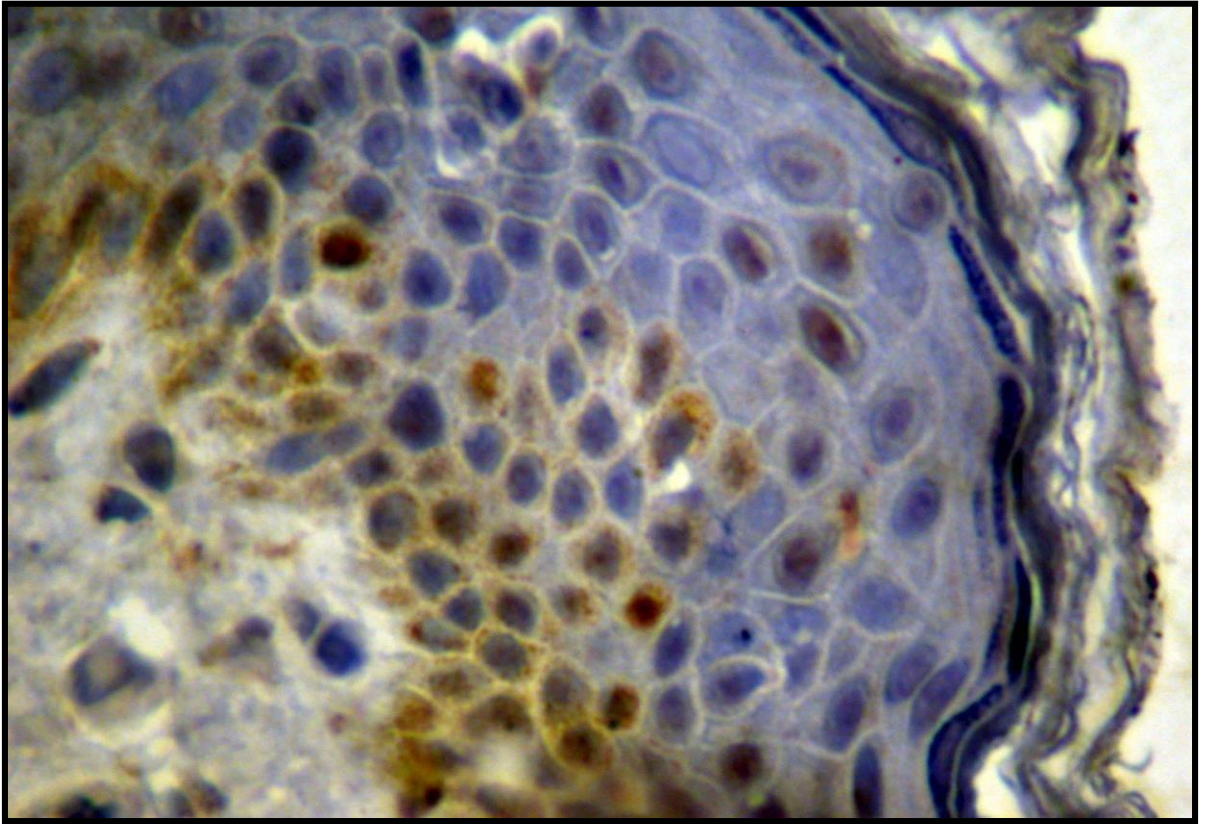
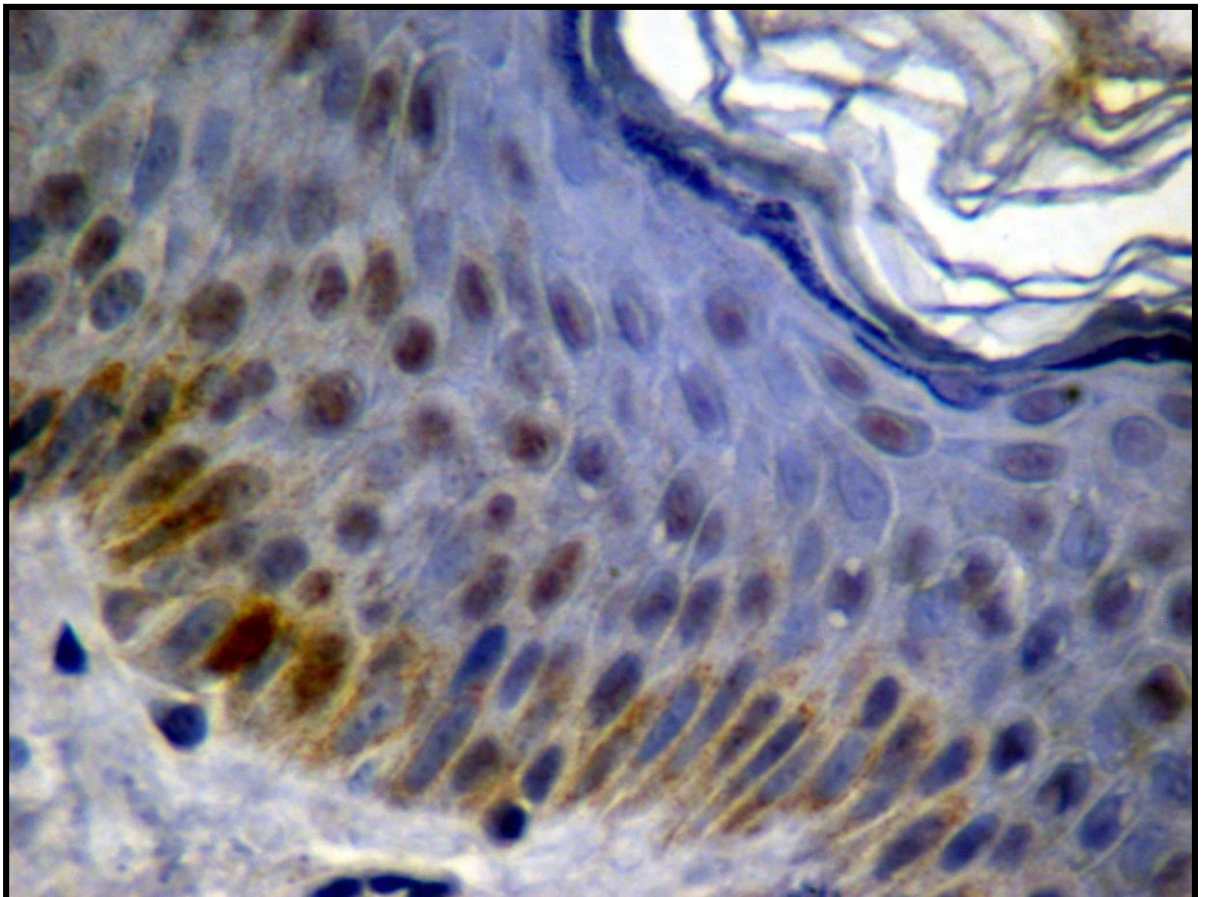


FIGURA 2 - J



Lesões múltiplas com aspecto de pápulas coalescentes de superfície úmida vegetantes localizadas em glande e prepúcio.



FIGURA 3 - B



Fotomicrografia de pele com coilocitose acentuada no terço superior da epiderme.
(Hematoxilina-Eosina – 100x)

FIGURA 3 - D

Fotomicrografia de pele demonstrando a presença do HPV através da expressão imunoistoquímica do capsídeo viral nos estratos superficiais da epiderme.
(Imunoistoquímica HPV – 100x)

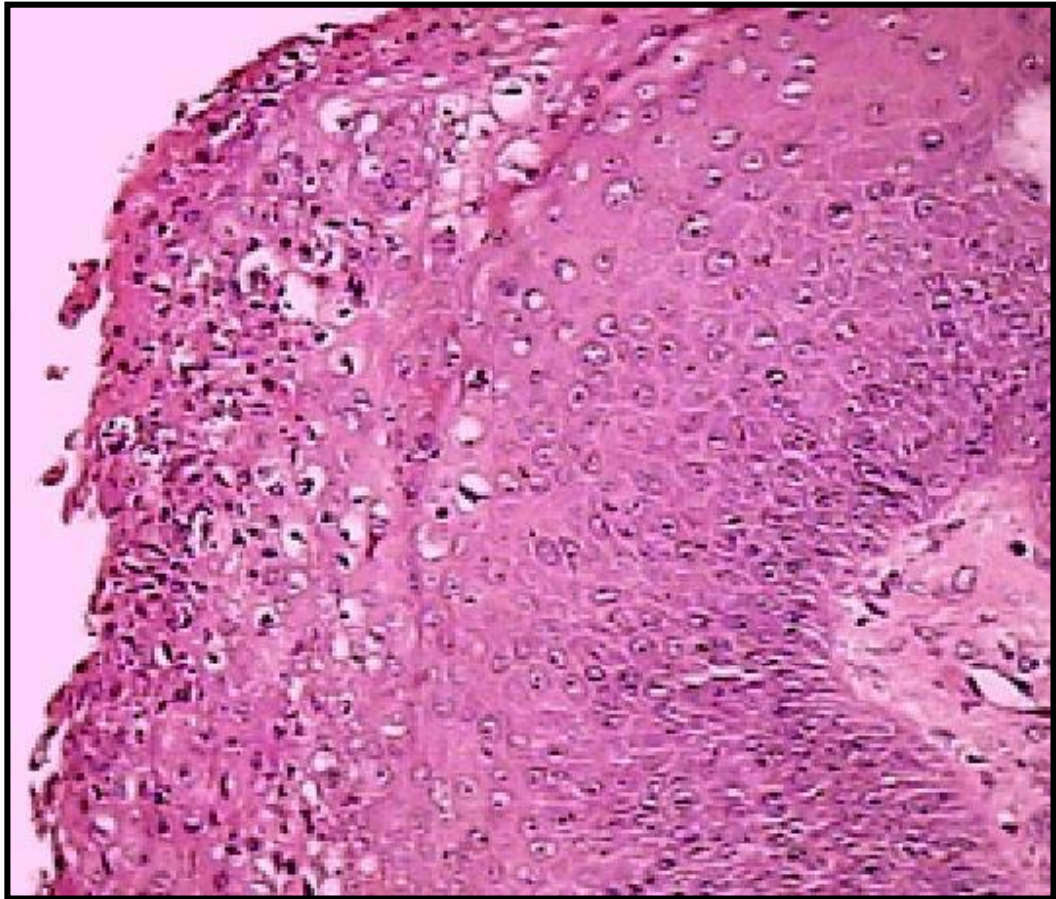
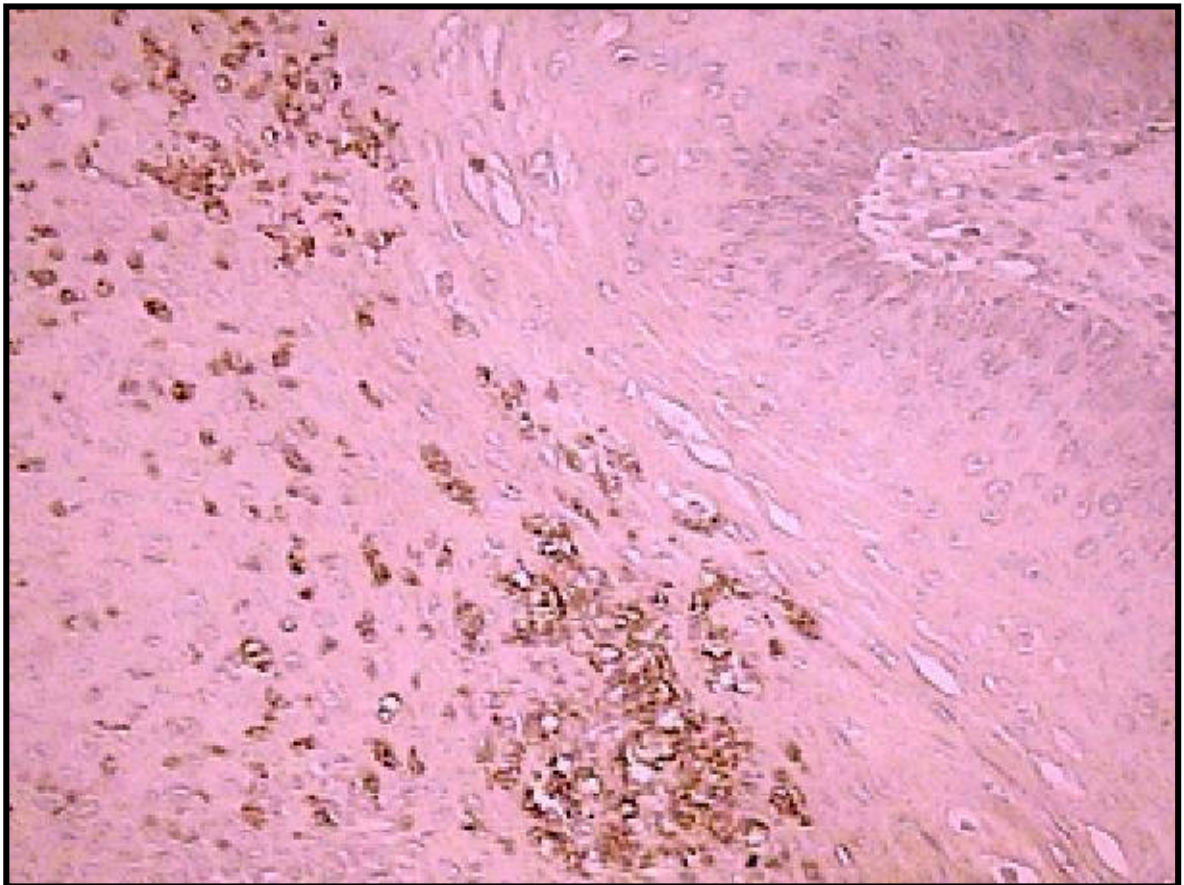


FIGURA 3 - D



Fotomicrografia de pele demonstrando a fraca expressão imunoistoquímica da proteína p53 e coilocitose nos estratos epiteliais superiores
(Imunoistoquímica proteína p53 – 400x)

FIGURA 3 - F

Fotomicrografia de pele demonstrando a fraca expressão imunoistoquímica da proteína p53 com marcações isoladas em estrato basal. (Imunoistoquímica proteína p53 – 400x)

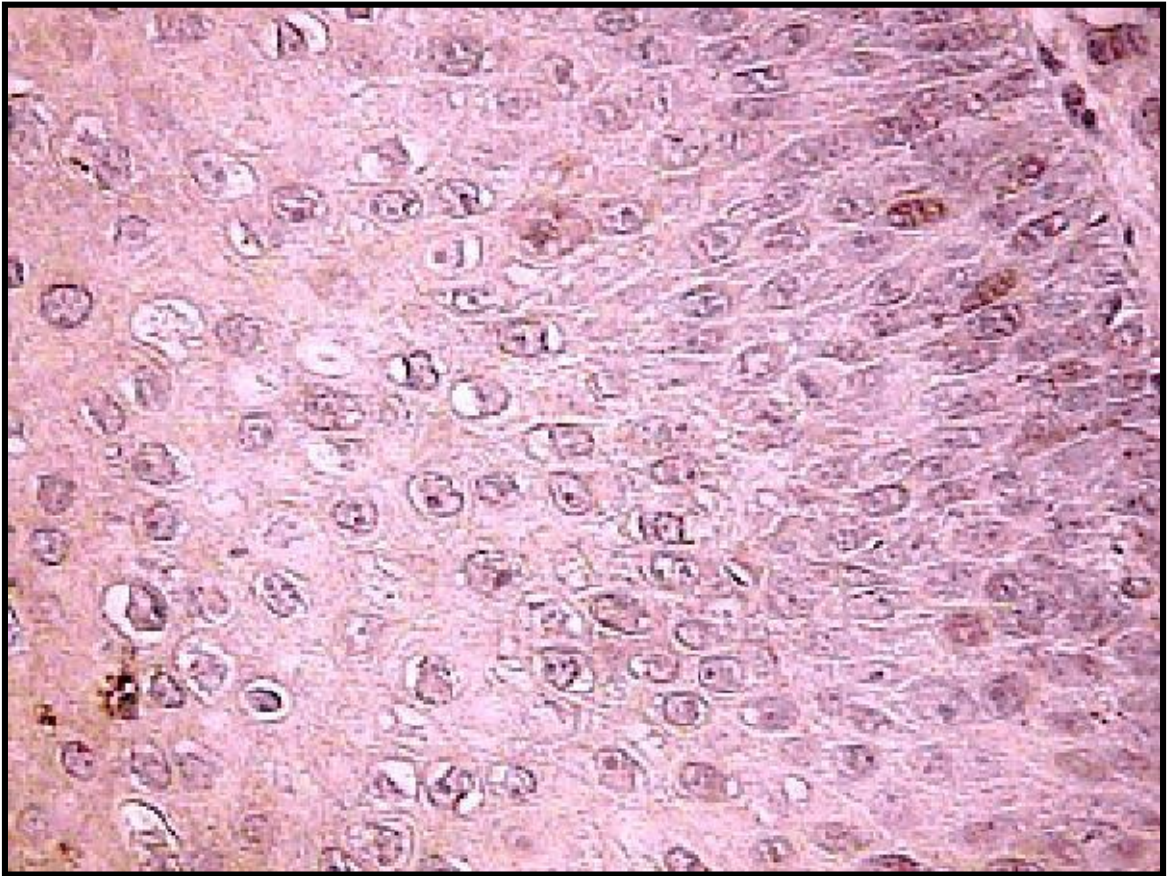
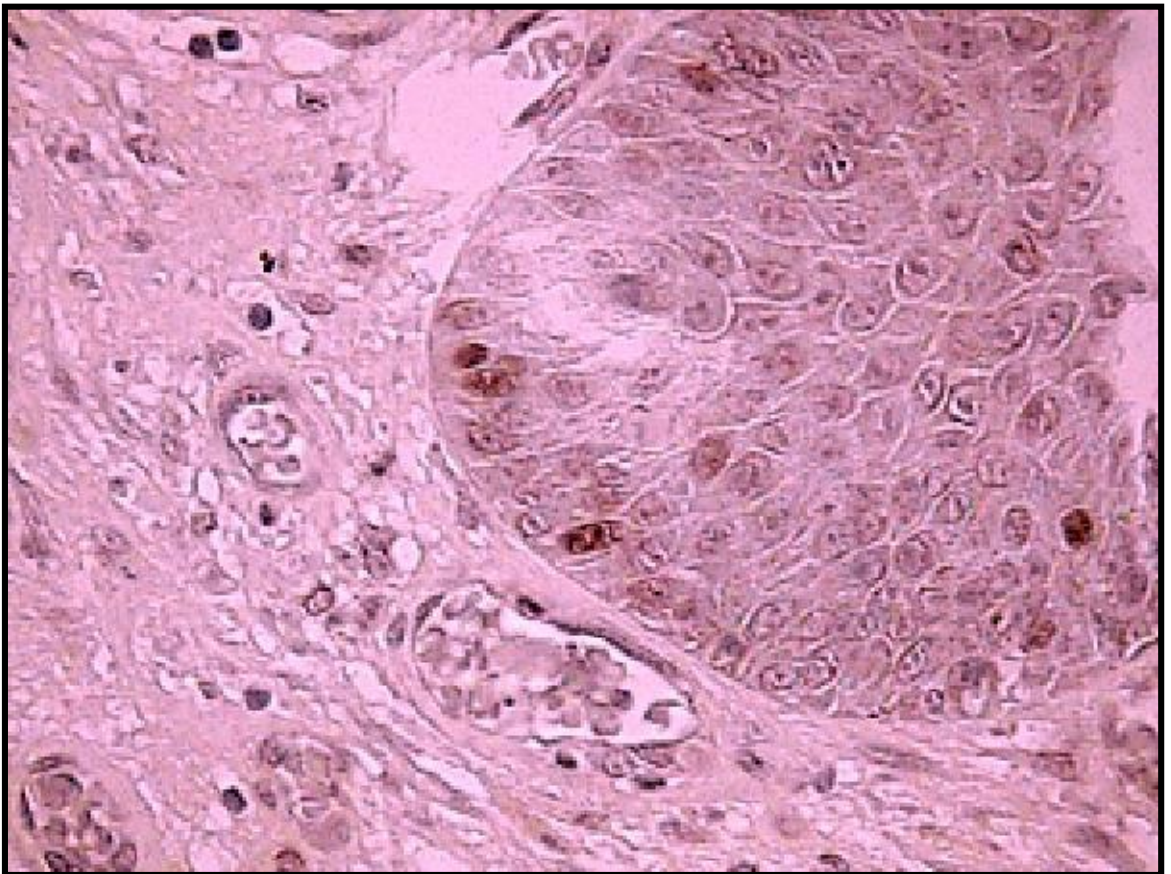


FIGURA 3 - F



Fotomicrografias de pele destacando a expressão imunoistoquímica da proteína p53 em algumas células isoladas no estrato basal. (Imunoistoquímica proteína p53

– 400x)

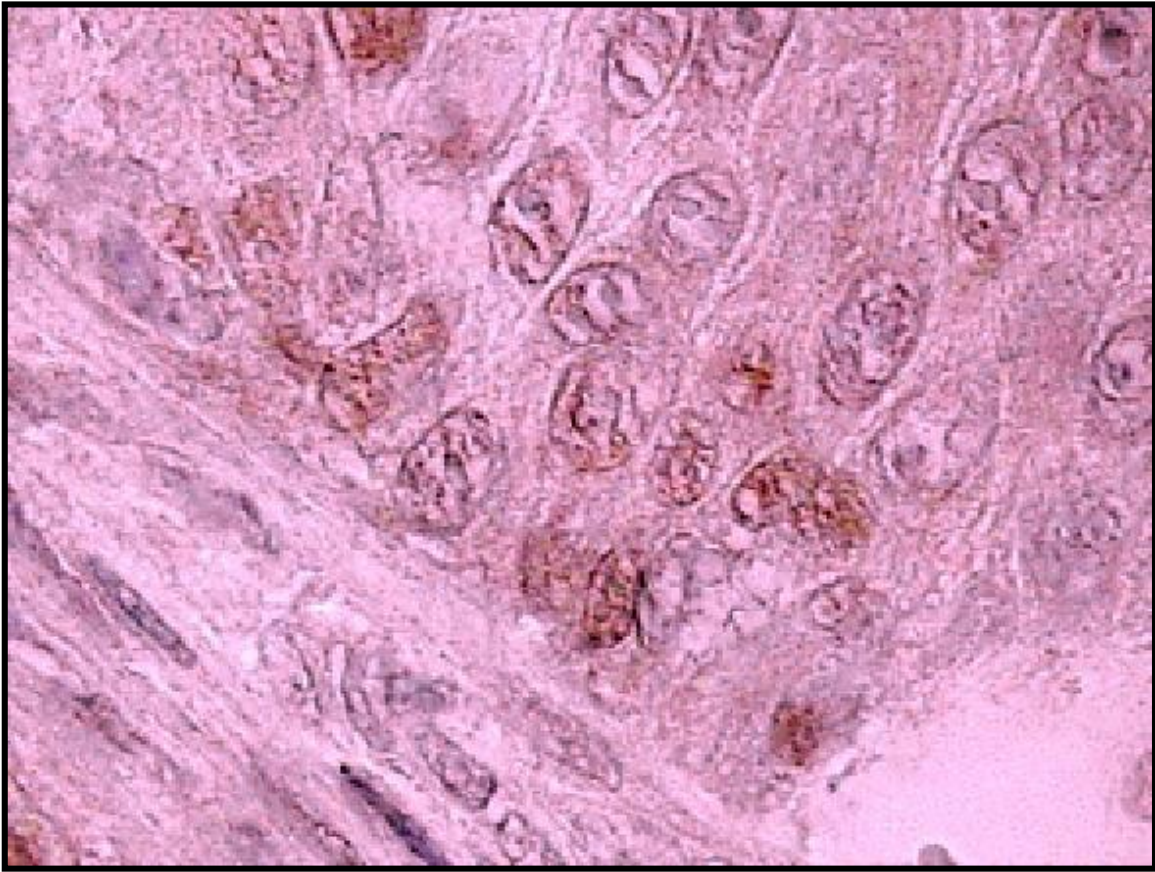
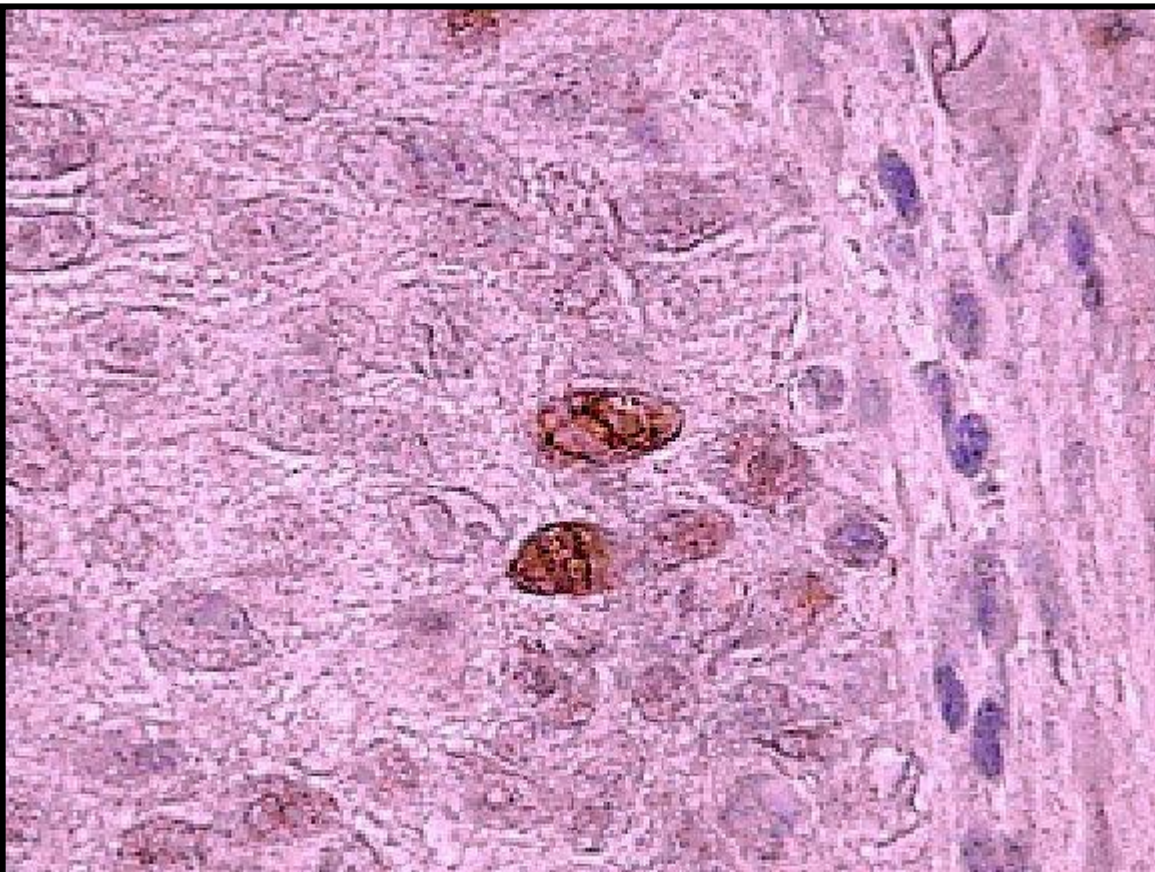


FIGURA 3 - H



FIGURAS 3 –G e H

Fotomicrografias de pele destacando a expressão imunohistoquímica da proteína p53 em algumas células isoladas no estrato basal.

(Imunohistoquímica proteína p53 –400x)

DISCUSSÃO

As alterações histopatológicas encontradas nas lesões condilomatosas ocorrem devido ao ciclo biológico do HPV. Geralmente, as células da camada basal não se encontram morfológicamente alteradas em lesões condilomatosas porque o HPV permanece com poucas cópias virais por célula, favorecendo a manutenção da infecção sem gerar alterações celulares significativas. Nos tecidos não infectados pelo HPV, as células interrompem seu ciclo celular ao deixarem a camada basal, o que proporciona a perda do núcleo nas camadas suprabasais. Nos casos das células infectadas, elas permanecem com o ciclo celular ativo, principalmente por ação da oncoproteína viral E7, e seguem nucleadas até as camadas mais superficiais do epitélio. Nas camadas suprabasais, observam-se alterações importantes como a coilocitose que representa a ação de grande quantidade de partículas virais. Os coilócitos são células epiteliais grandes, com núcleo pequeno ou grande, denso, irregular e com aspecto amarrotado. As organelas citoplasmáticas agregam-se na periferia da célula e o restante do citoplasma fica claro, formando um halo na região perinuclear. Alguns autores consideram o coilócito uma célula relativamente específica, mas pouco sensível como indicativo de infecção pelo HPV (Kumar *et al.*, 2005).

Apesar da presença do HPV em todas as camadas do epitélio, a imunistoquímica para HPV demonstra a presença de HPV apenas nos dois terços superiores do epitélio. A explicação deste resultado seria que o anticorpo utilizado é específico para o capsídeo viral. Como o capsídeo viral só é produzido nos queratinócitos mais diferenciados (mais superficiais), pelos genes tardios (L1 e L2), a marcação imunistoquímica não ocorre nas camadas epiteliais inferiores.

A marcação imunistoquímica da proteína p53 não é possível em sua forma natural, contudo, quando inativada pelas proteínas virais, principalmente pela proteína E6, torna-se identificável. Acreditava-se que apenas os papilomavírus de alto grau fossem capazes de inativar a proteína p53, porém se demonstrou que nas lesões de baixo grau também ocorre a ligação da proteína p53 à proteína viral E6, com conseqüente inativação desta. Uma explicação viável para a ausência do efeito oncogênico nos tipos de HPV de baixo risco, apesar da ação da E6, seria que, na verdade, a ação primária da proteína E6 no ciclo biológico viral não fosse gerar a imortalização ou a transformação oncogênica do queratinócito, mas sim a facilitação

da replicação viral. Por isso, alguns tipos virais conseguiriam seu objetivo primário sem a ação oncogênica (vírus de baixo risco) e outros não conseguiriam realizar tal objetivo sem a conseqüente ação oncogênica (vírus de alto risco). Trabalhos demonstram que as proteínas E6 se ligam a outras proteínas além da p53, contudo se observou que as E6 de alto risco se ligam a proteínas diferentes das E6 de baixo risco (Thomas & Banks, 1999; Degenhardt & Silverstein, 2001). A ação oncogênica dos tipos de alto risco não se deve apenas à ação de E6 e E7, mas a vários outros fatores que favorecem a alteração do genoma do queratinócito, pois, mesmo inativando a p53, os vírus de baixo risco não se incorporam ao genoma celular.

Sabe-se que mesmo o HPV de alto risco não é capaz de gerar lesões pré-cancerosas ou cancerosas sozinho. Ainda não se descobriu como os co-fatores agem, porém já se confirmou que alguns elementos associados ao HPV de alto risco aumentam o seu poder oncogênico. Estes elementos são representados principalmente pelo fumo, multiplicidade de parceiros sexuais, sexarca precoce, persistência da infecção e a presença de outras doenças sexualmente transmissíveis (Almeida Filho *et al.*, 2005). Contudo, estes fatores parecem não interferir na evolução dos HPV de baixo risco, ressaltando mais uma vez um eixo diferenciado no seu ciclo biológico.

É impossível afirmar se algum destes casos sofreria alteração oncogênica caso não fosse tratado, uma vez que podemos observar a manifestação histopatológica por um tipo viral; contudo, ao se realizar um estudo molecular, observamos a presença de HPV de alto risco que não se manifestou. As lesões de alto ou baixo grau não dependem exclusivamente do tipo viral, mas sim de um complexo mecanismo de agressão e defesa ainda não totalmente decifrado. Podem existir lesões de baixo grau causadas pelos tipos de alto risco e lesões de alto grau pelos tipos de baixo risco.

O paciente 1 apresentava uma lesão clinicamente pequena, histopatologicamente moderada, sem sinais de lesão de alto grau, contudo, com forte marcação para a proteína p53 em toda a extensão do epitélio, o que teoricamente sugeriria uma possível alteração no genoma celular.

O paciente 2 apresentava clinicamente lesões extensas, porém a histopatologia demonstrava alterações epiteliais leves. Já a imunistoquímica para a proteína p53 marcou em todo o epitélio, principalmente na camada basal, o que também pode ser considerado um indicador de provável alteração maligna posterior.

O paciente 3, apesar de ter demonstrado a maior lesão clínica, uma histopatologia com alterações, principalmente no terço superior, demonstrou uma marcação fraca para a proteína p53, o que poderia indicar uma baixa probabilidade de malignização. Por outro lado, apesar de fraca, a marcação acometia células isoladas na camada basal do epitélio, o que de uma forma antagônica à intensidade da marcação seria um indicador de maior probabilidade de malignização.

Nos três casos foram observados três pontos: a característica da lesão clínica, a alteração epitelial e a marcação imunoistoquímica da proteína p53.

A existência de uma lesão clínica é uma consequência direta das alterações epiteliais causadas pelo vírus. Porém, a dimensão desta não está diretamente relacionada com alterações epiteliais, já que se pode ter uma lesão vegetante muito extensa, com pequena alteração epitelial, ou uma lesão pouco extensa ou até subclínica, com alteração epitelial severa (lesão de alto grau). A intensidade da marcação imunoistoquímica da proteína p53 também não demonstrou relação direta com as características clínicas e histopatológicas das lesões.

A histopatologia confirma o diagnóstico de condiloma e gradua a severidade das lesões, no entanto, não identifica o tipo de HPV presente e não prediz, com certeza, seu comportamento biológico.

O HPV está presente em 100% dos condilomas acuminados de pênis, porém a presença do HPV no caso de carcinomas de pênis varia de 40% a 60% (Rubin *et al.*, 2001). Da mesma forma, imunoistoquimicamente, a expressão à proteína p53 é observada em apenas 20% a 40% dos casos de carcinomas de pênis (Martins *et al.*, 2002).

As diferentes formas de expressão da proteína p53 demonstram que o HPV se manifesta de forma específica em cada paciente e provavelmente a presença de co-fatores associada a deficiências imunológicas, crônicas ou transitórias, pode mudar o curso da infecção.

Existe a controversa questão imunológica do hospedeiro, que explicaria dois aspectos importantes: a manifestação do HPV de forma específica em cada indivíduo e a regressão espontânea das lesões, uma vez que cerca de 77% das lesões regredem em até 18 meses mesmo sem tratamento (31% das lesões regredem em até 6 meses de evolução, 35% em até 12 meses e 11% em até 18 meses) (Ho *et al.*, 1998). Uma vez que todos os pacientes foram tratados e não se realizou a

tipagem viral, não se pode afirmar como seria a evolução da doença em cada um dos pacientes, pois poderia ser para a cura ou para a malignização.

A conclusão deste trabalho é que a expressão da proteína p53 está presente nas infecções pelo HPV e não pode ser relacionada com a apresentação clínica da lesão nem com a alteração histopatológica epitelial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida Filho GL, Passos MRL, Val IC, Lopes PC. Papilomatose Genital (Condiloma acuminado). In: Passos MRL. Deesetologia, DST 5. 5ª Ed. Rio de Janeiro: Editora Cultura Médica; 2005. p.483-522.

Alves RRF, Teixeira TS, Netto JCA. Infecção pelo papilomavírus humano. Alterações Citológicas colposcópicas e histopatológicas em diferentes faixas etárias. DST. J bras Doenças Sex Transm 2003; 15(3):31-36.

Bacchi CE. Recuperação antigênica em imunohistoquímica. Jornal do anatomopatologista 1996;11(1):7-9.

Boon ME, Scheneider A, Cornelis JA, Hogewoning CJA, Van de Karst TH, Bolhuis P, Kok LP. Penile studies and heterosexual partners; peniscopy, cytology, histology and immunohistochemistry. Cancer 1988; 61:1652-1659.

Brescia RJ, Jenson AB, Lancaster WD, Kurman RJ. The role of papillomavirus in the pathogenesis and histologic classification of the pré-cancerous lesions of the cervix. Human Pathol 1996; 17:552.

Broker JR. Structure and genetic expression of papillomaviruses. Obstet Gynecol Clin North Am 1987;14:329.

Campion MJ. Clinical Manifestations and natural history of genital human papillomavirus infection. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1987;14:363.

Carestiato FN, Carvalho MOO, Ribeiro MO, Marinho M, Barbosa FM, Silva, LE, Dimetz T, Oliveira LH, Cavalcanti SMB. Estudo de infecções por papilomavírus humanos em pacientes do sexo feminino, detectados pela técnica de captura do híbrido: levantamento dos casos. *DST – J bras Doenças Sex Transm* 2002; 14(6):9-12.

Castellsagué X, Bosch FX, Munoz N. The male role in cervical cancer. *Salud Publica de México* 2001;45(s3):345-53.

Degenhardt YY, Silverstein S. Interaction of zyxin, a focal adhesion protein, with the E6 protein from human papillomavirus type 6 results in its nuclear translocation. *J Virol* 2001; 75(11):11791-11802.

Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, Freedberg IM, Austen KF. *Dermatology in General Medicine*. 5th ed. New York: McGraw-Hill; 2001.

Franceschi S, Castellsague X, Dal Maso L, Smith JS, Plummer M. prevalence and determinants of human papillomavirus genital infection in men. *Br J Cancer* 2002;86(5):705-11.

Frega A, Stentella P, Villani C, Di Ruzza D, Marcomim GL, Rota F, Boninfante M, Pachi A. Correlation between cervical intraepithelial neoplasia and human papillomavirus male infections; a longitudinal study. *Eur J Gynaecol Oncol* 1999;20(3):228-230.

Gross G. Lesions of the male and female external genitalia associated with human papillomaviruses 1987. In: Syrjanen KJ, Gissmann L, Koss L. *papillomaviruses and human diseases*. Heidelberg, Springer-Verlag.

Heley S. Human papillomavirus: beware the infection you can't see. *Aust Fam Physician* 2003; 32(5):311-5.

Ho L, Tay SK, Chan SY, Bernard HU. Sequence variants of human papillomavirus type 16 from couples suggested sexual transmission with low infectivity and polyclonality in genital neoplasia. *J Infect Dis* 1998;168:804-9.

Jin S, Levine AJ. The P53 functional circuit. *J Cell Science* 2001; 114: 4139-4140.

Kjaer SK, Van den Brule AJ, Paull G, Svare EI, Sherman ME, Thomsen BL, Suntum M, Bock JE, Poll PA, Meijer CJ. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ* 2002; 325(7364):572.

Kumar V, Abbas AK, Fausto N. *Robbins & Cotran Patologia*. 7^a Ed. Rio de Janeiro: Editora Elsevier; 2005.

Longworth MS, Laimins LA. Pathogenesis of human Papillomaviruses in differentiating epithelia. *Microbiol. Mol. Biol. Rev* 2004; 68(2):363-372

Martins AC, Faria SM, Cologna AJ, Suaid HJ, Tucci S. Immunoexpression of p53 protein and proliferating cell nuclear antigen in penile carcinoma. *J Urol* 2002; 167(1): 89-92

McMurray HR, Nguyen D, Westbrook TF, Mcance DJ. Biology of human papillomaviruses. *Int J Exp Path* 2001; 82:15-33.

Munger K. The role of human papillomaviruses in human cancers. *Front Biosci* 2002; 1(7): D641-9.

Nery JAC, Côrtes Junior JCS, Perissé ARS. Doenças Sexualmente Transmissíveis. In: Dinâmica das doenças infecciosas. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2005.

Oriel JD. Natural history of genital warts. Br J Vener Dis 1971; 47:1.

Park TW, Fujiwara H, Wright TC. Molecular Biology of Cervical Cancer and its precursors. Cancer 1995; 76:1902-13.

Pinheiro NA, Villa LL. Low frequency of p53 mutations in cervical carcinomas among brazilian women. Brazilian Journal of medical and Biological Research 2001; 34:727-33.

Pinto PA & Mellinger BC. HPV in the male patient. Urologic clinics of North América 1999; 26(4):797-807.

Polak JM & Van Noorden S 1997. Introduction to immunocytochemistry. 2nd ed. New York: Springer-Verlag: p141.

Rubin MA, Zhou M, Ayala G, Cubilla AL, Quint WG. Detection and typing of human papillomavirus DNA in penile carcinoma: evidence for multiple independent pathways of penile carcinogenesis. Am J Pathol 2001;159(4):1211-8.

Thomas M & Banks L. Human papillomavirus (HPV) E6 interactions with Bak are conserved amongst E6 proteins from high and low risk HPV types. J Gen Virol 1999; 80: 1513-17.

Tyring SK. Human papillomavirus infections: epidemiology, pathogenesis, and host immune response. J Am Acad Dermatol 2000; 43(1 pt 2):S18-26.

Wilson JD, Brown CB, Walker PP. Factors involved in clearance of genital warts. Int Journal of DST & AIDS 2001; 12:789-92.

Woodworth CD, Gaiotti D, Michael E, Hansen L, Nees M. Targeted disruption of the epidermal growth factor receptor inhibits development of papillomas and carcinomas from human papillomavirus immortalized keratinocytes. *Cancer Res* 2000; 60(16): 4397-402.

VI – CONSIDERAÇÕES FINAIS

- 1) A infecção pelo HPV é a doença sexualmente transmissível mais prevalente em todo o mundo.
- 2) A infecção pelo HPV deve ser abordada através de suas manifestações somáticas, epidemiológicas, sociais e psicológicas conjuntamente.
- 3) O ciclo biológico do HPV promove alterações na morfologia do epitélio infectado, podendo gerar lesões clínicas ou subclínicas. Estas lesões são conseqüências diretas da interferência viral no ciclo de diferenciação dos queratinócitos, que alteram sua forma e poder de multiplicação.
- 4) A acantose, a paraqueratose e a coilocitose foram as principais alterações epiteliais encontradas.
- 5) Os HPV de alto risco têm a capacidade de interferir no genoma da célula hospedeira, promovendo ação carcinogênica, principalmente à custa das proteínas virais E6 e E7, que atuam sobre as proteínas nucleares p53 e pRb da célula hospedeira, respectivamente.
- 6) A ação da proteína viral E6 sobre a proteína p53 impede a restauração do DNA ou a apoptose na célula infectada, imortalizando-a.
- 7) A expressão imunoistoquímica da proteína p53 foi demonstrada em lesões condilomatosas de pênis, contudo não se observou um padrão único de expressão. Houve expressão em todas as camadas do epitélio, principalmente nas camadas mais superficiais.
- 8) Não houve relação entre as manifestações clínicas, histopatológicas e a expressão imunoistoquímica da proteína p53.
- 9) A expressão da proteína p53 em lesões condilomatosas demonstra a relação da proteína E6 com a p53, porém de forma diferenciada, não promovendo a carcinogênese.
- 10) Será necessária uma amostra maior de pacientes para a avaliação da proteína p53 como valor prognóstico nas lesões condilomatosas de pênis.

11) VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

12)

13) Alberico S, Pinzano R, Comar M, Toffoletti F, Maso G, Ricci G. Transmisión materno-fetale del papilomavirus humano. *Minerva Ginecol* 1996; 48:199-204.

14)

15) Almeida JD, Oriol JD, Stannard LM. Characterization of the virus found in human genital warts. *Micróbios* 1969; 3:225.

16)

17) Almeida Filho GL, Passos MRL, Val IC, Lopes PC. Papilomatose Genital (Condiloma acuminado). In: Passos MRL. *Deesetologia, DST 5*. 5ª Ed. Rio de Janeiro: Editora Cultura Médica; 2005. p.483-522.

18)

19) Alves RRF, Teixeira TS, Netto JCA. Infecção pelo papilomavírus humano. Alterações Citológicas colposcópicas e histopatológicas em diferentes faixas etárias. *DST. J bras Doenças Sex Transm* 2003; 15(3):31-36.

20)

21) Arena S, Marconi M, Ubertosi M, Frega A, Arena G, Villani C. HPV and pregnancy: diagnostic methods, transmission and evolution. *Minerva Ginecol* 2002; 54:225-37.

22)

23) Bacchi CE. Recuperação antigênica em imunohistoquímica. *Jornal do anatomopatologista* 1996;11(1):7-9.

24)

25) Bafversted B. Condyloma acuminata – past and present. *Acta Derm. Venereol.* 1967; 47: 376.

26)

27) Barret TJ, Silbar JD, Mcgnley JP. Genital warts – a venereal disease. *JAMA* 1954;154:333.

28)

29) Baruah MC, Lal S, Selvaraju M, Veliath AJ. Perianal condyloma in male child. *Br J Vener Dis* 1984; 60:60.

30)

31) Becker TM, Stone KM, Alexander ER. Genital human papillomavirus infection. A growing concern. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1987; 14:389.

- 32) Bergeron C, Ferency A, Richard R. Underwear: contaminating human papillomaviruses. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162:25-29.
- 33) Bernstein SG, Voet RL, Guziek DS, Melancon JT, Romancowen L, Lifstiz S, Buscsbaum HT. Prevalence of papillomavirus infection in colposcopically directed cervical biopsy specimen in 1972 and 1982. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 151:577.
- 34)
- 35) Bleeker MC, Hogewoning CJ, Van Den Brule AJ, Voorhorst FJ, Van Andel RE, Risse EK. Penile lesions and human papillomavir in male sexual partners of women with cervical intraepithelial neoplasia. *J Am Acad Dermatol* 2002; 47(3): 351-7.
- 36)
- 37) Boon ME, Scheneider A, Cornelis JA, Hogewoning CJA, Van de Karst TH, Bolhuis P, Kok LP. Penile studies and heterosexual partners; peniscopy, citology, histology and immunohistochemistry. *Cancer* 1988; 61:1652-1659.
- 38)
- 39) Boshart M, Gissmann L, Ikenberg H, Kleinheinz A, Scheuerlen W, zur Hausen H. A new type of papillomavirus DNA, its present in genital cancer biopsies and in cell lines derived from cervical cancer. *Embo J* 1984; 3:1151.
- 40)
- 41) Brescia RJ, Jenson AB, Lancaster WD, Kurman RJ. The role of papillomavirus in the pathogenesis and histologic classification of the pré-cancerous lesions of the cervix. *Human Pathol* 1996; 17:552.
- 42)
- 43) Broker JR. Structure and genetic expression of papillomavirus. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1987; 14:329.
- 44)
- 45) Burd EM. Human Papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Ver* 2003; 16(1):1-17.
- 46)
- 47) Butler EB & Stranbridge CM. Lesões condilomatosas das vias genitais femininas inferiores. *Clin Obstet Gynecol* 1984; 11:179.
- 48)

- 49) Butterworth CE, Hatch KD, Macaluso M, Cole P, Sauberlich HE, Soong SJ, Borst M, Baker VV. Folate deficiency and cervical dysplasia. *JAMA* 1992;267:528-533.
- 50) Champion MJ. Clinical Manifestations and natural history of genital human papillomavirus infection. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1987;14:363.
- 51)
- 52) Carvalho HF & Recco-Pimentel SM. *A célula* 2001. São Paulo: Editora Manole; 2001. p242-45.
- 53)
- 54) Cason J, Kaye JN, Jewers RJ, Kambo PK, Bible JM, Kell B. Perinatal infection and persistence of human papillomavirus types 16 and 18 in infants. *J Méd Virol* 1995; 47:208-18
- 55)
- 56) Carestiato FN, Carvalho MOO, Ribeiro MO, Marinho M, Barbosa FM, Silva, LE, Dimetz T, Oliveira LH, Cavalcanti SMB. Estudo de infecções por papilomavírus humanos em pacientes do sexo feminino, detectados pela técnica de captura do híbrido: levantamento dos casos. *DST – J bras Doenças Sex Transm* 2002; 14(6):9-12.
- 57)
- 58) Castellsagué X, Bosch FX, Munoz N. The male role in cervical cancer. *Salud Publica de México* 2001;45(s3):345-53.
- 59)
- 60) Cavalcanti SM, Zardo LG, Passos MR, Oliveira LH. Epidemiological aspects of human papillomavirus infection and cervical cancer in Brazil. *J Infect* 2000; 40(1):80-7.
- 61)
- 62) CDC – Atlanta 2005. Disponível em: <http://www.cdc.gov/node.do/id/0900f3ec80009a98>
- 63)
- 64) Chuang T, Perry HO, Kurland LT, Ilustrup DM. Condyloma acuminatum in Rochester, 1950-1978. Epidemiology and clinical features. *Arch Dermatol* 1984; 120:469.
- 65)
- 66) Ciuffo G. Innesso positivo com filtrato di verruva volgare. *Gior Ital Mal VEM* 1907; 48:12.

- 67)
- 68) Cooper GM. *A Célula. Uma Abordagem Molecular*. 2ª Ed. Rio de Janeiro: Editora ArtMed; 2001.
- 69)
- 70) Cuzick J, Stavola BL, Russel MJ, Thomas BS. Vitamin A, vitamin E and the risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Br J cancer* 1990;62:651-652
- 71)
- 72) Degenhardt YY, Silverstein S. Interaction of zyxin, a focal adhesion protein, with the E6 protein from human papillomavirus type 6 results in its nuclear translocation. *J Virol* 2001; 75(11):11791-11802.
- 73)
- 74) Durst M, Gissmann L, Ikemberg H, zur Hausen H. A new type of papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsies from different geographic regions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80:3812.
- 75)
- 76) Feldman JG, Chirwin K, Dehovitz JA. The association of smoking and risk of condyloma acuminatum in women. *Obstet Gynecol* 1997; 89:346-50.
- 77)
- 78) Fife KH, Katz BP, Roush J, Handy VD, Brown DR, Hansell R. Gynecology: Cancer associated human papillomavirus types are selectively increased in the cervix of women in the first trimester of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 1487-93.
- 79)
- 80) Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, Freedberg IM, Austen KF. *Dermatology in General Medicine*. 5th ed. New York: McGraw-Hill; 2001.
- 81)
- 82) Franceschi S, Castellsague X, Dal Maso L, Smith JS, Plummer M. prevalence and determinants of human papillomavirus genital infection in men. *Br J Cancer* 2002;86(5):705-11.
- 83)
- 84) Frega A, Stentella P, Villani C, Di Ruzza D, Marcomim GL, Rota F, Boninfante M, Pachi A. Correlation between cervical intraepithelial neoplasia and human papillomavirus male infections; a longitudinal study. *Eur J Gynaecol Oncol* 1999;20(3):228-230.

- 85)
- 86) Frega A, Cenci M, Stentella P, Cipriano L, Ioris A, Alderisio M, Vecchione A. Human papillomavirus in virgins and behavior at risk. *Cancer Letters* 2003; 194:21-24.
- 87)
- 88) Garland SM. Human papillomavirus update with a particular focus on cervical disease. *Pathology* 2002;34:213-24
- 89) Gissmann L & zur Hausen H. Human papilloma viruses: physical mapping and genetic heterogeneity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976; 73:1310.
- 90)
- 91) _____. Partial characterization of viral DNA from human genital warts (condylomata acuminata) *Int J Cancer* 1980; 25:605.
- 92)
- 93) Gissmann L, Diehl V, Schultz-Coulon H, zur Hausen H. Molecular cloning and characterization of human papillomavirus DNA from a laryngeal papilloma. *J virol* 1983; 44:393.
- 94)
- 95) Goldschmidt H & Kligman MM. Experimental inoculation of humans with ectodermotropic viruses. *J Invest Derm* 1958; 31:175.
- 96)
- 97) Gollnick H, Barasso R, Jappe U, Ward K, Eul A, Carey-Yard M, Milde K. Safety and efficacy of Imiquimod 5% cream in the treatment of penile genital warts in uncircumcised men when applied three times weekly or once per day. *Int Journal of STD & AIDS* 2001; 12: 22-28.
- 98)
- 99) Gortney RL & Krembs MA. Vulvar condylomata acuminata complicating labor. *Obstet Gynecol* 1954; 4:67.
- 100)
- 101) Gross G. Lesions of the male and female external genitalia associated with human papillomaviruses. In: Syrjanen KJ, Gissmann L, Koss L. *papillomaviruses and human diseases*. Heidelberg: Springer-Verlag; 1987.
- 102)
- 103) Heley S. Human papillomavirus: beware the infection you can't see. *Aust Fam Physician* 2003; 32(5):311-5.
- 104)

- 105) Hippelainen MI, Hippelainen M, Saarikoski S. Clinical course and prognostic factors of human papillomavirus infections in men. *Sex Transm Dis* 1994; 21:272-9.
- 106)
- 107) Ho L, Tay SK, Chan SY, Bernard HU. Sequence variants of human papillomavirus type 16 from couples suggested sexual transmission with low infectivity and polyclonality in genital neoplasia. *J Infect Dis* 1993;168:804-9.
- 108)
- 109) Jacyntho CMA. Condiloma genital: importância do teste de azul de toluidina na avaliação masculina. Tese de Mestrado, UFRJ, Rio de Janeiro, 1989.
- 110)
- 111) Jenkis HML, Riley VC. A review of outpatient management of female genital warts. *Br J Clin Pract* 1980; 34:273.
- 112)
- 113) Jenson BA, Kurman RJ, Lancaster WD. Tissue effects of host response to human papillomavirus infection. In: Reid R. human papillomavirus. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1987; 14:397.
- 114)
- 115) Jesus LE, Cirne Neto OLL, Nascimento LMM, Araújo RC, Baptista AA. Anogenital warts in children: sexual abuse or unintentional contamination?. *Cad Saude Publica Rio de Janeiro* 2001; 17(6):1383-1391.
- 116)
- 117) Jin S, Levine AJ. The P53 functional circuit. *J Cell Science* 2001; 114: 4139-4140.
- 118)
- 119) Kaye JN, Cason J, Pakarian FB, Jewers RJ, Kell B, Bible J, Raju KS, Best JM. Viral Load as a determinant for transmission of human papillomavirus type 16 from mother to child. *Journal of Medical Virology* 1994; 44:415-21.
- 120)
- 121) Kemp EA, Hakenewerth AM, Laurent SL, Gravitt PE, Stoerker J. Human papillomavirus prevalence in pregnancy. *Obstet Gynecol* 1992;79(5(pt1)):649-56.
- 122)

- 123) Kim CJ, Um SJ, Kim TY, Kim EJ, Park TC, Kim SJ, Namkoong E, Park JS. Regulation of cell growth and HPV genes by exogenous estrogen in cervical cancer cells. *Int J Gynecol Cancer* 2000; 10 (2): 157-64.
- 124)
- 125) Kjaer SK, Van den Brule AJ, Paull G, Svare EI, Sherman ME, Thomsen BL, Suntum M, Bock JE, Poll PA, Meijer CJ. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ* 2002; 325(7364):572.
- 126)
- 127) Koromilas AE, Li S, Matlashewski G. Control of interferon signaling in human papillomavirus infection. *Cytokine Growth Factor* 2001; 12(2-3):157-70.
- 128)
- 129) Kumar V, Abbas AK, Fausto N. *Robbins & Cotran Patologia*. 7ª Ed. Rio de Janeiro: Editora Elsevier; 2005.
- 130)
- 131) Kurman RJ, Jenson AB, Lancaster WD. Papillomavirus infection of the cervix: 2. Relationship to intraepithelial neoplasia base don the presence of specific viral structural proteins. *Am J Surg Pathol* 1983; 7:39.
- 132)
- 133) Longworth MS, Laimins LA. Pathogenesis of human Papillomaviruses in differentiating epithelia. *Microbiol. Mol. Biol. Ver* 2004; 68(2):363-372
- 134)
- 135) Lorenzo F, Ho L, Terry G, Singer A, Santos LC, Lubambo T. *Int J Gynecol cancer* 2000;10(2):143-150.
- 136)
- 137) Martins AC, Faria SM, Cologna AJ, Suaid HJ, Tucci S. Immunoexpression of p53 protein and proliferating cell nuclear antigen in penile carcinoma. *J Urol* 2002; 167(1): 89-92.
- 138)
- 139) McCance DJ, Campion MJ, Baram A, Singer A. Risk of transmission of human papillomavirus by vagina specula. *Lancet* 1986;4:816.
- 140)
- 141) McMurray HR, Nguyen D, Westbrook TF, Mcance DJ. Biology of human papillomaviruses. *Int J Exp Path* 2001; 82:15-33.

- 142)
- 143) Meisels A & Fortin R. Condilomatous lesions of the cervix and vagina: I. Cytologic patterns. *Acta Cytol* 1976; 20:505.
- 144)
- 145) Meisels A, Fortin R, Roy M. Condylomatous lesions of the cervix. II. Citologic, colposcopic and histopathologic study. *Acta Citol* 1977; 21:379.
- 146)
- 147) Melkert PW, Hopman E, van den Brule AJ, Bleker OP. Prevalence of HPV in cytomorphologically normal cervical smears, as determined by the polymerase chain reaction, is age-dependent. *Int J Cancer* 1993;53(6):919-23.
- 148) Ministério da Saúde. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/area.cfm?id_area=966
- 149)
- 150) Munger K. The role of human papillomaviruses in human cancers. *Front Biosci* 2002; 1(7): D641-9.
- 151) Murta EFC, Souza MAH, Adad SJ, Araújo Junior E. Infecção pelo papilomavírus Humano em adolescentes: Relação com o método anticoncepcional, Gravidez, Fumo e achados citológicos. *RBGO* 2002; 23(4):217-221.
- 152)
- 153) Nauenburg S, Zwerschke W, Jansen-Durr P. Induction of apoptosis in cervical carcinoma cells by peptide aptamers that bind to the hpv-16 E7 oncoprotein. *FASEB J* 2001;15(3): 592-4.
- 154)
- 155) Nery JAC, Côrtes Junior JCS, Perissé ARS. Doenças Sexualmente Transmissíveis. In: *Dinâmica das doenças infecciosas*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2005.
- 156)
- 157) Nicolau SM. Correlação da peniscopia e da histopatologia no diagnóstico da infecção genital pelo papilomavírus humano. São Paulo 1997. [tese de doutorado-escola Paulista de Medicina].
- 158)
- 159) Obalek S, Jablonska S, Favre M, Walczac L, Orth G. Condylomata acuminata in children: frequent association with human papillomaviruses responsible for cutaneous warts. *J Am Acad Dermatol* 1990; 23:205-13.
- 160)

- 161) Oliveira LLH, Fernandez AAP, Xavier BL, Rodrigues EEV, Cavalcanti SM. Analysis of the p53 gene and papillomavirus detection in smears from cervical lesions. Sao Paulo Med J 2002; 120(1): 20-2.
- 162)
- 163) Organização Mundial de Saúde (OMS). Disponível em:
http://who.int/vaccine_research/diseases/viral_cancers/en/index3.html
- 164)
- 165) Oriol JD & Almeida JD. Demonstration of virus particles in human genital warts. Br J Vener Dis 1970; 46:37.
- 166)
- 167) Oriol JD. Natural history of genital warts. Br J Vener Dis 1971; 47:1.
- 168)
- 169) _____. Genital Warts. In: Holmes KK, Mardh P, Sparling PF, Wiesner PJ. Sexually Transmitted diseases. New York McGraw-Hill, 1984.
- 170)
- 171) Paget J. Notes of a clinical lecture of syphilitic disease of the rectum and colon. Méd Times and Gazethe 1865; 1:279.
- 172)
- 173) Parakian F, Kaye J, Cason J, Kell B, Jewers R, Derias NW. Cancer associated human papillomaviruses: perinatal transmission and persistence. Br J Obstet Gynaecol 1994; 101:514-7.
- 174)
- 175) Park TW, Fujiwara H, Wright TC. Molecular Biology of Cervical Cancer and its precursors. Cancer 1995; 76:1902-13.
- 176)
- 177) Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. CA Cancer J Clin 2005;55:74-108
- 178)
- 179) Passos MRL. HPV: que bicho é esse? 4ª ed. Piraí: Editora RQV;2006.
- 180)
- 181) Pinheiro NA, Villa LL. Low frequency of p53 mutations in cervical carcinomas among brazilian women. Brazilian Journal of medical and Biological Research 2001; 34:727-33.
- 182)
- 183) Pinto PA & Mellinger BC. HPV in the male patient. Urologic clinics of North América 1999; 26(4):797-807.
- 184)

- 185) Polak JM & Van Noorden S 1997. Introduction to immunocytochemistry. 2nd ed. New York: Springer-Verlag: p141.
- 186)
- 187) Purola E & Savia E. Cytology and gynaecologic condiloma acuminatum. Acta Citol 1977; 21:26.
- 188)
- 189) Rando RF, Lindhein S, Hasty L, Sedlacek TV, Woodland M, Eder C. increased frequency of detection of human papillomavirus deoxyribonucleic acid in exfoliated cervical cells during pregnancy. Am J Obstet Gynecol 1989; 161:50-5.
- 190)
- 191) Ravogli A. Condyloma acuminatum of the anal region in the male. J Amer Med Ass 1916; 67:109.
- 192)
- 193) Rowson KEK & Mahy BWJ. Human papova (wart) virus. Basteriol Ver 1967; 31:110.
- 194) Rubin MA, Zhou M, Ayala G, Cubilla AL, Quint WG. Detection and typing of human papillomavirus DNA in penile carcinoma: evidence for multiple independent pathways of penile carcinogenesis. Am J Pathol 2001;159(4):1211-8.
- 195)
- 196) Sánchez-Alemán MA, Uribe-Salas F, Conde-Gonzalez CJ. La infección por el virus del papiloma humano, um posible marcador biológico de comportamient sexual em estudantes universitários. Salud Publica Mex 2002; 44:442-47.
- 197)
- 198) Sanders GD & Taira AV. Cost effectiveness of a potential vaccine for human papillomavirus. Emerg Infect Dis 2003; 9(1):37-48.
- 199)
- 200) Savoca S, Nardo LG, Rosano TF, Dagosta S, Nardo F. CO2 laser vaporizatón as primary therapy for human papillomavirus lesions. Acta obstet Gynecol Scand 2002;80:1121-1124.
- 201)

- 202) Schofield CBS. Seasonal variations in the reported incidence of sexually transmitted disease in Scotland (1972-1976). *Br J vener Dis* 1979; 55:218.
- 203)
- 204) Sedlacek TU, Cunnane M, Capiniello V. Colposcopy in the diagnosis of penile condiloma. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 154:494.
- 205)
- 206) Southern, EM. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel eletrophoresis. *J Mol Biol* 1975; 98:503
- 207)
- 208) Shushen X, Lanqing L, Shengmin L, Shuyue R. Clinical Observation on vertical transmission of human papillomavirus. *Chin Méd Sci J* 1998; 13(1):29-31.
- 209)
- 210) Strauss MJ, Shaw EW, Bunting H, Melnick JL. Crystalline virus-like particles from skin papillomas characterized by intranuclear inclusion bodies. *Proceedings of the society for experimental Biology and Medicine* 1949; 72:46.
- 211)
- 212) Syrjanen KJ. Epidemiology of human papillomavirus. HPV infections and their associations with genital squamous cell cancer. *APMIS* 1989; 97:957.
- 213)
- 214) Tay SK, Ho TK, Lim-Tan SK. Is genital human papillomavirus infection always sexually transmitted? *Aust N Z J obstet Gynaecol* 1990; 30:3240-2.
- 215)
- 216) Tay SK. Genital Oncogenic Human Papillomavirus Infection: A Short review on the mode of Transmission. *Ann Acad Med Singapore* 1995; 24:598-601.
- 217)
- 218) Teokharov BA. Non-gonococcal infections of the female genitália. *Br J Vener Dis* 1969; 45:334.
- 219)
- 220) Thomas M & Banks L. Human papillomavirus (HPV) E6 interactions with Bak are conserved amongst E6 proteins from high and low risk HPV types. *J Gen Virol* 1999; 80: 1513-17.

- 221)
- 222) Tseng CJ, Liang CC, Soong YK, Pao CC. Perinatal transmission of human papillomavirus in infants: relationship between infection rate and mode of delivery. *J Gen Virol* 1996;77(Pt6):1139-43
- 223)
- 224) Tyring SK. Human papillomavirus infections: epidemiology, pathogenesis, and host immune response. *J Am Acad Dermatol* 2000; 43(1 pt 2):S18-26.
- 225)
- 226) Vecchia C, Franceschi S, Decarli A, Gentile A, Fasoli M, Pampallona S, Tognoni G. Dietary Vitamin A and the risk of invasive cervical cancer. *Int J Cancer* 1984;34:319-322.
- 227)
- 228) Vojtesek B, Bartek J, Midgley CA, Lane, DP. An immunochemical analysis of the human nuclear phosphoprotein p53. *J of Immunological methods* 1992; 151:237-44.
- 229)
- 230) Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network. *Nature* 2000; 408: 307-10.
- 231)
- 232) Watts HD, Koutsky LA, Holmes KK, Goldman D, Kuypers J, Kiviat NB. Low risk of perinatal transmission of human papillomavirus: results from a prospective cohort study. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178:365-73.
- 233)
- 234) Wilson JD, Brown CB, Walker PP. Factors involved in clearance of genital warts. *Int Journal of DST & AIDS* 2001; 12:789-92.
- 235)
- 236) Woodworth CD, Gaiotti D, Michael E, Hansen L, Nees M. Targeted disruption of the epidermal growth factor receptor inhibits development of papillomas and carcinomas from human papillomavirus immortalized keratinocytes. *Cancer Res* 2000; 60(16): 4397-402.
- 237)
- 238) Zhang XM, Sun GG, Yang Y, Zhang TH. Human papillomavirus and p53 protein immunoreactivity in condylomata acuminatum and squamous cell carcinoma of penis. *Asian J Androl* 2001; 3(1) :75-7.
- 239)

- 240) zur Hausen H, Meinhof W, Sreiber W, Bornkamn GW. Attempts to detect virus-specific sequences in human tumors. I. Nuclei acid hybridizations with complementary RNA of human wart virus. Int J Câncer 1974; 13:650.
- 241)
- 242) zur Hausen H. Condylomata acuminata and human genital cancer. Cancer Res 1976; 36:530.
- 243)
- 244) _____. Human papillomavirs and their possible rie in squamous cell carcinomas. Current topics. Microbiol Immunol 1977; 78:1.

VIII – ANEXOS

1. GLOSSÁRIO

2. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

GLOSSÁRIO

1. DNA – ácido desoxirribonucléico
2. DNA-HPV + - Presença de DNA do HPV em amostra coletada
3. HPV – Papilomavírus humano
4. kDa – quilodáton que corresponde a 1.000 vezes o peso da molécula de hidrogênio.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Comitê de Ética em Pesquisa

1- Identificação do responsável pela execução da pesquisa:

Título do Projeto: Estudo Imunoistoquímico da proteína p53 em lesão condilomatosa de pênis.
Coordenador do Projeto: João Carlos de Souza Côrtes Junior
Telefones de contato do Coordenador do Projeto: 21 - 9443 7411
Comitê de Ética em Pesquisa: Santa Casa da Misericórdia do Rio de Janeiro

2- Informações ao participante ou responsável:

1. Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa que tem como objetivo avaliar a alteração de uma proteína celular (p53) nas infecções pelo papilomavírus humano (HPV) no pênis.
2. Antes de aceitar participar da pesquisa, leia atentamente as explicações abaixo que informam sobre o procedimento:
 - a) Será retirado um fragmento da lesão causada pelo HPV após utilização de anestesia local;
 - b) O fragmento será encaminhado ao laboratório para confirmação do diagnóstico de infecção por HPV e para a identificação da proteína p53;
 - c) Após a retirada do fragmento, será realizado tratamento de acordo com o protocolo do serviço;
 - d) os resultados dos exames serão divulgados quando disponibilizados pelo laboratório.
3. Você poderá recusar a participar da pesquisa e poderá abandonar o procedimento em qualquer momento, sem nenhuma penalização ou prejuízo. Durante as consultas, você poderá recusar a responder qualquer pergunta que por ventura lhe cause algum constrangimento.
4. A sua participação como voluntário não auferirá nenhum privilégio, seja ele de caráter financeiro ou de qualquer natureza, podendo se retirar do projeto em qualquer momento sem prejuízo a V.Sa..
5. A sua participação não trará riscos a sua saúde.
6. Serão garantidos o sigilo e privacidade, sendo reservado ao participante o direito de omissão de sua identificação ou de dados que possam comprometer-lo.
7. Na apresentação dos resultados não serão citados os nomes dos participantes.

Confirmando ter conhecimento do conteúdo deste termo. A minha assinatura abaixo indica que concordo em participar desta pesquisa e por isso dou meu consentimento.

Rio de Janeiro, _____ de _____ de 20____.

Partecipante: _____

FIGURA 3 -H
FIGURA 3 -G

