

# Avaliação da redução da carga viral do papilomavírus humano por meio da captura híbrida após terapia fotodinâmica em lesões intraepiteliais cervicais alto grau

Marcella Pagnano Bocchi<sup>i</sup>, Cynthia Aparecida de Castro<sup>ii</sup>, Natália Mayumi Inada<sup>iii</sup>, Flávia Vicentin Silva<sup>iv</sup>, Gabriela Sperandio<sup>v</sup>, Giovana Lago Tavares<sup>vi</sup>, Natália Motta Corvello<sup>vii</sup>, Vanderlei Salvador Bagnato<sup>viii</sup>, Wellington Lombardi<sup>ix</sup>

Ambulatório Saúde da Mulher de Araraquara, Araraquara (SP), Brasil

## RESUMO

**Contexto e objetivo:** No mundo, aproximadamente 20 milhões de mulheres encontram-se infectadas pelo papilomavírus humano (HPV). Esta infecção pode ser assintomática ou causar papilomas verrucosos benignos, neoplasias intraepiteliais cervicais (NICs) de baixo ou alto grau, carcinoma cervical, vaginal e anal. Os tratamentos atuais para as NICs ainda são muito invasivos e destrutivos. Sendo assim, existe a necessidade do desenvolvimento de modalidades menos agressivas. A terapia fotodinâmica (TFD) atende a esses pedidos, induzindo a morte seletiva de células infectadas pelo vírus. Este artigo tem o objetivo de analisar a redução da carga viral de HPV em pacientes com lesões intraepiteliais cervicais de alto grau (LIEAG) antes e após a TFD. **Métodos:** Foram incluídas 28 pacientes portadoras de NICs de alto grau que realizaram tratamento com 2,5 g de creme contendo o pró-fármaco ácido 5-metil aminolevulínico (MAL) a 20%, por aproximadamente 10 horas, com posterior aplicação da luz de LED com comprimento de onda de 630 nm e irradiância de 120 mW/cm<sup>2</sup>, por 25 minutos, entregando uma dose total de 180 J/cm<sup>2</sup>, em duas sessões. As pacientes foram avaliadas por meio de captura híbrida antes e após a TFD. **Resultados:** Após análise criteriosa, observou-se redução significativa da carga viral dos HPVs de alta oncogenicidade após a TFD (P = 0,0334) nas pacientes com LIEAG. O mesmo não foi observado em relação aos HPVs de baixo grau oncogênico (P = 0,4038). **Conclusão:** A TFD parece ser eficaz e promissora na diminuição da carga viral em pacientes com LIEAG induzidos por subtipos de HPV de alto grau oncogênico.

**PALAVRAS-CHAVE:** Infecção por papilomavírus, fotoquimioterapia, neoplasia intraepitelial cervical, lesões intraepiteliais escamosas, ácido aminolevulínico

<sup>i</sup>Acadêmicas do Curso de Medicina da Faculdade de Medicina de Araraquara (UNIARA), Araraquara (SP), Brasil.

<sup>ii</sup>Pós-doutoranda do Departamento de Morfologia e Patologia, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos (SP), Brasil.

<sup>iii</sup>Pesquisadora do Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo (USP), São Carlos (SP), Brasil.

<sup>iv</sup>Residente do Programa de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Araraquara (UNIARA), Araraquara (SP), Brasil.

<sup>v</sup>Professor, Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo (USP), São Carlos (SP), Brasil.

<sup>vi</sup>Professor Doutor do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Araraquara (UNIARA), Araraquara (SP), Brasil.

Endereço para correspondência:

**Marcella Pagnano Bocchi**

Av. Osorio, 184 — Centro — Araraquara (SP) — Brasil — CEP 14801-308

Tel. (16) 98116-1338 e (16) 3331-3384 — E-mail: marcellapbocchi@gmail.com

Fonte de fomento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Centro de Pesquisa em Óptica e Fotônica, CEPOF 2013/07276-1 e Financiadora de Estudos e Projetos/Ministério da Saúde (FINEP/MS) (01.130430.00). Conflito de interesse: nenhum.

Entrada: 29 de dezembro de 2020. Última modificação: 15 de março de 2021. Aceite: 25 de março de 2021.

## INTRODUÇÃO

O papilomavírus humano (HPV) é o vírus mais transmitido pela via sexual e estima-se que cerca de 75% das mulheres e homens irão adquiri-lo em algum momento da sua vida.<sup>1</sup> Em todo o mundo, aproximadamente 20 milhões de mulheres encontram-se infectadas pelo HPV, o qual encontra-se presente em cerca de 90% dos casos de carcinomas cervicais, logo, o principal fator de risco para a doença.<sup>1</sup>

A infecção pode ser assintomática ou sintomática, cursando com papilomas benignos, neoplasias intraepiteliais cervicais ou câncer de colo de útero, vulva, vagina, ânus, entre outros.<sup>2</sup> A diversidade de afecções ocorre devido ao genótipo e carga viral, variante molecular, além de variações interper-soais do sistema imune.<sup>2</sup>

As cepas de HPV são classificadas quanto a sua capacidade de desenvolvimento neoplásico, podendo ser de alto ou baixo risco (**Tabela 1**).<sup>3</sup> A carcinogênese está relacionada, principalmente, à interação das oncoproteínas E6 e E7 com proteínas p53 intracelulares e supressores pRB, resultando em inativação destas proteínas reguladoras e contribuindo para o processo de carcinogênese.<sup>4</sup>

O câncer de colo de útero acomete principalmente mulheres de baixo nível socioeconômico e baixa escolaridade, sendo um problema de saúde pública em países pouco desenvolvidos como o Brasil.<sup>3,5</sup> Este fato explica informações publicadas pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA), segundo o qual o câncer de colo de útero seria o terceiro tumor mais frequente na população feminina e a quarta causa de morte de brasileiras por câncer.<sup>6</sup>

As neoplasias intraepiteliais cervicais caracterizam-se pelo crescimento anormal de células do epitélio escamoso na superfície do colo do útero, o qual pode sofrer transformações potencialmente malignas.<sup>4</sup> Elas podem ser classificadas de acordo com o grau de displasia e de maturação celular contidas na espessura do epitélio cervical, desde a superfície até a membrana basal, na profundidade.<sup>7</sup> Atualmente, a classificação mais utilizada é a incorporada pelo sistema Bethesda de 2001, conforme a **Tabela 2**.<sup>8</sup>

Hoje, os procedimentos para tratamento são considerados invasivos e podem ser divididos em dois grupos básicos: destrutivos (diatermocoagulação, criodestruição e vaporização a laser) e excisionais (conização clássica, excisão por laser ou cirurgia de alta frequência (CAF/EZT)).<sup>4</sup>

Sabe-se que estes procedimentos podem acarretar uma série de efeitos adversos devido, principalmente, à grande destruição e/ou retirada do estroma cervical, tais como: hemorragia, trauma dos tecidos subjacentes e estenose do canal cervical.<sup>4</sup> Esses danos levam à incompetência do colo, infertilidade e podem comprometer o futuro obstétrico da mulher.<sup>8</sup>

A terapia fotodinâmica mediada por porfirina é uma técnica que vem mostrando bons resultados para patologias cervicais, sendo altamente específica para células malignas e, portanto, menos invasiva.<sup>9</sup>

Trata-se de uma técnica que envolve reações fotoquímicas que levarão à destruição seletiva de células anormais. Esse processo é dependente de três componentes – o fotossensibilizador, uma fonte de luz e uma fonte molecular – e é constituído, basicamente, de duas etapas: primeiramente, utiliza-se uma substância sensibilizante, tópica ou sistêmica e, em seguida, aplica-se uma luz com comprimento de onda específico para a fotoativação do fotossensibilizador. A excitação por meio de entrega de fótons pela fonte luminosa ao composto químico promove mudanças nos estados energéticos e eletrônicos desta molécula, levando-a a estados de excitação pouco estáveis. Ao retornar para os estados de menor energia, porém mais estáveis, os compostos excitados transferem energia e/ou elétrons aos substratos presentes no meio onde se encontram e para o oxigênio molecular, gerando diversas espécies reativas de oxigênio – mecanismo do tipo I – ou o oxigênio singleto – mecanismo do tipo II. São essas substâncias altamente reativas e tóxicas aos sistemas biológicos que irão induzir a morte celular por necrose e/ou apoptose, basicamente.<sup>10</sup>

O fotossensibilizador deve ter capacidade de localização específica do tecido maligno, ativação por comprimentos de onda específicos com ótima penetração no tecido neoplásico e produzir grande quantidade de produtos citotóxicos. No caso, foi utilizado para o tratamento do HPV o ácido aminolevulínico ou o ácido 5-metil aminolevulínico.<sup>10,11</sup>

No decurso da libertação da célula, o HPV é revestido por uma membrana da célula hospedeira, a qual apresenta propriedades de ligação à porfirina. Assim, o complexo viral funciona como um alvo para pró-fármacos como o ácido aminolevulínico

**Tabela 1.** Cepas do papilomavírus humano (HPV) de acordo com risco oncogênico

Cepas HPV baixo risco	6, 11, 42, 43 e 44
Cepas HPV alto risco	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68

Adaptado de Maldonado Alvarado e cols.<sup>3</sup>

**Tabela 2.** Classificação das lesões intraepiteliais

Lesões intraepiteliais de baixo grau	- Infecção por HPV - NIC 1
Lesões intraepiteliais de alto grau	- NIC II - NIC III

HPV = papilomavírus humano; NIC = neoplasia intraepitelial cervical. Adaptado de Hillemanns e cols.<sup>8</sup>

e o ácido 5-metil aminolevulínico. Estudos relataram que as células infectadas por vírus têm maior capacidade de sintetizar protoporfirina IX (PpIX) a partir de substâncias precursoras, sendo seletivamente mortas pela luz irradiada.<sup>8</sup>

Uma forma de identificar a presença do vírus HPV em pacientes, mesmo assintomáticas, e monitorar a persistência da infecção durante e após o tratamento, é por meio de técnicas de biologia molecular. As mais utilizadas são a captura híbrida e a reação em cadeia da polimerase (PCR), visto que são técnicas simples e de baixo custo.<sup>8</sup>

A PCR é capaz de detectar níveis muito baixos de carga viral em tecidos e até mesmo em células. Já a captura híbrida, avalia além da carga viral, os tipos de HPVs encontrados (baixo e alto risco oncogênicos), tornando possível a identificação do tipo mais frequente. Esta se baseia na hibridização do DNA, utilizando sondas específicas para HPV de alto e baixo risco. Apresenta alta sensibilidade, de 95% a 97%, além da vantagem de lidar apenas com reagentes não radioativos. A captura híbrida é aplicada através de uma solução hibridizadora que utiliza anticorpos na captura dos híbridos, moléculas de DNA de fita dupla na qual uma das fitas é de origem viral e a outra é a sonda RNA-HPV. Os híbridos RNA/DNA são capturados sobre a superfície da microplaca sensibilizada com anticorpos específicos. As sondas não reagentes são lavadas e a detecção da reação é feita por meio de adição de substrato quimioluminescente da fosfatase alcalina. A consequente emissão de luz é que confirma a presença da infecção pelo HPV.<sup>8,12</sup>

Com todo cenário discutido acima, existia uma carência de tratamentos alternativos aos tradicionais, visando diminuir os efeitos colaterais e melhorar a qualidade de vida da paciente. Estudos recentes confirmaram a eficácia dessa terapia em pacientes portadoras de neoplasia intraepitelial cervical grau I (NIC I), podendo ser promissora para o tratamento de lesões intraepiteliais cervicais de alto grau (NIC II e NIC III), bem como para a diminuição da carga viral de HPV.<sup>8</sup> Nesse contexto, buscamos na terapia fotodinâmica a destruição seletiva das células malignas, evitando a remoção do estroma cervical saudável e, consequentemente, os efeitos colaterais do procedimento convencional.

## OBJETIVOS

Avaliar a carga viral nas lesões intraepiteliais cervicais de alto grau antes e após o tratamento com a terapia fotodinâmica.

## MÉTODOS

A terapia fotodinâmica foi realizada com o aparelho CerCa 150System (MMOptics, LTDA., São Carlos (SP), Brasil). Utilizou-se, por meio de um protocolo de estudo, intitulado “Terapia

Fotodinâmica no Diagnóstico e Tratamento da Neoplasia Intraepitelial Cervical”, aplicado no Ambulatório de Saúde da Mulher de Araraquara (SP).<sup>13</sup> Este trabalho foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade de Araraquara – UNIARA, sob o registro CAAE: 90629218.8.0000.5383 e aprovado em 28 de agosto de 2019.

Foram selecionadas 30 pacientes atendidas no Ambulatório Saúde da Mulher que atendiam aos critérios descritos na **Tabela 3**.

Para a participação na pesquisa, as pacientes selecionadas assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Os dados foram obtidos a partir da análise dos prontuários das pacientes já submetidas à coleta de material para a captura híbrida, terapia fotodinâmica e conização.

As pacientes receberam 2 sessões/irradiações de TFD, com intervalo de 7 dias entre as sessões, sendo que antes da primeira sessão foi realizada a coleta de material para captura híbrida (Pré-TFD). Após 60 dias da primeira sessão, as pacientes foram submetidas a nova coleta de captura híbrida (Pós-TFD), seguida de conização, no mesmo dia.

Para cada uma das sessões de TFD, as pacientes receberam uma bisnaga com 2,5 g do creme contendo o pró-fármaco ácido 5-metil aminolevulínico (PDTPharma EPP, Cravinhos-SP, Brasil) 20% (p/p) e aplicaram via vaginal na noite anterior ao procedimento, contabilizando aproximadamente de 8 a 10 horas de ação do fármaco. Após o tempo de contato da mucosa uterina com o pró-fármaco, a irradiação foi realizada por meio de uma ponteira anatômica contendo diodo emissor de luz (LEDs) em comprimento de 630 nm, irradiância de 120 mW/cm<sup>2</sup>, por 25 minutos, entregando uma dose total de 180 J/cm/cm<sup>2</sup>.<sup>9,11</sup>

Em todas as LIEAG (lesões intraepiteliais de alto grau) testou-se, primeiramente, a dependência entre o comportamento das cepas de baixo e alto risco diante da diminuição ou não dos valores de carga viral pré e pós-terapia fotodinâmica, utilizando o teste do qui-quadrado.

Como observamos a independência das variáveis, realizamos, posteriormente, os testes T-Student separadamente

**Tabela 3.** Critérios de inclusão e exclusão

<b>Critérios de inclusão</b>	Diagnóstico confirmado de LIEAG (NIC II e/ou NIC III), por citologia oncológica prévia e biópsia dirigida por colposcopia.
<b>Critérios de exclusão</b>	Grávidas e/ou menores de 18 anos de idade.
Duas pacientes precisaram ser excluídas do estudo:	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Paciente 4: não retornou ao Serviço de Saúde;</li> <li>• Paciente 30: erro laboratorial – realizada a técnica de PCR ao invés da Captura Híbrida.</li> </ul>	

LIEAG = lesão intraepitelial de alto grau; NIC = neoplasia intraepitelial cervical.

para alto e baixo grau, considerando  $\alpha$  de 5% (0,05) e a hipótese de nulidade de que após o tratamento a carga viral seria igual à carga pré-terapia fotodinâmica. Com este teste, avaliamos se realmente a redução da carga viral do HPV após a terapia fotodinâmica teve significância estatística ou não.

## RESULTADOS

Na **Tabela 4** estão demonstrados os valores referentes à carga viral, antes e após 60 dias da terapia fotodinâmica, bem como a separação do risco oncogênico das cepas do vírus HPV.

As **Figuras 1 e 2** mostram um comparativo entre antes e depois da terapia fotodinâmica, conforme as cepas de baixo e alto risco, respectivamente.

Na primeira avaliação, procuramos determinar a dependência ou independência no comportamento das cepas do HPV de alto e baixo risco quando submetidos à terapia fotodinâmica. Com base na avaliação do teste qui-quadrado, observamos que a resposta das cepas de alto risco foi independente das cepas de baixo risco, visto que o teste obteve o resultado de 0,076 (**Tabela 5**).

Determinada a independência das cepas virais de alto e baixo riscos, aplicamos o teste T-Student de forma separada, por apresentarem comportamentos distintos. Utilizando  $\alpha$  de 5% (0,05) obteve-se que deve ser considerada a hipótese H1 de que após o tratamento com a terapia fotodinâmica a carga viral seria menor do que a inicial, mostrando a eficácia do tratamento.

No Teste T, optou-se pelo teste unilateral (P) devido à abordagem de um tratamento novo, sendo relevante apenas apresentar diminuição da carga viral.

Para o teste unilateral das cepas de HPV de baixo risco, obteve-se  $P = 0,4038$ , com média antes do tratamento de 3,4164 e média após o tratamento de 3,8204. Assim, observamos a inexistência de significância para a terapia fotodinâmica quanto à redução da carga viral das cepas de HPV de baixo risco oncogênico.

Para o teste unilateral das cepas de alto risco obteve-se o valor de  $P = 0,0334$ , com média da carga viral pré-terapia fotodinâmica de 317,0261 e a média da carga viral pós-terapia fotodinâmica de 192,6321. Com base nesses valores, podemos observar significância na diminuição da carga viral após a realização da terapia fotodinâmica para pacientes portadoras de cepas de alto risco do HPV, mostrando ser um tratamento eficaz (**Tabela 6**).

## DISCUSSÃO

A terapia fotodinâmica teve origem no início do século XX, em Munique, e clinicamente foi usada, inicialmente, na

dermatologia.<sup>10</sup> Atualmente, sua aplicação tem sido ampliada para diversas áreas clínicas. Sua utilização em patologias cervicais (lesões intraepiteliais de baixo grau e de alto grau) é uma modalidade nova e pouco estudada.<sup>11</sup>

Com relação aos nossos resultados preliminares, observamos que a terapia fotodinâmica se mostrou eficaz para a diminuição da carga viral das cepas de HPV de alto risco, valor de P estatisticamente significativo. Já para as cepas de HPV de baixo risco, apesar da redução da carga viral, o resultado não se mostrou estatisticamente significativo.

**Tabela 4.** Total de pacientes e valores da captura híbrida antes e após a TFD, conforme o tipo da cepa

Pacientes	HPV baixo risco		HPV alto risco	
	Pré-TFD	Pós-TFD	Pré-TFD	Pós-TFD
1	3,32	21,12	584,54	21,12
2	0,14	0,11	1819,23	0,11
3	0,14	0,14	0,26	0,14
4	*	*	*	*
5	1,51	13,17	0,24	13,7
6	0,17	0,19	704,14	0,19
7	0,14	0,2	362,38	0,2
8	0,4	0,16	12,55	0,16
9	0,31	0,16	359,75	0,16
10	0,19	0,18	448,33	0,18
11	0,11	0,2	136,58	0,2
12	0,12	0,1	39,96	0,1
13	0,13	0,12	0,45	0,12
14	80,16	45,54	15,1	45,54
15	0,16	0,16	914,53	0,16
16	0,27	0,78	0,9	0,78
17	0,19	0,09	2,68	0,09
18	0,19	0,17	90,92	0,17
19	0,16	0,31	760,69	0,31
20	0,2	0,19	44,87	0,19
21	0,36	19,93	30,77	19,93
22	2,54	2,35	169,52	2,35
23	0,19	0,32	0,96	0,32
24	0,21	0,15	40,79	0,15
25	0,29	0,15	48,66	0,15
26	0,32	0,14	698,47	0,14
27	0,74	0,22	1362,81	0,22
28	0,12	0,49	152,81	0,49
29	2,88	0,13	73,84	0,13
30	**	**	**	**

HPV = papilomavírus humano; TFD = terapia fotodinâmica.

\*Paciente 4: não retornou ao Serviço de Saúde; \*\*Paciente 30: erro laboratorial – realizada a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) ao invés da captura híbrida.

Em um estudo publicado por Hu e cols. em 2018, foram avaliados 41 pacientes e a coinfeção de cepas de alto e baixo riscos de HPV mostraram-se as mais prevalentes que a infecção por um único tipo de cepa.<sup>14</sup> Ainda, após seis sessões de TFD, os resultados foram mais satisfatórios sobre a diminuição da carga viral nos pacientes com infecções isoladas do que coinfectados.<sup>14</sup> Ainda que os resultados do trabalho mostraram um melhor prognóstico para aqueles pacientes sem a coinfeção,<sup>14</sup> podemos perceber, por meio desse novo estudo, que o comportamento da cepa de alto risco independe do comportamento da cepa de baixo risco na resposta à TFD. Isso se torna mais um ponto positivo para o tratamento da

cepas de alto risco e lesões intraepiteliais de alto grau, já que a presença das cepas de baixo grau não alteram o bom desfecho de tratamento para a diminuição das cepas de alto risco.

Assim, avaliando essa independência de comportamento entre as cepas, a co-infecção não se torna um fator limitante à TFD. Mais importante que isso, pudemos perceber que 86,66% (26/28) das pacientes no estudo com presença de HPV alto risco apresentaram uma redução significativa da carga viral.

Outro ponto importante a salientar foi que nos estudos de Hu e cols. foram necessárias seis sessões de TFD para atingir um efeito significativo,<sup>14</sup> enquanto que em nosso trabalho

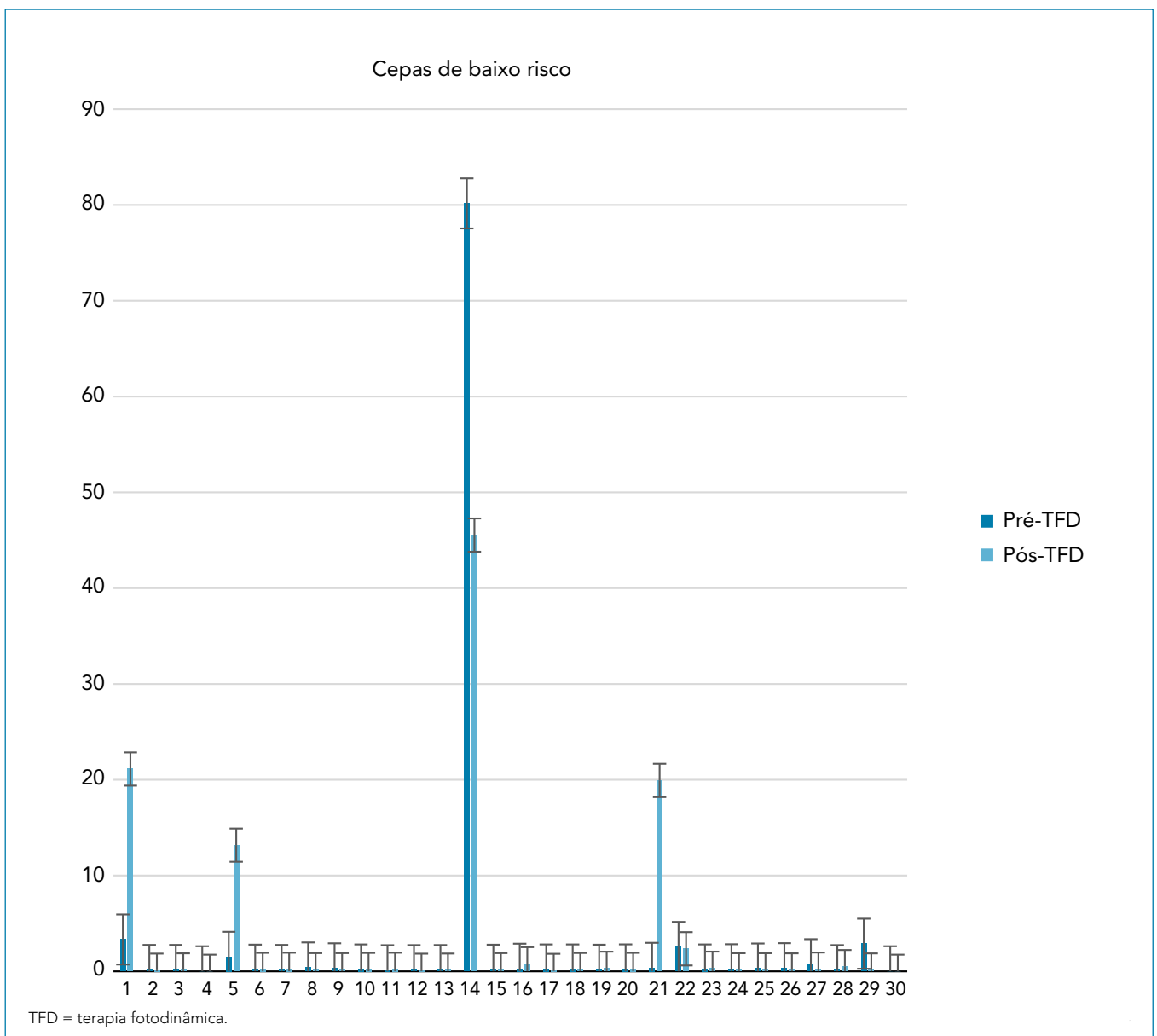


Figura 1. Cepas de baixo risco referente à Tabela 4.

conseguimos esse efeito com apenas duas sessões. Em um ensaio publicado por Wang e cols., em 2012, foram necessárias até quatro sessões da terapia para atingir o resultado<sup>15</sup> semelhante ao nosso estudo, com duas sessões. Gu e cols., em 2021, avaliaram também a eficácia da TFD utilizando o ácido 5-aminolevulínico após três sessões.<sup>16</sup> Novamente, conseguimos resultados semelhantes com apenas duas.

Cabem aqui algumas considerações referentes aos resultados alcançados. Algumas pacientes do estudo (5 e 14) apresentaram aumento das cepas do HPV de alto risco. Com isso, ressaltam-se que muitas são as variáveis que podem ter influenciado os resultados finais, tais como aplicação

individualizada do creme e risco de reinfecção durante o tratamento, seja por diferentes parceiros ou uso inadequado de preservativos. Porém, os dados passaram por um tratamento estatístico robusto, não deixando dúvidas sobre sua significância e não significância estatística, entre os grupos.

Outro ponto positivo observado foi em relação aos efeitos colaterais durante e após o procedimento. Diferentemente do que foi descrito por Soergel e cols. em 2012, em que 86% das pacientes do ensaio apresentaram efeitos adversos como espasmos cervicais e/ou uterinos e corrimento vaginal,<sup>17</sup> nenhuma das pacientes do nosso estudo apresentaram qualquer efeito adverso. Foram questionadas a respeito da dor,

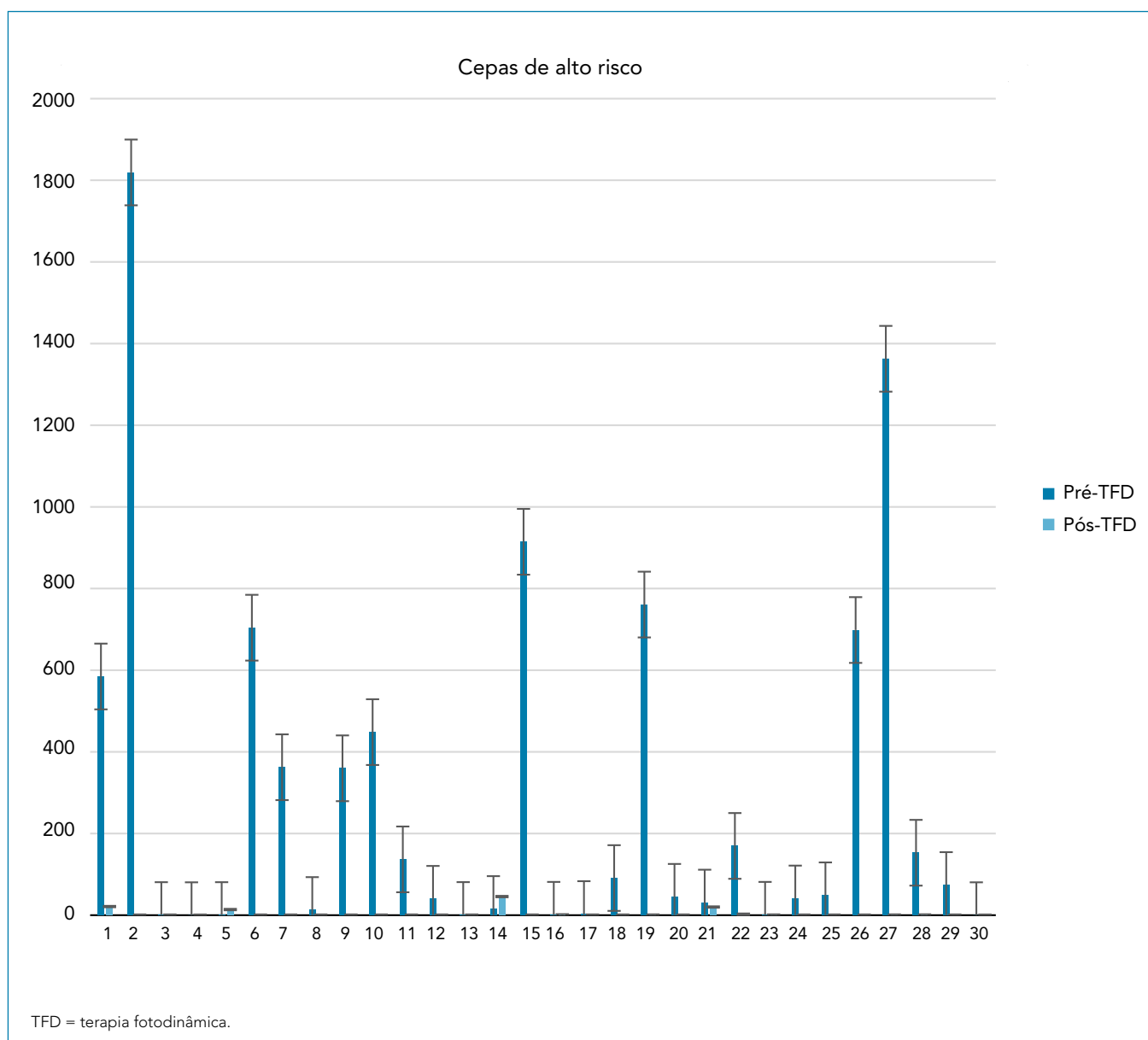


Figura 2. Cepas de alto risco referente à Tabela 4.

corrimento vaginal, espasmos cervicais e/ou uterinos ou qualquer alteração local. Não foram relatados sintomas sistêmicos também.

Em 2016, o INCA/Ministério da Saúde recomendou que o início da coleta de Papanicolau fosse realizada a partir dos 25 anos de idade.<sup>6</sup> Porém, para aquelas que fizeram a coleta antes dessa idade, e os resultados mostraram LIEAG, a conduta permanece ainda incerta.

Para as LIEBG, a terapia fotodinâmica tem sido sugerida como estratégia eficaz, reduzindo a carga viral e diminuindo as lesões substancialmente.<sup>9</sup> Os mecanismos envolvidos baseiam-se na via autofágica e na apoptose, reguladas via Ras/Raf/MEK/ERK e P13K/AKT e mTOR.<sup>13</sup>

Para as LIEAG do colo uterino, diagnosticadas em mulheres jovens que, por algum motivo, realizaram a citologia oncológica antes dos 25 anos, a conduta preconizada é a expectante. Mesmo em se tratando de lesão de alto grau, estudos comprovam que o risco de progressão para carcinoma invasor é baixo, porém existente.<sup>8</sup>

Além das características próprias do vírus, sabe-se que variações no sistema imune, características sociais e o comportamento sexual influenciam sobremaneira na evolução da infecção.<sup>2</sup> Portanto, em pacientes jovens, esses fatores tornam-se consideráveis. Assim, a terapia fotodinâmica poderia ser uma alternativa de tratamento para essa faixa etária em vigência de LIEAG, promovendo, comprovadamente, a diminuição da carga viral. Além disso, conseguiria amenizar a ansiedade dessas mulheres pela ausência ou incerteza do tratamento.

Outra aplicação do método seria para pacientes com mais de 25 anos, sem prole constituída, que não desejam tratamento cirúrgico ou com contraindicações para o quadro. Cabe ressaltar que, se necessário, a conização convencional deve ser realizada após a terapia fotodinâmica, principalmente nos casos de neoplasia intraepitelial cervical grau III (NIC III) e independentemente da faixa etária.

Um dos maiores desafios encontrados quando falamos de lesões intraepiteliais de alto grau é procurar um tratamento menos destrutivo, principalmente para mulheres que apresentam o perfil das pacientes descritas acima. O uso do ácido aminolevulínico ou o ácido 5-metil aminolevulínico parece ter um grande impacto no desfecho contrário. Ele pode ser considerado, até o momento, a substância fotossensibilizadora de escolha, visto que tem maior capacidade de impregnar em maior quantidade em células infectadas pelo vírus. Assim, pouco tecido saudável, adjacente às lesões, seria comprometido. O estudo publicado utilizando a nanoemulsão de curcuma como substância fotossensibilizadora não mostrou essa seletividade tão importante, podendo comprometer uma maior área de tecido saudável adjacente.<sup>18</sup>

Assim, propomos a terapia fotodinâmica como uma nova alternativa de tratamento nas LIEAG, para mulheres infectadas pelo HPV, principalmente quando consideramos os resultados significativos da redução da carga viral de cepas de alto risco – potencialmente oncogênicas. A partir de futuras pesquisas, com avaliação de um número maior de casos, poderemos, talvez, instituir a terapia fotodinâmica como terapia de escolha para pacientes com menos de 25 anos, com a vantagem de ser menos invasiva e efetiva para eliminar a infecção, diminuindo, assim, o risco de progressão oncogênica do vírus.

As possíveis candidatas à terapia fotodinâmica encontram-se descritas resumidamente na **Tabela 7**.

Desse modo, por meio do estudo da carga viral, a terapia fotodinâmica projeta a expectativa de adicionar uma possível

**Tabela 5.** Teste de qui-quadrado

<b>Qui-quadrado</b>	0,076
<b>Graus de liberdade</b>	1
<b>(P)</b>	0,7825
<b>Correção de Yates</b>	0,000
<b>(P)</b>	1,000

**Tabela 6.** Teste *T-Student* para cepas de alto risco do papilomavírus humano (HPV) antes e após a terapia fotodinâmica (TFD)

	Pré-TFD	Pós-TFD
Indivíduos	28	28
Média	3.170.261	1.926.321
Desvio padrão	4.573.779	3.588.262
Erro padrão	864.363	729.143
Desvio padrão da diferença	3.447.145	
Erro padrão da diferença	651.449	
Média das diferenças	1.243.939	
(T)	19.095	
Graus de liberdade	27	
(P) unilateral	0.334	
(P) bilateral	0.0668	
IC (95%)	"-9.2834 a 258.0713	
IC (99%)	"56.1226 a 304.9105	

IC = intervalo de confiança.

**Tabela 7.** Possíveis candidatas à terapia fotodinâmica

Mulheres < 25 anos que realizaram o exame de Papanicolau antes do período preconizado, com resultado de lesão intraepitelial de alto grau (NIC II e NIC III);
Mulheres que apresentem alguma comorbidade aos tratamentos convencionais e/ou alguma contraindicação;
Mulheres > 25 anos, porém sem prole constituída, desejosas por gestações futuras e que precisam de uma abordagem menos invasiva.

alternativa às adversidades dos métodos convencionais usados atualmente. Espera-se não apenas a capacidade de involução das neoplasias intraepiteliais cervicais, mas também eliminar a infecção viral, visto o grande número de portadoras assintomáticas ainda sujeitas à progressão neoplásica. Acrescenta-se, ainda, o fato de ser uma terapia menos invasiva, com menos efeitos colaterais, de alta eficiência, e que melhorará a vida de muitas pacientes física e mentalmente.

Para as lesões intraepiteliais com alto grau de risco decorrentes de cepas do HPV de baixo risco oncogênico, ainda são necessários novos estudos para delinear um perfil epidemiológico específico, tentando elucidar outras variantes da infecção e seu comportamento.

## CONCLUSÃO

A terapia fotodinâmica parece ser um método promissor na diminuição da carga viral nas pacientes com lesões intraepiteliais de alto grau, quando originadas de HPV de alto risco oncogênico, com a necessidade de poucas sessões, efeitos colaterais nulos e conservadora em comparação a outros métodos.

Para as pacientes que apresentaram LIEAG decorrentes de cepas de baixo risco oncogênico, o resultado não se mostrou significativo, sendo necessárias maiores pesquisas para entender o porquê do comportamento diferente e quais variáveis do protocolo poderiam ser alteradas a fim de melhorar os resultados.

## REFERÊNCIAS

- Okunade KS, Nwogu CM, Oluwole AA, Anorlu RI. Prevalence and risk factors for genital high-risk human papillomavirus infection among women attending the out-patient clinics of a university teaching hospital in Lagos, Nigeria. *Pan Afr Med J.* 2017;28(3):227. PMID: 29629013; <https://doi.org/10.11604/pamj.2017.28.227.13979>
- de Mendonça VG, Guimarães MJ, de Lima Filho JL, et al. Infecção cervical por papilomavírus humano: genotipagem viral e fatores de risco para lesão intraepitelial de alto grau e câncer de colo do útero [Human papillomavirus cervical infection: viral genotyping and risk factors for high-grade squamous intraepithelial lesion and cervix cancer]. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2010;32(10):476-85. PMID: 21271154; <https://doi.org/10.1590/S0100-72032010001000002>.
- Maldonado Alvarado E, Osorio Peralta MO, Moreno Vázquez A, et al. Effectiveness of Photodynamic Therapy in Elimination of HPV-16 and HPV-18 Associated with CIN I in Mexican Women. *Photochem Photobiol.* 2017;93(5):1269-75. PMID: 28380684; <https://doi.org/10.1111/php.12769>.
- Tao XH, Guan Y, Shao D, et al. Efficacy and safety of photodynamic therapy for cervical intraepithelial neoplasia: a systemic review. *Fotodiagnosis Photodyn Ther.* 2014;11(2):104-12. PMID: 24631593; <http://dx.doi.org/10.1097/MD.00000000000010864>.
- dos Anjos S de J, Vasconcelos CT, Franco ES, de Almeida PC, Pinheiro AK. Fatores de risco para câncer de colo do útero segundo resultados de IVA, citologia e cervicografia [Risk factors for uterine cervical cancer according to results of VIA, cytology and cervicography]. *Rev Esc Enferm USP.* 2010;44(4):912-20. PMID: 21337771; <https://doi.org/10.1590/S0080-62342010000400008>.
- Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes. Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro, 2018. Disponível em: [http://www1.inca.gov.br/rbc/n\\_64/v01/pdf/15-resenha-estimativa-2018-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf](http://www1.inca.gov.br/rbc/n_64/v01/pdf/15-resenha-estimativa-2018-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf). Acessado em 2021 (Jan 19).
- Silva ER, Macedo FLS, Soares LRC, Rosal VMS, Carvalho NAL, Rocha MGL. Diagnóstico molecular do papilomavírus humano por captura híbrida e reação em cadeia da polimerase. *FEMINA.* 2015;43(4):182-4. Disponível em: <https://www.febrasgo.org.br/pt/femina/item/68-revista-femina-2015-vol-43-n-4>. Acessado em 2021 (Jan 19).
- Hillemanns P, Soergel P, Löning M. Fluorescence diagnosis and photodynamic therapy for lower genital tract diseases – A review. *Medical Laser Application.* 2009;24(1):10-1. <https://doi.org/10.1016/j.mla.2008.10.005>.
- Inada NM, Costa MM, Guimarães OC, et al. Photodiagnosis and treatment of condyloma acuminatum using 5-aminolevulinic acid and homemade devices. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2012;9(1):60-8. PMID: 22369730; <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2011.09.001>.
- Issa MCA, Manela-Azula M. Terapia fotodinâmica: revisão da literatura e documentação iconográfica. *An. Bras. Dermatologia.* 2010;85(4):501-11. <https://doi.org/10.1590/S0365-05962010000400011>.
- Inada NM, Buzzá HH, Leite MFM, et al. Long Term Effectiveness of Photodynamic Therapy for CIN Treatment. *Pharmaceuticals (Basel).* 2019;12(3):107. PMID: 31336848; <https://doi.org/10.3390/ph12030107>.
- Rodrigues AD, Cantarelli VV, Frantz MA, Pilger DA, Pereira FS. Comparação das técnicas de captura de híbridos e PCR para a detecção de HPV em amostras clínicas. *J Bras Patol Med Lab.* 2009; 45(6): 457-62.
- Xie J, Wang S, Li Z, et al. 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy reduces HPV viral load via autophagy and apoptosis by modulating Ras/Raf/MEK/ERK and P13K/AKT pathways in HeLa cells. *J Photochem Photobiol B.* 2019;194:46-55. PMID: 30925276; <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.03.012>.
- Hu Z, Liu L, Zhang W, et al. Dynamics of HPV viral loads reflect the treatment effect of photodynamic therapy in genital warts. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2018;21:86-90. PMID: 29155073; <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2017.11.005>.



15. Wang HW, Zhang LL, Miao F, et al. Treatment of HPV infection-associated cervical condylomata acuminata with 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy. *Photochem Photobiol.* 2012;88(3):565-9. PMID: 22150321; <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2011.01060.x>.
16. Gu L, Cheng M, Hong Z, et al. The effect of local photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid for the treatment of cervical low-grade squamous intraepithelial lesions with high-risk HPV infection: A retrospective study. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2021;102172. PMID: 33401023; <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.102172>.
17. Soergel P, Dahl GF, Onsrud M, Hillemanns P. Photodynamic therapy of cervical intraepithelial neoplasia 1-3 and human papilloma virus (HPV) infection with methylaminolevulinic acid and hexaminolevulinic acid--a double-blind, dose-finding study. *Lasers Surg Med.* 2012;44(6):468-74. PMID: 22693121; <https://doi.org/10.1002/lsm.22041>.
18. Bonfim CMD, Monteleoni LF, Calmon MF, et al. Antiviral activity of curcumin-nanoemulsion associated with photodynamic therapy in vulvar cell lines transducing different variants of HPV-16. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2020;48(1):515-24. PMID: 32048523; <https://doi.org/10.1080/21691401.2020.1725023>.