



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS

MARIA DA CONCEIÇÃO NASCIMENTO FREITAS

**ESTUDO DO HPV EM FRAGMENTO UTERINO DE MULHERES COM CÂNCER DO
COLO DO ÚTERO**

BELÉM-PARÁ

2012



MARIA DA CONCEIÇÃO NASCIMENTO FREITAS

**ESTUDO DO HPV EM FRAGMENTO UTERINO DE MULHERES COM CÂNCER DO
COLO DO ÚTERO**

Dissertação apresentada à banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do Título de Mestre em Doenças Tropicais.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Hellen Thais Fuzii.

BELÉM

2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

F862 Freitas, Maria da Conceição Nascimento

Estudo do HPV em fragmento uterino de mulheres do câncer do colo do útero/
Maria da Conceição Nascimento Freitas. Orientadora: Hellen Thais Fuzii. Belém, 2012.
74 fl.; il.

Dissertação (Mestrado em Doenças Tropicais) – Universidade Federal do Pará,
Belém, 2012.

1. Colo uterino – Câncer - Prevenção 2. HPV 3. Colo uterino - Câncer I. Fuzii, Hellen Thais
(Orient.) II. Título.

CDD: 21 ed. 6120.73698

MARIA DA CONCEIÇÃO NASCIMENTO FREITAS

**ESTUDO DO HPV EM FRAGMENTO UTERINO DE MULHERES COM CÂNCER DO
COLO DO ÚTERO**

Dissertação apresentada à banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em
Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará

Data de aprovação:

Conceito:

Banca Examinadora:

Prof^a .Dr^a. Hellen Thais Fuzii – NMT - UFP^a

Orientadora

Prof. Dr. José Luís Martins do Nascimento - ICB – UFP^a

Membro

Prof^a .Dr^a. Fabíola Raquel Tenório Oliveira – CCBS – UEPA

Membro

Prof^a Dr^a. Luisa Caricio Martins – NMT - UFP^a

Membro

DEDICATÓRIA

Dedico esta pesquisa a todas as mulheres que sofrem com o câncer do colo do útero e com muita coragem enfrentam o diagnóstico e o tratamento

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço ao mestre dos mestres “Jesus” por ter me iluminado em todos os momentos desta difícil caminhada, proporcionando-me saúde e concedido a oportunidade de concretizar mais uma conquista em minha vida.

Expresso meus profundos agradecimentos aos meus grandes exemplos, Raimundo e Guiomar (in memoriam) a quem tive a imensa honra e orgulho de tê-los como pais e meus primeiros mestres. Não esqueço seus eternos ensinamentos, seus preciosos conselhos, suas estimáveis confianças e apoio nos momentos de tristezas e alegrias. Sempre me incentivaram a buscar novos horizontes e foram patrocinadores e torcedores assíduos em todos os momentos da minha vida.

Meus respeitosos agradecimentos a Prof^a Dr^a Hellen Thais Fuzii, orientadora desta dissertação, pelas valiosas sugestões e esforço compartilhado neste novo referencial, transformando as dificuldades em realizações e permitindo com que o meu objetivo fosse alcançado.

Sou profundamente grata ao Prof. Msc. Rubenilson Caldas Valois, que no primeiro momento se colocou à disposição para ajudar-me a ingressar nesta pós-graduação.

Os meus sinceros agradecimentos a Prof^a Dr^a Maria Tita Portal Sacramento e a Prof^a. Msc. Maria Lúcia Costa, pelo incentivo em momentos diversos e de forma incondicional, contribuindo para esta concretização.

À Prof^a Msc. Vera Lúcia Cecim, os mais profundos agradecimentos por suas sábias lições de esperança; nos momentos de dificuldade e de dor

Meu muito obrigado a Prof^a Msc Margareth Braun Imbiriba, que muito contribuiu para a realização desta dissertação, me acolheu acreditando no meu potencial, compreendendo as dificuldades existentes com muita sabedoria e paciência.

Às Profas Tatiana Panzetti, Fabiane Souza e Milene Tyll. Vocês não foram somente amigas, em alguns momentos, conselheiras e confidentes, me oferecendo carinho e apoio no momento em que mais precisei.

A minhas colegas de turma Alba Lúcia, Raithy e Sandra Sueli da Veiga Baia, pelos momentos divididos, pelo apoio e companheirismo ao longo destes dois anos.

De modo especial, agradeço a todas as mulheres que foram personagens integrantes desta pesquisa, confiando-me suas histórias de vida, sua dor, seu sofrimento e também sua esperança, meu respeito e minha gratidão pela compreensão.

Também de modo muito especial quero agradecer à minha família, pois a seu modo, sempre se orgulharam de mim e confiaram em meu trabalho. Obrigada pela confiança!

Manifesto a minha gratidão aos funcionários e amigos do Hospital Ophir Loyola, pela ajuda e cooperação, especialmente à Dr^a Valdenice Viana pelo respeito e colaboração.

À Universidade Federal do Pará e à Universidade do Estado do Pará, por abrirem as portas para que eu pudesse realizar este sonho.

E a todas as pessoas que direta e indiretamente contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho. Obrigada a todos!

RESUMO

O câncer do colo do útero representa um importante problema de saúde pública, constituindo a primeira causa de morte entre as mulheres do Sul e Leste da África, América Central e Centro Sul da Ásia. Levantamentos do INCA para 2013 estimam 17 casos novos dessa neoplasia para cada 100.000 mulheres no Brasil, sendo que o número de casos novos será de 17.540. Este tipo de câncer é o segundo mais incidente no sexo feminino. O HPV é o principal fator de risco para o desenvolvimento da doença, entretanto não é suficiente para causá-lo, necessitando de outros fatores associados. Este estudo teve como objetivo avaliar a prevalência do HPV e subtipos em mulheres com câncer do colo do útero e traçar o perfil epidemiológico das mulheres acometidas por este agravo. Para isso, foi realizada detecção do DNA do HPV e tipagem dos subtipos 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 52, e 58 por PCR. Além disso, foi aplicado um formulário epidemiológico. Noventa e sete por cento aproximadamente das amostras de câncer do colo do útero foram positivas para HPV. A prevalência do subtipo HPV 16 foi de 48,6%, do subtipo HPV 58 foi de 10,8%, do subtipo HPV 52 foi de 5,4% e dos subtipos HPV 18 e HPV 33 foi de 2,7%. As mulheres em geral eram casadas tiveram a coitarca após os 15 anos de idade, possuíam baixa escolaridade, sendo a maioria analfabeta ou com ensino fundamental incompleto. Dividindo as mulheres por idade, até 45 anos e mais de 45 anos, não foi possível detectar diferenças nas variáveis testadas, a não ser pelo uso de preservativo que foi maior nas mulheres de até 45 anos, sendo estatisticamente.

Palavras chave; Papilomavírus humano; câncer do colo do útero; Teste Papanicolau;

ABSTRACT

Cancer of the cervix is an important public health problem, is the second highest incidence in females. HPV is the main risk factor for developing the disease, though not enough to cause it, requiring other associated factors. This study aimed to delineate the epidemiological profile and assess the prevalence and subtypes of HPV in women with cervical cancer. To this was applied a form epidemiological and viral DNA detection and typing of subtypes 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 52, and 58 for PCR. Ninety-seven percent of the samples about cancer of the cervix were positive for HPV. The prevalence of subtype HPV 16 was 48.6%, HPV 58 subtype was 10.8%, HPV 52 subtype was 5.4% and subtypes of HPV 18 and HPV 33 was 2.7%. Women in general were married had first sexual intercourse after the age of 15, had low education. Could not detect differences in variables among women aged 45 years and over 45 years, except the condom use was greater than 80% in women no more than 45 years, being statistically significant.

Keywords; Human papillomavirus, cervical cancer, Pap test.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 1- Árvore Filogenética Árvore baseada no alinhamento baseada no de 106 sequências da região L1 de diferentes papilomavírus.
Fonte: MELLO, 2005.
- FIGURA 2- Organização genômica do HPV (Adaptado de Tyring, 2000)
- FIGURA 3- Etapas do ciclo celular do HPV.
Fonte: Munoz et al, 2006; MODIFICADO.
- FIGURA 4- O gene TP53 está localizado no braço curto do cromossomo 17 na posição 17p13
Fonte: http://p53.free.fr/p53_info/p53_gene.html
- FIGURA 5- Representação espacial das taxas brutas de incidência por 100 mil mulheres, estimadas para o ano de 2013, segundo a Unidade da Federação (neoplasia maligna do colo do útero), INCA, 2011.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Características Sociodemográficos	43
TABELA 2	Características Comportamentais em relação ao Tabagismo e o uso de álcool	44
TABELA 3	Características comportamentais sexuais	45
TABELA 4	Características dos métodos contraceptivos	46
TABELA 5	Características ginecológicas	47
TABELA 6	Subtipagem das amostras	48
TABELA 7	Análise dos fatores de risco sociodemográficos	49
TABELA 8	Análise dos fatores de risco	50
TABELA 9	Análise dos fatores de risco contraceptivos por infecções pelo HPV	51
TABELA 10	Análise dos fatores de risco de comportamento sexual para infecção pelo HPV	52
TABELA 11	Análise de fatores para infecção pelo HPV	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência nacional de Vigilância Sanitária
COFEN	Conselho Federal de Enfermagem
DAB	Departamento de Atenção Básica
DNA	Ácido desoxiribonucleico
DST	Doença sexualmente transmissível
DST	Doença Sexualmente Transmissível
FDA	Food and Drug Administration
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HPV	Papilomavírus humano
IARC	International Agency for Research on cancer
ICTU	International Council on the Taxonomy of viruses
INCA	Instituto Nacional de Câncer
MS	Ministério da Saúde
NIC	Neoplasia intra-epitelial cervical
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCCU	Preventivo do Câncer Cérvico-uterino
PCR	Reação em cadeia da polimerase
RNA	Ácido ribonucleico
SAS	Secretaria de Atenção à Saúde
VIGITEL	Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por
VLP	Partículas vírus-like

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	JUSTIFICATIVA	18
3	REVISÃO DA LITERATURA	20
	3.1 O Papilomavírus humano (HPV)	20
	3.1.1 Histórico	20
	3.1.2 Taxonomia	20
	3.1.3 Replicação Viral	22
	3.1.4 Oncogenicidade e Mecanismo de Transformação	25
	3.1.5 Epidemiologia do câncer do colo do útero	29
	3.1.6 Vacinas contra o HPV	31
	3.1.7 Papel do Enfermeiro	35
4	OBJETIVOS	37
4.1	Objetivo Geral	37
4.2	Objetivos Específicos	37
5	MATERIAL E MÉTODO	38
5.1	Tipo de Estudo	38
5.2	Local da Pesquisa	38
5.3	População e Amostra	38
5.4	Critérios de Inclusão	38
5.5	Critérios de Exclusão	38
5.6	Instrumento e Estrutura para Coleta de Dados	39
5.7	Aspectos Éticos	39
5.8	Extração do DNA das Amostras Tumorais	40

5.9	PCR para detecção e Subtipagem do HPV	40
6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	42
7	RESULTADOS	43
8	DISCUSSÃO	54
9	CONCLUSÕES	61
	REFERÊNCIAS	62
	APÊNDICES	74
	ANEXOS	79

1. INTRODUÇÃO

O câncer do colo do útero é uma das neoplasias mais freqüentes no sexo feminino e apresenta ocorrência aproximada de 500.000 casos novos de câncer por ano no mundo, segundo estimativa realizada em 2011 pelo Instituto Nacional de Câncer- INCA quase 80% desses casos ocorrem em países em desenvolvimento e em população com precárias condições socioeconômicas, constitui uma das mais freqüentes causas de óbito na população feminina da África, America Latina e Caribe, onde as taxas de incidência são também uma das mais altas do mundo. (IARC, 2008; BEHTASH, 2006; ROTELI- MARTINS et al,2007).

O câncer do colo do útero é uma doença silenciosa e de crescimento lento. Existe uma fase pré-clínica, sem sintomas, mas com transformações intra-epiteliais progressivas importantes; evoluindo durante anos, atinge o estagio invasor da doença, quando a cura se torna mais difícil, senão impossível. Nessa fase, os principais sintomas, são sangramento vaginal, corrimento e dor. No cenário da prevenção primária, a principal ação que pode ser feita com relação a este agravo já instalado é a detecção precoce, pois efetivado o tratamento em seus estágios iniciais, obtêm-se redução das taxas de incidência de câncer invasor que pode chegar a 90%. Quando o rastreamento apresenta cobertura em torno de 80% e é realizado dentro dos padrões de qualidade, a redução dessa taxa de incidência pode ser ainda maior. (BRASIL 2006; ANTTILA et al, 2011; ARBYN et al, 2009a)

A Organização Mundial de Saúde (OMS), alerta que fatores ambientais, hábitos de vida e sociais são os de maior incidência para o câncer do colo do útero. Além disso, outros fatores também podem agravar esse quadro, como o início precoce da atividade sexual, as baixas condições socioeconômicas, multiplicidade de parceiros, tabagismo, precárias condições de higiene, bem como o uso prolongado de contraceptivos orais. (DAVIM et al, 2005).

A evolução do câncer do colo do útero, na maioria dos casos se dá de forma lenta passando por fases pré-clínicas detectáveis e curáveis. Dentre todos os tipos de câncer, é o que apresenta um dos mais altos potenciais de prevenção e cura. Seu pico de incidência situa-se entre mulheres de 40 aos 49 anos de idade, e com percentual significativo nas mulheres com menos de 30 anos. A faixa de idade para detecção precoce é dos 20 aos 29 anos, período que corresponde ao pico de incidência das lesões precursoras da doença e antecede ao pico de mortalidade pelo câncer (DUAVY, 2007). A infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV) é uma das doenças sexualmente transmissíveis de maior incidência e prevalência no mundo, representando um importante problema de saúde pública. O HPV, em suas diversas famílias, infecta a pele e as mucosas, podendo induzir à formação de neoplasias epiteliais benignas e malignas (WRIGHT, 2009).

A disparidade econômica entre países influencia diretamente na incidência e mortalidade por câncer do colo do útero representando cerca de 80% deste tipo de câncer no mundo. Dessa forma, a redução desse agravo, nos países em desenvolvimento ainda representa uma necessidade não atendida (SIMÕES 2010).

A Prevenção é fator primordial para o combate ao câncer. Dois níveis de atenção à saúde representam importância no combate dessa neoplasia: A prevenção primária e a secundária. A primária contribui para o controle da doença por meio de ações de promoção de saúde e prevenção e o profissional enfermeiro é fundamental no que se refere às ações educativas. Já na prevenção secundária do câncer do colo do útero é realizado o exame de Papanicolau, criado em 1940 pelo médico George Papanicolau, o qual definiu a classificação diagnóstica citológica cérvico-vaginal, substituída em 1988 pelo sistema de classificação de Bethesda, (SALOMON, 2005; DERCHAIN; LONGATTO FILHO; SYRJANEN,, 2005)

Para inibir a ocorrência de exames citopatológicos falso-negativos e insatisfatórios, o Conselho Federal de Enfermagem (COFEN), instituiu a Resolução nº 381/ 2011, tornando função privativa do enfermeiro a coleta de material para

colpocitologia oncótica pelo método de Papanicolau, tal normatização entrou em vigor em 18 de outubro de 2012.

Trabalhos na área oncológica são de importância fundamental pela magnitude que o câncer do colo do útero representa nos índices de morbidade e mortalidade feminina no país e notadamente na região norte. Portanto esta pesquisa busca analisar a prevalência da infecção pelo HPV e subtipos em mulheres com câncer do colo do útero, dada a magnitude do agravo para a saúde pública.

2. JUSTIFICATIVA

A incidência do câncer cresce no Brasil, como em todo mundo, em ritmo acelerado, acompanhando o envelhecimento populacional decorrente da longevidade dos indivíduos. Constitui o resultado direto das grandes transformações globais das últimas décadas, que desregulam a situação de saúde das pessoas pela urbanização acelerada, pelos atuais estilos de vida e novos padrões de consumo, (INCA 2011). A Política Nacional de Atenção Oncológica (PNAO) ressalta que o câncer é um problema de saúde pública e enfatiza que as ações para o controle no Brasil sejam realizadas através de uma Rede de Atenção Oncológica (RAO), com a participação direta e indireta do Governo Federal, Secretarias Estaduais e Municipais de Saúde, Universidades, Serviços de Saúde, Centros de Pesquisa, Organizações não Governamentais e Sociedade como um todo (INCA 2011).

O controle do câncer do colo do útero se destaca entre as políticas de saúde no Brasil com o Programa de Prevenção de Câncer do Colo do Útero implantado pelo Instituto Nacional de câncer (INCA) em 1997 e consiste no rastreamento anual por meio do teste de Papanicolau em mulheres na faixa etária de 25 a 64 anos e no tratamento quando necessário (BRASIL, 2011); constitui uma das atividades inerentes à área de saúde da mulher, definida como uma das áreas estratégicas a serem desenvolvidas na atenção primária em saúde (MS/SAS/DAB, 2006; KRINGOS 2010).

Para o INCA 2011, o câncer do colo do útero é o segundo mais comum na população feminina e acomete mulheres em fase de atuação social, familiar e profissional, gerando custos governamentais em serviços de saúde, sociais e econômicos. A evolução da doença produz melhor eficácia apenas nos estágios iniciais. O aparecimento deste tipo de câncer sofre a interferência de fatores de risco tais como: iniciação precoce da atividade sexual, multiplicidade de parceiros, herpes simples, infecção pelo papilomavírus humano (HPV), tabagismo, carência de vitamina A, multigestação, multiparidade, uso de anticoncepcionais orais, precocidade na primeira

gestação, história familiar de câncer cérvico-uterino, baixa condição sócio-econômica, higiene íntima inadequada, subnutrição e não adesão aos programas de controle (NARCHI, et al, 2007; VIGITEL, BRASIL, 2009).

Este tipo de câncer é uma patologia que pode ser evitada, mas que por falha nos programas de rastreamento e controle, evolui muitas vezes para um tumor avançado, onde as possibilidades terapêuticas são pouco eficazes, levando a sofrimento pessoal contribuindo para a elevação dos custos sociais e econômicas (TAWFIK et al, 2006).

Durante a prática curricular como docente, no HOL observei mulheres, jovens portadoras de câncer do colo do útero em estadiamento avançado e isto me instigou a descobrir porque tais fatos aconteciam com tamanha intensidade e quais eram os fatores contribuintes para a ocorrência desta neoplasia.

Dado o exposto e o contexto atual do câncer do colo do útero no Brasil, questionamos:

1. Qual o perfil epidemiológico de mulheres portadoras de câncer do colo do útero?
2. Qual a incidência do HPV nas mulheres com Câncer do Colo do Útero atendidas no HOL?
3. Quais os subtipos de HPV mais prevalentes nas mulheres pesquisadas?
4. Qual a correlação entre o Câncer do Colo do Útero e os fatores sócio-demoográficos, comportamentais, sexuais, contraceptivos, reprodutivos e clínico-ginecológicos, nas mulheres pesquisadas?

Desse modo frente à relevância do exposto e a importância do assunto no controle da saúde da mulher, os resultados deste estudo deverão subsidiar intervenções diretas na população feminina, por meio de ações conjuntas no controle da doença e conseqüentemente da morbimortalidade das mulheres.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. O PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV)

3.1.1. Histórico

Os condilomas clássicos causados pelo Papilomavírus Humano (HPV) são conhecidos desde a mais remota antiguidade. Registros da Grécia antiga faziam referência a lesões verrucosas ou papilomatosas em algumas regiões como as áreas genitais, palmares e plantares. A doença foi associada a práticas homossexuais e registrada por poetas eróticos e satíricos, assim como em escritos médicos de acordo com (BAFVERSTEDT, 1967). Durante a Idade Média, as epidemias de gonorréia e sífilis renovaram o interesse pelas doenças sexualmente transmissíveis (DST), mas não foram feitas distinções entre as causas das diversas lesões genitais. No final do século XIX, as verrugas genitais passaram a ser correlacionadas com as verrugas cutâneas, levando a suposição da origem única das verrugas, a chamada teoria unitária (ORIEL, 1971).

Estudos de Goldschmidt; Kligman, 1958, sugerem que o mesmo agente causava a verruga vulgar e o condiloma acuminado. Usando material não-filtrado de condiloma de pênis, inocularam áreas escarificadas da pele de três voluntários; dois deles desenvolveram verrugas planas no antebraço após três e nove meses, respectivamente; na terceira voluntária surgiram lesões típicas de condiloma na região vulvar após três meses.

O primeiro trabalho sobre hibridização molecular, utilizando sondas de ácido ribonucléico (RNA) derivadas de verruga plantar foi publicado por Zur Hausen *et al.*, em 1974. Essa técnica foi aperfeiçoada por Southern, 1975, utilizando sondas de ácido de desoxiribonucleico (DNA) que permitiu a distinção de vários tipos de HPV existentes de acordo com o grau de semelhança de suas sequências nucleotídicas.

3.1.2 Taxonomia

De acordo com o International Council on the taxonomy of Viruses, (ICTV, 2006), o HPV pertence à família Papillomaviridae, gêneros papilomavírus Alfa, Beta, Gama, Delta, Kappa, entre outros (DE VILLIERS *et al.*, 2004; BERNARD, 2005).

Clinicamente, o gênero mais importante é o Alfa-papillomavírus, por conter todos os tipos de HPV associados às lesões da mucosa genital (Figura 1). Este gênero inclui as espécies 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10. O HPV 16, por exemplo, está classificado no gênero alfa, espécie 9, (BERNARD, 2005). Os dois principais gêneros de HPV são os Alpha-papillomavirus e Beta-papillomavirus, com aproximadamente 90% dos HPV atualmente caracterizados (PFISTER, 2003; NAKAGAWA, 2010)

A classificação em tipos de HPV é feita com base na homologia de suas seqüências de DNA. Desta forma, variações no genoma dos genes L1, E6 e E7 menores que 2%, são consideradas como variantes dos tipos de HPV. Variações entre 2% e 10%, são consideradas como subtipos e variações maiores que 10%, como novos tipos de HPV. Os papilomavírus humanos são nomeados pela abreviação HPV, seguida de um número que é dado sequencialmente, à medida que diferentes tipos são descobertos (BERNARD *et al.*,2005).

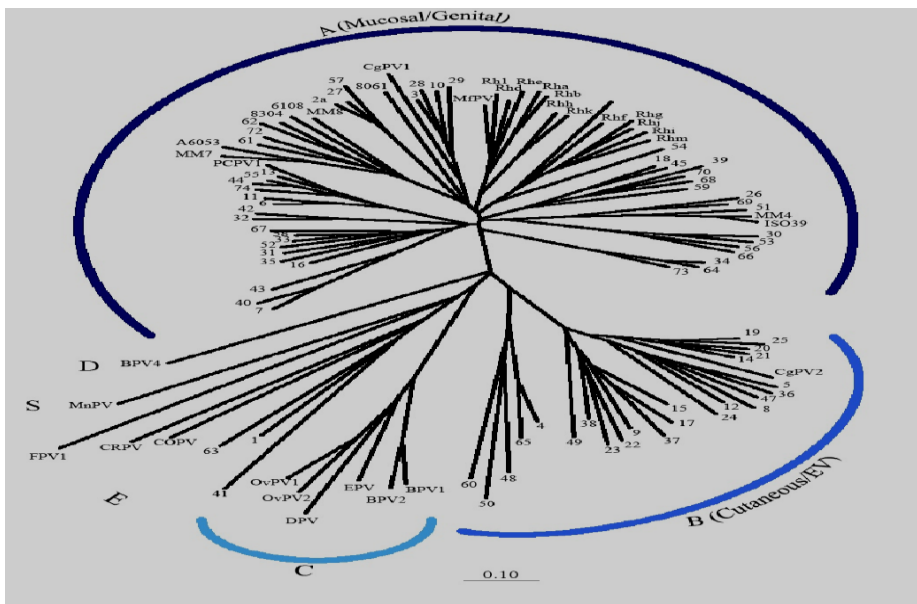


Figura 1 – Árvore Filogenética baseada no alinhamento de 106 seqüências da região L1 de diferentes papilomavírus.

Fonte: MELLO, 2005.

Em 2003, Munoz et al classificaram o vírus em alto e baixo risco, conforme o risco epidemiológico. Os de baixo risco são geralmente encontrados em condilomas vulvo-genitais e os de alto risco são associados ao câncer do colo do útero, além de espécies prováveis de alto risco ou risco intermediário.

As espécies de baixo risco mais comuns são HPV-6 e HPV-11, detectados com maior frequência em verruga genital benigna (GARNETT & HUGHES, 2006). Entre as espécies de alto risco, os HPV-16, HPV-18, HPV-31 e HPV-45 são encontrados com frequência em carcinoma de células escamosas cervicais e respondem por quase 80% dos casos (BOSCH et al, 2002), o HPV-16 e o HPV-18 são responsáveis por 50% e 20% dos casos em todo o mundo, respectivamente (CLIFFORD et al; DUENAS-GONZÁLEZ et al, 2005). O HPV-18 é a espécie mais prevalente em adenocarcinoma cervical (55%), seguido pelo HPV-16 (32%) e HPV-45 (10%), (DE VILLIERS *et al*, 2004; BERNARD, 2005); ZHENG & BAKER, 2006).

A incidência de infecção por HPV de alto risco é mais elevada do que a de baixo risco. O HPV tipo 16 e o HPV tipo 18 são mais prevalentes e representam cerca de 70% dos tipos virais envolvidos no carcinoma de células escamosas a nível global (MUNOZ *et al*, 2006; DE VUYST et al, 2009). Dessa forma, mulheres com HPV 16 e 18, têm um risco aumentado de desenvolver câncer cervical quando comparadas com as que têm outros tipos.

3.1.3. Replicação Viral

O ciclo de replicação viral é a chave para se entender a patogênese e a imunobiologia desse vírus. O conhecimento do processo ainda é limitado em alguns pontos, pois, o ciclo viral está intimamente ligado à diferenciação das células epiteliais, sendo difícil de obter isso em cultura celular. Com isso, muitas das informações sobre o ciclo da infecção foram obtidas a partir da infecção natural em animais, principalmente coelhos, cães e roedores (STANLEY, 2001).

A infecção pelo HPV se inicia nas células basais ou parabasais do epitélio. Provavelmente o vírus tem acesso a estas células por meio de microfissuras ocasionadas por abrasão. As células infectadas pelo HPV, ao se dividirem distribuem equitativamente o DNA viral entre as duas células filhas. Uma delas inicia o processo de diferenciação e maturação, enquanto a outra permanece indiferenciada na camada basal, servindo como reservatório do DNA viral. De acordo com (DOORBAR, 2005; CASTRO et al, 2006). As células infectadas que iniciam a diferenciação induzem a fase produtiva do ciclo viral, a qual, inicialmente requer a maquinaria da célula hospedeira para replicação do DNA viral, e em uma fase mais tardia, ocorre a produção das proteínas do capsídeo e organização dos virions.

O genoma viral consiste de oito a nove sequências de leitura aberta (Open Reading Frames – ORF), e compreende três regiões conhecidas como região precoce (*early region* – E) com aproximadamente, 4 kb de tamanho, região tardia (*late region* – L), com 3 kb e a região controladora (Long Control Region – LCR), com 1 Kb, conforme relatam (ZIELINSKI *et al*, 2003; MUNGER *et al*, 2004; HUTCHINSON; KLEIN; 2008; HARIHARAN; PILLAI, 2009), como observado na Figura 2.

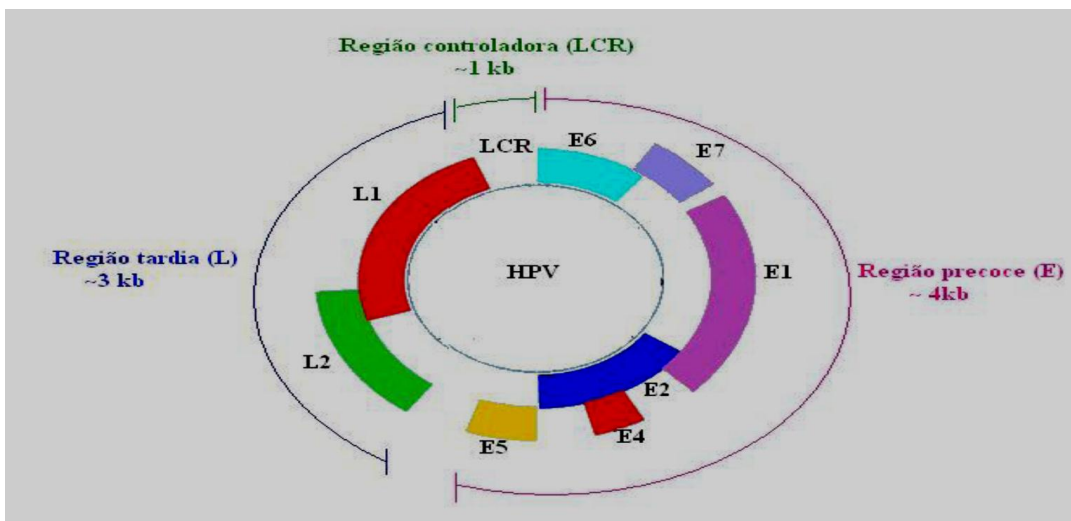


Figura 2 – Organização genômica do HPV (Adaptado de Tyring, 2000)

A região precoce ocupa mais de 50% do genoma do vírus e apresenta seis ORF (E1, E2, E4, E5, E6, e E7) que se traduzem individualmente em proteínas. Os

genes precoces estão envolvidos na regulação da expressão gênica viral, na replicação do DNA viral e na transformação celular durante o estado epissomal do vírus, (DOORBAR; SCHEURER, 2005).

As proteínas E1 e E2 são expressas para manter o DNA viral na forma epissomal e para facilitar a correta segregação do genoma viral durante a divisão celular, admitindo-se que a expressão de E1 e talvez de E2 seja suficiente para a manutenção basal dos epissomos virais. (DOORBAR; SCHEURER, 2005). A ligação de E2 à região regulatória do DNA viral é necessária para que ocorra a replicação viral e recrutamento da proteína E1, que atua como uma helicase, na origem da replicação. Dessa forma, ocorre a replicação do DNA viral nas camadas basais e parabasais, seguida da montagem do capsídeo viral nas camadas mais superiores do epitélio. Para a produção de vírions infectantes, os vírus devem replicar seu genoma e empacotá-lo em partículas. Isto ocorre nas células das camadas média ou superficial do epitélio, após aumento na atividade do promotor tardio. A replicação ocorre em células em proliferação e requer a expressão de E4 e E5, (DOORBAR, 2005).

A função da proteína E4 ainda está para ser determinada, mas ela é, predominantemente, o produto das fases precoces e tardias da infecção viral e pode modular mudanças estruturais no citoplasma das células infectadas conforme enfatizam (PEH et al, 2002; STOLER, 2003). A proteína E5 é uma proteína hidrofóbica associada à membrana, a qual está relacionada à ativação do receptor do fator de crescimento epidérmico, resultando na estimulação do crescimento celular (HOWLEY 2006). Os genes virais E6 e E7 codificam proteínas com o mesmo nome responsáveis pelo potencial oncogênico do vírus. As proteínas E6 e E7 dos principais tipos de HPV oncogênicos formam complexos com as proteínas celulares p53 e pRb inativando a sua função como controladoras do ciclo celular.

A inativação dessas proteínas celulares (p53 e pRb) pelas proteínas virais causa transtornos no crescimento celular e impede os processos de reparação do DNA, promovendo instabilidade genética, acúmulo de mutações e, em última instância, o

desenvolvimento de neoplasias. Este mecanismo tem sido várias vezes descrito como crucial para a transformação e proliferação celulares (STOLER *et al*, 2003; SCHEURER, 2005; SZOSTEK *et al*, 2006).

A ligação de E2 à região regulatória do DNA viral é necessária para que ocorra a replicação viral e recrutamento da proteína E1, que atua como uma helicase, na origem da replicação. Dessa forma, ocorre a replicação do DNA viral nas camadas basais e parabasais, seguida da montagem do capsídeo viral nas camadas mais superiores do epitélio (DOORBAR, 2005). Para finalizar o ciclo viral, ocorre a produção das duas proteínas estruturais, L1 e L2, as quais são expressas nas camadas superiores do epitélio. Desse modo, são formadas partículas virais que são liberadas somente quando as células infectadas alcançam a superfície do epitélio, uma vez que o HPV não possui ciclo lítico (DOORBAR, 2005) o que pode ser observado na figura 3.

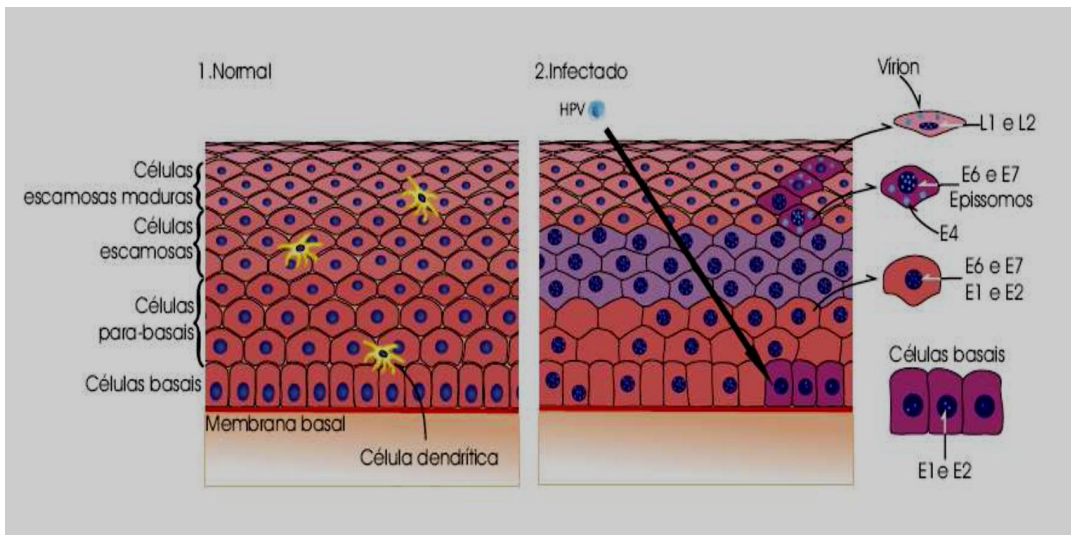


Figura 3- Etapas do ciclo celular do HPV. Fonte: Munoz *et al*, 2006; modificado.

3.1.4 Oncogenicidade e Mecanismos de Transformação

O desenvolvimento do câncer do colo do útero está ligado a infecções persistentes por HPV oncogênico. Em alguns casos, quando a infecção não é resolvida, e permanece por um período maior, há o risco do DNA do HPV se integrar ao genoma

da célula hospedeira e com isso, propiciar a transformação da célula. Esta integração do DNA viral ao genoma do hospedeiro leva à sua linearização entre os genes E1 e L1 e a inativação do gene E2, por corte ou deleção no momento da integração. O gene E2 codifica uma proteína responsável pela regulação da expressão dos genes E6 e E7. Sua perda induz a expressão “descontrolada” dos genes E6 e E7, acelerando o processo de transformação e de imortalização celular (STOLER et al, 2003; SCHEURER, 2005; STANLEY, 2009; PEREIRA; PARELLADA, 2003).

Tais autores ressaltam que a oncoproteína E7 é uma pequena fosfoproteína nuclear constituída por 3 regiões conservadas (CR1, CR2 e CR3), (LIU *et al.*, 2006). O gene do retinoblastoma (*RB1*) é um importante gene supressor tumoral que está deletado ou mutado em muitas linhagens celulares tumorais. A perda do gene ou a incapacidade de sintetizar a p105-RB é correlacionada com o aumento da proliferação celular e a oncogênese. O produto do gene *RB1*, a proteína pRb e os membros de sua família, p107 e p130 são alvos da oncoproteína HPV E7. Em seu estado hipofosforilado, as proteínas da família pRb podem ligar-se a fatores de transcrição, como os membros da família E2F e reprimir a transcrição de genes envolvidos na síntese de DNA e na progressão do ciclo celular .

A fosforilação de pRb por uma quinase G1 dependente de ciclina, libera E2F e permite a progressão do ciclo celular para a fase S. A pRb que normalmente previne a célula da entrada no ciclo celular e regula a transição G1/S, quando ligada à E7, deixa a proteína E2F livre para comandar a divisão celular (MUNGER *et al.*, 2004). Este autor refere ainda que esta proteína pertence a uma importante família de fatores de transcrição, permitindo a ativação de complexos ciclina-CDK que levam à progressão irrestrita da fase G1 para S do ciclo celular, resultando em proliferação celular anormal. Desta forma, os oncogenes E6 e E7 dos HPVs de alto risco quando co-expressados podem facilitar a imortalização de células epiteliais escamosas primárias. A sua expressão prolongada causada pela infecção persistente, pode possibilitar o acúmulo celular de aberrações genômicas que culminam em transformação maligna.

A contínua expressão de E6 e E7 é necessária para manutenção do fenótipo transformado em quase todos os carcinomas cervicais entre 3 a 5 milímetros (DUENSING & MUNGER, 2004). Segundo estes teóricos o gene *p53* regula a progressão do ciclo celular e a apoptose após um dano celular. Quando o dano ao DNA é moderado, há uma parada prolongada no ciclo celular durante a qual o DNA é reparado, mas quando o dano é severo a apoptose é induzida. A apoptose tem um importante papel no desenvolvimento do organismo, na homeostasia celular e na patofisiologia de muitas doenças. No sistema imunológico a apoptose é freqüentemente induzida por receptores de superfície celular.

Muitos destes receptores pertencem à família de receptores TNF, incluindo TNFR1 (Receptor 1 do fator de necrose tumoral), Fas, DR4 (“*death receptor 4*”) e DR5 (“*death receptor 5*”). A ligação do receptor à seus respectivos ligantes: TNF, FasL e TRAIL (“*TNF- related apoptosis inducing ligant*”) induz à morte celular através da ativação das caspases. A atividade supressora tumoral de *p53*, que normalmente levaria a célula alterada à apoptose é perdida quando há a ligação da oncoproteína E6. Esta proteína forma um complexo com a proteína E6-AP (E6 associated protein ligase), um membro da família E3 de ubiquitinas ligases, que somente liga-se à *p53* quando esta associa-se à oncoproteína E6. O complexo E6/E6-AP leva *p53* à degradação proteolítica através da via ubiquitina, diminuindo os níveis de *p53* nas células infectadas).

A E6 interfere em outras proteínas pró-apoptóticas, Bak, FADD e procaspase 8, conforme relatos de (GARNETT *et al.*, 2006). O nível de expressão da proteína ErbB2 também é influenciado pela degradação de *p53* e a interferência desta com o complexo E6/E6-AP contribui para a carcinogênese cervical (NARISAWA-SAITO *et al.*, 2007), conforme evidenciado na figura 4.

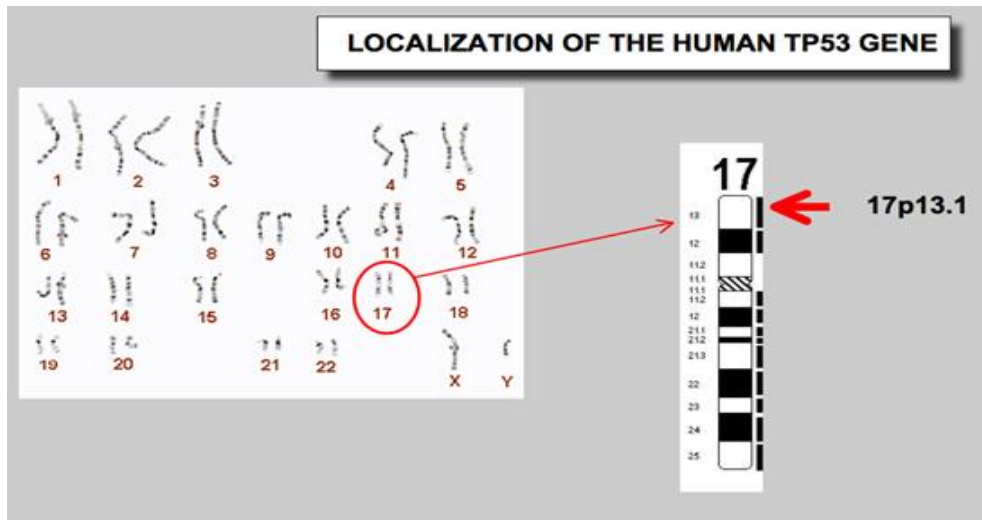


Figura 4 - O gene TP53 está localizado no braço curto do cromossomo 17 na posição 17p13

Fonte : http://p53.free.fr/p53_info/p53_gene.html

A E6 induz à atividade da telomerase, ativando o promotor da telomerase transcriptase reversa (VELDMAN *et al.*, 2003; GARNETT *et al.*, 2006). A telomerase humana é um complexo ribonucleo protéico composto de uma transcriptase catalítica reversa (hTERT) e um componente RNA (hTR). A hTERT é expressa apenas em células específicas da linhagem germinativa, células tronco e células neoplásicas. Alta atividade da telomerase é observada em mais de 85% das células neoplásicas humanas, indicando um papel importante na tumorigênese (PENDINO *et al.*, 2006).

O mesmo autor cita que a imortalização das células é uma das principais características dos tumores malignos. Normalmente as células senescentes entram em apoptose quando um nível crítico de encurtamento dos telômeros é atingido. A maioria das células neoplásicas humanas têm seus telômeros regenerados pela reativação da expressão da telomerase, um processo conhecido como *expressão de novo*, visto que a expressão do gene *TERT*, responsável pela atividade da telomerase é restrita a células-tronco e células germinativas em tecidos não neoplásicos. Outro mecanismo de regeneração de telômeros chamado de via ALT (“*Alternative Lengthening of Telomeres*”) tem merecido considerável atenção, devido ao desenvolvimento de resistência dos tumores a novas drogas terapêuticas, com mecanismo de ação baseado na atividade da telomerase (CHANG *et al.*, 2003).

O modo de ação de pRB e p53 na regulação do ciclo celular sugerem que a inativação ou modulação da atividade destas duas proteínas podem resultar na proliferação celular das células basais, alterando a sua diferenciação, permitindo então a expansão de um “*pool*” de células epiteliais para a replicação de partículas virais.

3.1.5. Epidemiologia do Câncer do Colo do Útero

O câncer do colo do útero é a segunda causa de morte por câncer em mulheres, sendo superado apenas pelo câncer de mama (MUNOZ *et al.*, 2003; SCHIFFMAN *et al.*, 2007; INCA, 2010); Apesar desta neoplasia ser passível de prevenção e curável, principalmente nos estágios iniciais, mais de 234.000 mulheres irão morrer desta doença anualmente, devido a vários fatores, dentre os quais, a falha na detecção das lesões pré-malignas, através de programas de rastreamento citológico cervical (MILLER *et al.*, 2000, INCA, 2010). Em geral, os índices mais baixos de registro de câncer do colo do útero (menores que 15/100.000) são encontrados na Europa (com exceção de alguns países do leste europeu), América do Norte e Japão. Sua ocorrência é cerca de duas vezes maior no Saara (31/100.000), América Latina (33,5/100.000), Caribe (33,5/100.000) e nas regiões Centro-Sul (26,5/100.000) e Sudeste (18,3/100.000) da Ásia (PARKIN & BRAY, 2006).

Os Estados Unidos reduziram as taxas de incidência de 14.2 casos para 7.8 para cada 100.000 mulheres, após implantar programas de rastreamento eficaz. Embora seja ainda o terceiro câncer feminino mais comum, afetando 13.000 mulheres a cada ano, aproximadamente 50% de todas as mulheres com diagnóstico de câncer do colo do útero nunca realizaram um exame citopatológico (SMELTZER, 2005). Estudos de (Yang *et al.*, 2004), demonstraram que o câncer do colo do útero foi o principal tipo de câncer em países em desenvolvimento. Em geral, nestes países têm se observado uma relativa estabilidade ou um modesto declínio da incidência e mortalidade por este tipo de câncer (IARC, 2005).

A ausência de uma maior queda pode ser devido à falta de programas de rastreamento, ou onde estes programas foram implementados, pode ter havido uma baixa cobertura da população ou pouca qualidade no diagnóstico citológico (PARKIN & BRAY, 2006). Porém, em geral, a incidência de câncer do colo do útero tem diminuído sensivelmente em áreas onde são realizados programas de rastreamento para detecção de lesões pré-cancerosas (BASEMAN & KOUTSKY, 2005). A infecção por HPV é condição necessária, porém não é suficiente para o desenvolvimento da lesão intraepitelial de alto grau e do câncer invasivo do colo do útero, uma vez que, para o desenvolvimento, manutenção e progressão das lesões intraepiteliais, faz-se necessária a associação com os outros fatores de risco. Aproximadamente todos os casos de câncer do colo do útero são causados por um dos 13 tipos do HPV atualmente reconhecidos como oncogênicos pela (IARC, 2008).

A transmissão do HPV para o trato genital ocorre através do contato sexual, cerca de 99,7% das neoplasias de colo do útero apresentam DNA do HPV, entretanto apenas 1% das mulheres infectadas por um dos tipos virais oncogênicos apresentam risco para o desenvolvimento do câncer. Desse modo é essencial educar a população quanto à contaminação pelo vírus, enfatizando os métodos preventivos, assim como os comportamentos de risco (NARISAWA-SAITO; KIONO, 2007; WRIGHT, 2009). Os tipos mais comuns de HPV são o HPV16 e o HPV18. Outros fatores que contribuem para a etiologia do câncer do colo do útero são o tabagismo, multiplicidade de parceiros sexuais uso de contraceptivos orais, multiparidade, baixa ingestão de vitaminas, iniciação sexual precoce e co-infecção por agentes infecciosos como o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) e *Chlamydia trachomatis*. (INCA/ MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

O número de casos novos de câncer do colo do útero esperados para o Brasil no ano de 2013 será de 17.540, com um risco estimado de 17 casos a cada 100 mil mulheres. Sem considerar os tumores de pele não melanoma, o câncer do colo do útero é o mais incidente na Região Norte (24/100.000), o segundo nas regiões Centro-Oeste (28/100.000) e Nordeste (18/100.000), além das regiões Sul (14/100.000) e

Sudeste (15/100.000) onde ocupa a terceira posição. A incidência de câncer do colo do útero evidencia-se na faixa etária de 20 a 29 anos e o risco aumenta rapidamente até atingir seu pico, geralmente na faixa etária de 45 a 49 anos, (INCA, 2011), conforme observado na figura 5.

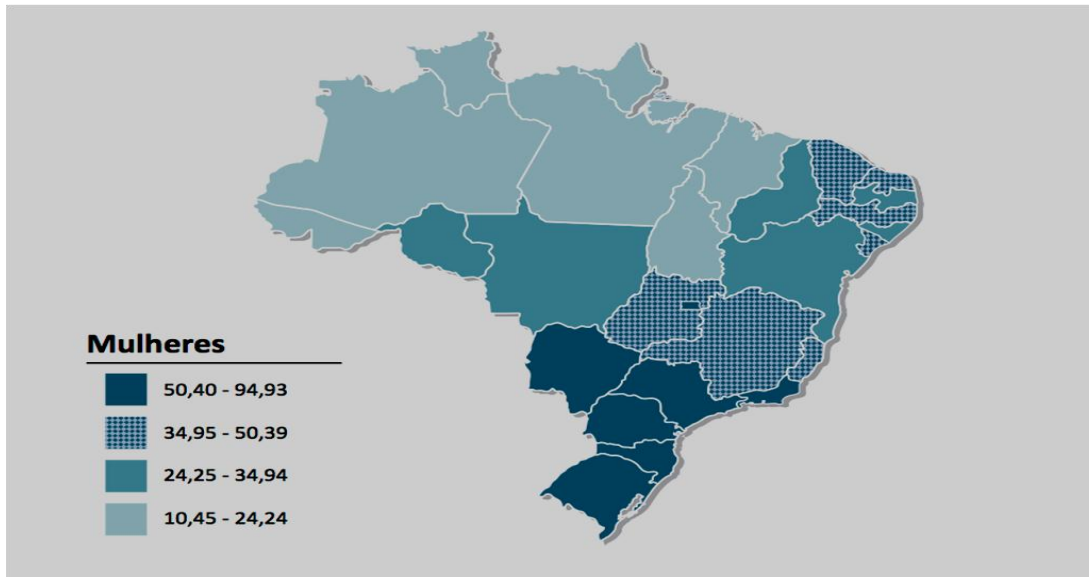


Figura 5 – Representação espacial das taxas brutas de incidência por 100 mil mulheres, estimadas para o ano de 2013, segundo a Unidade da Federação (neoplasia maligna do colo do útero), INCA, 2011.

Na região Norte as estimativas para o ano de 2013 das taxas brutas de incidência por 100.000 e do número de casos novos por câncer, em mulheres, segundo localização primária, o câncer do colo do útero corresponderá a 1.860 casos com a taxa bruta de 23,62. (INCA, 2011)

No Estado do Pará, a estimativa para o ano 2013 refere que as taxas brutas de incidência por 100.000 e do número de casos novos por câncer, em mulheres, segundo localização primária, o câncer do colo do útero no estado será de 810 casos com a taxa bruta 21,21. Na cidade de Belém no ano de 2013 o número de casos de câncer do colo do útero, será de 250 e a taxa bruta corresponderá a 34,10 (INCA 2011).

3.1.6. Vacinas Contra HPV

O reconhecimento da associação entre a infecção pelo HPV e o câncer do colo do útero, na década de 1990, estimulou estudos empenhados no desenvolvimento de

vacinas terapêuticas eficazes contra o vírus (MANSI, 2007; BAYAS, J.M.; COSTAS L.; MUNOZ A., 2008).

Em 1991, Zhou *et al* , mostraram que a proteína recombinante L1 do HPV, expressa em sistemas de modelo animal, tem significada importância na montagem das partículas virais. Estas, quando administradas como um imunógeno, induzem altos títulos de anticorpos neutralizantes no plasma (CHRISTENSEN *et al.* 1994; YUAN *et al.*, 2001; CULP *et al.*, 2007). Por isso, as estratégias atuais para o desenvolvimento seguro e eficaz de vacinas preventivas são baseadas na indução de anticorpos neutralizantes contra as grandes e pequenas proteínas do capsídeo, L1 e L2 do HPV (KIM *et al.*, 2008).

As vacinas foram classificadas como profiláticas e terapêuticas. As vacinas profiláticas evitam a infecção pelo HPV e as doenças a ela associadas e as terapêuticas induzem regressão das lesões pré-cancerosas e remissão do câncer invasivo. As vacinas profiláticas contra o HPV são compostas pela proteína capsídeo L1 do HPV que se auto-reproduz em partículas vírus-like (VPL) quando expressa em sistemas recombinantes, induzem a forte resposta humoral com anticorpos neutralizadores. A eficácia das vacinas feitas com as proteínas E6 e E7 também vem sendo pesquisadas em modelos animais.

A injeção intramuscular da VPL resulta em resposta imunológica adaptativa eficaz para células T e B, que são capazes de neutralizar as infecções naturais subsequentes. A vacina HPV 16 L1 VPL determinou alto índice de proteção contra a infecção persistente pelo HPV 16 e impediu o aparecimento das NIC durante pelo menos 3,5 anos depois da imunização, e a bivalente demonstrou mesma eficácia entre 4 e 5 anos (NADAL; MANZIONE, 2006; MEDEIROS, *et al.*; 2009).

A vacina bivalente, que protege contra os HPV 16 e 18, e a quadrivalente, contra os tipos 6, 11, 16 e 18, tem mostrado redução significativa da incidência de infecções persistentes pelo HPV. A vacina bivalente mostrou eficácia de 91,6% contra infecção incidental e 100% contra as persistentes pelos HPV 16/18. A vacina foi segura, bem

tolerada e altamente imunogênica. Além disso, a análise dessa vacina contra infecção incidental por outros tipos oncogênicos indicou alto grau de proteção contra o HPV 45 e contra o HPV 31, o terceiro e o quarto tipos virais mais comumente associados ao câncer do colo do útero. A vacina quadrivalente que protege contra os tipos oncogênicos e não oncogênicos mais comuns, também conferiu 100% de eficiência para prevenir doenças associadas aos tipos 16 e 18, sugerindo que a vacinação em massa diminuirá o ônus provocado pelas doenças associadas ao HPV (NADAL; MANZIONE, 2006; TRIMBLE; FRAZER, 2009).

A vacina terapêutica tem o objetivo principal de induzir a imunidade celular específica que permita a regressão de lesões estabelecidas e também a regressão de tumores malignos. As vacinas terapêuticas que estão sendo utilizadas tem sido baseadas em vetores, vacinas tumorais e vacinas baseadas em peptídeos. As primeiras que utilizam vetores virais tem na vacina um vírus com grande capacidades de inserção genética e promove a produção de grandes quantidades de proteínas recombinantes (MEDEIROS, *et al.*, 2009).

Em 2006, a Agência de Regulamentação de Medicamentos Food and Drug Administration (FDA) dos EUA e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA/MS) do Brasil, aprovaram para comercialização, uma vacina desenvolvida para a prevenção do câncer de colo de útero e de verrugas genitais. A vacina quadrivalente desenvolvida pela Merck & Co. (Gardasil®), protege contra quatro tipos de HPV (6, 11, 16 e 18); os HPV 16 e 18, são responsáveis por cerca de 70% dos carcinomas cervicais e os HPV 6 e 11, por 90% das verrugas genitais (LOWY & SCHILLER, 2006). Esta vacina é indicada para mulheres entre 9 e 26 anos de idade e consiste na mistura de quatro tipos de VPLs derivadas da proteína L1 do capsídeo dos HPV tipo 6, 11, 16 e 18. Estas VLPs tipo-específicas são geradas em cultura da levedura *Saccharomyces Cerevisae* utilizando tecnologia recombinante.

A vacina quadrivalente é administrada via intramuscular; cada injeção contém 20µg de HPV 6 VPL, 40µg de HPV 11 VLP, 40µg de HPV 16 VLP e 20µg de HPV 18

VPL absorvidas em 225µg do adjuvante hidroxissulfato de alumínio. Esta vacina é administrada em 3 doses durante o período de 6 meses (1º dia, 2º mês e 6º mês) (VILLA, *et al.*, 2005).

Em 2007, Villa, demonstrou nos estudos de fase II / III, 100% de eficácia na administração da vacina quadrivalente em mulheres jovens (16 a 26 anos) contra HPV 16 e HPV 18 relatados em lesões pré-cancerosas, 100% de eficácia contra HPV 16 e HPV 18 relatados em neoplasias vaginais e vulvares de alto grau; 95% de eficácia contra os tipos HPV 6, 11, 16 e 18 de NIC/adenocarcinoma e 99% de eficácia contra os tipos HPV 6, 11, 16 e 18 de lesões genitais, comprovando desta forma, que esta vacina é altamente imunogênica, segura e bem tolerada.

Em 2008, a ANVISA, aprovou a comercialização de outra vacina contra o HPV: a vacina bivalente (Cervarix®, GlaxoSmithKline Biológicos) que protege contra os tipos de HPV 16 e 18, responsáveis por cerca de 70% dos carcinomas cervicais. Esta vacina é indicada para mulheres entre 10 e 25 anos de idade e é composta por VLPs formadas pelas proteínas L1 dos HPVs 16 e 18 obtidas através de sistemas de expressão em células de inseto *Spodoptera Frugiperda*. Cada dose de 0,5ml contém 20µg de HPV 16 L1 e 20µg de HPV 18 L1 em um adjuvante AS04. Este adjuvante é composto por 500µg de hidróxido de alumínio de 50µg de 3-deacilato monofosforil lipídio A (MPL) (GIANNINI, *et al.*, 2006).

As vacinas bivalente e quadrivalente encontram-se disponíveis para consumo e podem reduzir a incidência de todos os carcinomas cervicais, entretanto a ação só é efetiva se aplicadas antes do início das atividades sexuais (FRANCESCHI, 2009). Estas vacinas não tem efeito em quem já possui lesões provocadas pelos tipos virais imunizáveis e podem ser usadas em mulheres imunodeprimidas, no entanto ainda é desconhecida a circunstância específica de imunodepressão que possa alterar a imunogenicidade da vacina. Podem ser também utilizadas em nutrízes, entretanto são contra-indicadas durante a gravidez (TORNÉ, *et al.*, 2008).

A via de administração das vacinas é a intramuscular sendo a bivalente administrada na região deltoideana nos meses 0, 1 e 6 enquanto que a quadrivalente utiliza a mesma região anatômica, entretanto o aprazamento é feito nos meses 2 e 6 após a dose inicial (MARKOWITZ *et al.*, 2007). A vacinação contra o HPV não substitui o rastreamento de rotina para o câncer cervical conforme recomendado pela OMS.

Ensaio clínico demonstram que as vacinas contra o HPV podem ser utilizadas em homens (BROOMALL *et al.*, 2010). O FDA, órgão norte americano liberou desde outubro de 2009 a aplicação da vacina em homens entre 9 e 26 anos de idade, que ainda não tenham iniciado a vida sexual ou tido contato com os tipos virais envolvidos na imunização. No Brasil até o momento a ANVISA não liberou o uso da vacina (CDC, 2010). Para as pessoas já contaminadas pelos tipos virais de HPV, resta aguardar pela vacina terapêutica, que permanece em avaliação com ensaios clínicos e cujos estudos sorológicos demonstram que a imunização persiste (MARKOWITZ, *et al.*, 2007).

3.1.7 Papel do Enfermeiro

A intervenção eficiente do enfermeiro, no que diz respeito à prevenção da doença pode mudar o panorama referente às taxas de morbimortalidade por câncer do colo do útero. Os enfermeiros tem papel fundamental no combate e controle deste tipo de neoplasia. Sua contribuição na detecção dos fatores de risco, no diagnóstico precoce e na viabilização do tratamento imediato quando do diagnóstico são fundamentais para aumentar a possibilidade de cura, bem como melhorar a qualidade de vida e a sobrevivência das mulheres diminuindo, assim, a mortalidade feminina (CARVALHO & TONANI, 2005)

A coleta da citologia oncológica, incorporada como uma atividade diária na prática do enfermeiro, colabora com a aplicação da oferta de exames sem perda da qualidade. Nesse sentido o Conselho Federal de Enfermagem (COFEN), instituiu a Resolução nº 381 / 2011, tornando função privativa do enfermeiro a coleta do exame citopatológico, tal resolução entrou em vigor em 18 de outubro de 2012.

O enfermeiro como componente da equipe multiprofissional e agente de educação para a saúde, deve atuar na integração do paciente, família e comunidade em prol da promoção da saúde, ressaltando os fatores de risco do câncer e as medidas de prevenção de forma integral e participativa, (BRASIL, 2006)

4. OBJETIVOS

4. 1. GERAL

Identificar a prevalência da infecção pelo HPV e subtipos em pacientes com câncer do colo do útero, atendidas no Hospital Ophir Loyola na cidade de Belém – Pa.

4. 2. ESPECIFICOS

- Estimar a prevalência da infecção pelo HPV em mulheres com câncer do colo do útero;
- Avaliar a prevalência da infecção pelos subtipos de HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 52 e 58 em mulheres com câncer do colo do útero;
- Investigar as possíveis associações existentes entre a infecção genital pelo HPV e fatores sócio-demográficos, comportamentais, sexuais, contraceptivos, reprodutivos e clínico-ginecológicos selecionados;
- Traçar o perfil epidemiológico das mulheres estudadas;

5. MATERIAL E MÉTODO

5.1. TIPO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo prospectivo descritivo com abordagem quantitativa, que buscou analisar a prevalência da infecção pelo HPV e dos subtipos em pacientes com câncer do colo do útero atendidas no HOL.

5.2. LOCAL DA PESQUISA

A pesquisa foi realizada no Hospital Ophir Loyola, cuja fundação data de 06 de outubro de 1912. Inicialmente denominado de Instituto de Proteção e Assistência à Infância do Pará, entidade privada e filantrópica, mantida com a ajuda de vários médicos e verbas adquiridas através de mensalidade e doações, com a finalidade de prestar assistência materno-infantil (HAYASHI *et al.*, 1998; MARTINS, 2006).

5.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA

O estudo foi realizado com 37 mulheres, diagnosticadas com câncer do colo do útero e idade a partir de 18 anos, no período de julho a novembro de 2012.

5.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Mulheres com diagnóstico de câncer do colo do útero confirmado pelo exame histopatológico, admitidas para cirurgia de Histerectomia, maiores de 18 anos que aceitaram participar da pesquisa e assinaram o TCLE..

5.5. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Mulheres submetidas à Histerectomia por outras patologias, e que apresentaram problemas cognitivos e dificuldades de verbalização.

5.6 INSTRUMENTO E ESTRATÉGIAS PARA COLETA DE DADOS

A pesquisa foi realizada após o aceite da Instituição e a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Núcleo de Medicina Tropical – UFPA.

Os dados da pesquisa foram coletados através de um formulário estruturado (Apêndice B) e coleta de material biológico.

1ª Fase:

A pesquisadora entrou em contato com a família da paciente para obter informações acerca do conhecimento desta sobre o diagnóstico médico e em caso positivo entrou em contato com a paciente que estava internada na enfermaria de Ginecologia para ser submetida à Cirurgia de Histerectomia. Nesta ocasião ela foi conduzida a outro ambiente onde foi convidada a participar da pesquisa, recebendo explicações sobre os objetivos, relevância e todos os procedimentos metodológicos, além de seus direitos enquanto sujeito da pesquisa. Após a aceitação, foi apresentado o TCLE e solicitado a sua assinatura. Em seguida foi preenchido o formulário com as seguintes variáveis de estudo: idade de início da atividade sexual, nº de parceiros, uso de anticoncepcional oral, paridade, Tabagismo e história familiar de câncer.

2ª Fase:

A pesquisadora esteve presente em todos os procedimentos cirúrgicos, e durante a ocorrência destes, foi colhido um fragmento de 0,5cm do tumor pelo cirurgião, que imediatamente foi colocado em um microtubo previamente identificado e acondicionado em caixa térmica com gelo. Após o término da cirurgia foi transportado pela própria pesquisadora ao Laboratório de Imunologia do Núcleo de Medicina Tropical da UFPA, onde foi congelado a 20° negativos para posterior análise da DNA.

5.7 - ASPECTOS ÉTICOS

O projeto foi aprovado no Comitê de Ética, em pesquisa no Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará – UFPA sob o protocolo nº 31465; datado de 30/05/2012.

5.8. EXTRAÇÃO DO DNA DAS AMOSTRAS TUMORAIS

Para obtenção de DNA dos fragmentos tumorais, os fragmentos foram submetidos à digestão por proteinase K por 12 horas. Em seguida o sobrenadante foi transferido para a coluna do kit GFX (GE Health Care) para isolamento do DNA, de acordo com as especificações do fabricante. Todas as amostras foram testadas quanto à qualidade. Para isso os DNAs foram visualizados em gel de agarose a 1% em TBE, verificando sua integridade. Outro teste PCR foi realizado para detecção de β -globina, um gene constitutivo, para verificar se há algum inibidor de reação de PCR. Devido a ocorrência de problemas na extração do DNA algumas amostras foram re-extraídas.

5.9 PCR PARA DETECÇÃO E SUBTIPAGEM DO HPV

Para pesquisa de HPV foram utilizados 2 procedimentos de PCR: o primeiro para a detecção e o segundo para a tipagem. Para controle da extração foi utilizado um par de oligos iniciadores que amplificam o gene da globina (a presença da globina atesta a qualidade da amostra, ou seja, existe DNA adequado para a PCR). Para pesquisa de HPV foram utilizados 2 procedimentos de PCR: PCR 1 para a detecção do DNA viral e PCR 2 para a tipagem. As amostras positivas para HPV foram tipadas para os vírus dos tipos 6, 11, 16,18.

- PCR 1: para cada reação foram utilizados 100ng de DNA em 20 μ L de tampão composto por 20 mM Tris-HCL (pH 8.4 ou 8.6), 0,25-1.5mM MgCl₂, 50 mM KCl, 0.02mM dNTP, 200 nM de oligos, MY9 e MY11 (específicos para detecção de HPV)-colocado referência e 0,25 unidades de Taq polimerase. A reação foi de um ciclo de desnaturação inicial de 94°C por 5 minutos, e 35 ciclos da amplificação de PCR foram executados. Cada ciclo consiste em 94°C por 30 segundos, 56°C por 30 segundos e 72°C por 30 segundos. A extensão final ocorreu à 72°C por 5 minutos. Em seguida as amostras foram submetidas a eletroforese em gel de agarose a 1% em TBE. As amostras positivas apresentaram uma banda de 440 pb.

- PCR 2: foi feita por PCR em tempo real, e foram utilizados óligos LUX específicos e kit Platinum® qPCRSuperMix-UDG (Invitrogen). Para cada amostra foi utilizado 0,1µg de DNA, 200 nM de cada oligo iniciador, 0,1µL de ROX Dye, 10 µL de tampão de reação e água Milli Q autoclavada qsp 20 µL. foram executados 40 ciclos de 95°C por 30 segundos e 60°C por 30 segundo. Ao final foi realizado o protocolo de dissociação térmica, para controle de qualidade da reação. Os resultados foram analisados pelo ABI 7000 SDS software.

6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram compilados no software Excel[®] utilizando sua planilha eletrônica para armazenamento. Para análise estatística foi utilizado o Bio Estat 5.0. Os dados estão apresentados em tabelas de freqüência. O teste qui-quadrado foi utilizado para comparação de variáveis nominais e ordinais.

7. RESULTADOS

Foram estudadas 37 amostras provenientes de pacientes submetidas à cirurgia para a retirada de câncer do colo do útero no Hospital Ophir Loyola.

A idade das pacientes variou de 23 a 84 anos, com média de 46,35 e mediana de 43 anos. A maioria dessas mulheres era casada ou em união estável (81,08%) e o nível de escolaridade, em geral, era analfabeta / ensino fundamental incompleto (64, 865) (Tabela 1).

Tabela 1. Características sociodemográficas das 37 mulheres com câncer do colo do útero, submetidas à cirurgia no Hospital Ophir Loyola.

Variáveis	n (N=37)	%	Média ± DP	Mediana
Idade				
Até 45 anos	23	62,16	46.35± 14,6	43 anos
Acima de 45 anos	14	37,84		
Situação conjugal				
Solteira/ Separada/Divorciada/viúva	7	18,92		
Casada/União estável	30	81,08		
Nível de escolaridade				
Analfabeta/Fundamental incompleto	24	64,86		
Fundamental completo/Médio incompleto	6	16,22		
Médio completo/Superior incompleto	7	18,92		

DP = Desvio Padrão.

A grande maioria das mulheres admitiu ter fumando em algum momento da vida (64,86%), entretanto apenas um ainda fuma atualmente. Quanto ao uso de álcool, também a grande maioria fez uso em algum momento da vida (73%) e 24,32% ainda fazem uso atualmente (Tabela 2).

Tabela 2. Características comportamentais em relação ao tabagismo e uso de álcool das 37 mulheres com câncer do colo do útero submetidas à cirurgia no Hospital Ophir Loyola

Variável	n (N=37)	%	Média ± DP	Mediana
Tabagismo na vida				
Sim	24	64,86		
Não	13	35,14		
Idade de início			17,7±4,2 anos	17 anos
Tabagismo Atual				
Sim	1	2,7		
Não	36	97,3		
Álcool na vida				
Sim	27	73,0		
Não	10	27,0		
Álcool atual				
Sim	9	24,32		
Não	28	75,68		

Com relação ao comportamento sexual, nota-se que a grande maioria realizou sua primeira relação sexual após 15 anos (72%), tendo em média 17,5 anos e mediana de 17 anos. O número de parceiros sexuais na vida foi em sua maioria de 1 a 2 parceiros (59,45%), sendo que poucas relataram ter se relacionado sexualmente no último ano e em menor frequência a relação com parceiros novos (Tabela 3).

Tabela 3. Características comportamentais sexuais das 37 mulheres com câncer do colo do útero submetidas à cirurgia no Hospital Ophir Loyola.

Variável	n (N=37)	%	Média DP	±	Mediana
Coitarca					
≤ 15 anos	10	27,02	17,5±	2,9	17 anos
> 15 anos	27	72,98			
Nº de parceiros sexuais na vida					
1 a 2 parceiros	22	59,45	3,7±	3,9	2 parceiros
3 a 4 parceiros	6	16,23			
≥ 5 parceiros	8	21,62			
Não declarou	1	2,70			
Nº de parceiros no último ano					
Nenhum	13	35,15			
1 parceiro	3	8,09	0,9±	0,2	1 parceiro
Não declarou	21	56,76			
Nº de parceiros novos no último ano					
Nenhum	19	51,35			
1 parceiro	2	5,41			
Não declarou	16	43,24			

DP = Desvio Padrão.

O histórico reprodutivo destas mulheres revelou que a maioria nunca usou anticoncepcional na vida (67,56%). Entretanto a grande maioria utilizou camisinha em algum momento da vida, porém de forma não regular. Quase a metade destas mulheres teve mais de 5 filhos, tendo sua primeira gravidez em média com 17,6 anos e mediana de 18 anos (Tabela 4).

Tabela 4. Características do uso de métodos contraceptivos das 37 mulheres com câncer do colo do útero submetidas à cirurgia no Hospital Ophir Loyola.

Variável	n (N=37)	%	Média ± DP	Mediana
Pílula na vida				
Sim	12	32,43		
Não	25	67,56		
Idade de início			21,4± 2,8 anos	20 anos
Tempo de uso			2,7± 4 anos	1 ano
Uso de camisinha na vida				
Sim	30	81,08		
Não	7	18,92		
Frequência de uso da camisinha				
Às vezes	30	81,08		
Nunca	7	18,92		
Nº de Filhos				
0 a 2	7	18,91		
3 a 4	14	37,83		
≥5	16	43,24		
Idade na 1ª gravidez			17,6± 4,1 anos	18 anos

DP = Desvio Padrão.

Em relação a realização de PCCU, todas as mulheres fizeram pelo menos uma vez na vida o exame, sendo que a grande maioria realizou mais de duas vezes (70,28%) (Tabela 5).

Tabela 5. Características ginecológicas das 37 mulheres com câncer do colo do útero submetidas à cirurgia no Hospital Ophir Loyola

Variável	n (N=37)	%
PCCU na vida		
Sim	37	100
Não	0	0
Nº de PCCU		
1 a 2 vezes	11	29,72
> 2	26	70,28
DST		
Sim	8	21,62
Não	29	78,38

Das 37 amostras analisadas para a presença do DNA do HPV, 36 foram positivas (97,3%). Apenas uma não apresentou banda pela técnica de PCR.

As amostras foram tipadas para 9 tipos de HPV, sendo 7 de alto risco e 2 de baixo risco.

Os resultados mostrados na Tabela 6 evidenciam que a grande maioria, 48,6%, apresentou o subtipo HPV16, seguido pelo subtipo HPV31 (18,9%). Os subtipos de baixo risco, HPV6 e 11, não foram encontrados. O que podemos também perceber é que há outros subtipos de HPV que não foram contemplados e que também estão circulando nesta região, pois dez amostras não apresentaram nenhum dos subtipos testados (Tabela 6). Das amostras que tiveram múltiplas infecções pode-se citar que uma amostra era positiva para o subtipo HPV16 e 52. Duas amostras eram positivas para subtipos HPV16 e 31. Outra era positiva para os subtipos HPV33 e 52. Outra

amostra era positiva para subtipos HPV16 e HPV58. E finalmente, uma amostra positiva para subtipos HPV18 e 58.

Tabela 6. Subtipagem das amostras positivas para HPV (36/37)

Subtipo HPV	Ocorrências	%
16	18	48,6
18	1	2,7
31	7	18,9
33	1	2,7
52	2	5,4
58	4	10,8
6, 11, 35	0	0,0
Múltiplas infecções	6	16,2
Outros subtipos	10	27

Para as seguintes análises dos fatores de risco, as amostras foram divididas em 2 grupos, mulheres até 45 anos e acima de 45 anos.

Com relação às variáveis sócio - demográficas, a situação conjugal mostrou predomínio de mulheres casadas ou em união estável e com baixa escolaridade (analfabeta/fundamental incompleto). Porém nas mulheres até 45 anos, uma porcentagem chegou ao ensino médio completo/ superior incompleto (26,1%), apesar de não ser estatisticamente significativo (Tabela 7).

Tabela 7. Análise dos fatores de risco sociodemográficos para infecção pelo HPV segundo as diferentes faixas etárias da amostra geral.

Variáveis	Faixa Etária			
	Até 45 anos (n=23)		Acima de 45 anos (n=14)	
	n	%	n	%
Situação conjugal				
Solteira/Separada/Viúva	4	17,4	3	21,4
Casada/União Estável	19	82,6	11	78,6
p-valor= 0,9997				
Escolaridade				
Analfabeta/Fundamental incompleto	13	56,5	11	78,6
Fundamental completo/Médio incompleto	4	17,4	2	14,3
Médio completo/Superior incompleto	6	26,1	1	7,1
Superior completo	0	0	0	
p-valor= 0,4723				

A variável tabagismo mostrou que a grande maioria das mulheres acima de 45 anos fizeram uso de cigarro, enquanto que em mulheres até 45 anos, a metade também fez uso. Entretanto, praticamente todas não fumam atualmente (Tabela 8).

Em relação ao uso do álcool, a relação foi inversa. As mulheres até 45 anos fizeram uso em sua grande maioria (87%), enquanto que nas mulheres acima de 45 anos, a porcentagem foi de 50%, sendo estatisticamente significativo ($p=0,0230$). Em sua maioria, as mulheres relataram não ingerir álcool atualmente nos dois grupos (Tabela 8).

Tabela 8. Análise dos fatores de risco tabagismo e uso de álcool para infecção pelo HPV segundo as diferentes faixas etárias da amostra geral.

Variáveis	Faixa Etária			
	Até 45 anos (n=23)		Acima de 45 anos (n=14)	
	n	%	n	%
Tabagismo				
Sim	12	52,2	12	85,7
Não	11	47,8	2	14,3
OR p (IC 95%) p-valor= 0,0740				
Tabagismo atual				
Sim	1	4,3	0	0
Não	22	95,7	14	100
p-valor= 1,000				
Álcool na vida				
Sim	20	87	7	50
Não	3	13	7	50
p-valor= 0,0230*				
Álcool atual				
Sim	7	30,4	2	14,3
Não	16	69,6	10	71,4
Não declarou	0	0	2	14,3
p-valor= 0,4496				

Verifica-se em relação ao uso de preservativo, que os dois grupos apresentaram comportamentos diferentes, onde mulheres até 45 anos, em sua maioria fizeram uso (87%), enquanto mulheres acima de 45 anos, em sua grande maioria não utilizaram preservativo durante a vida (64,3%), sendo estatisticamente significativa ($p=0,0011$). Porém o que foi comum, é que as mulheres nos dois grupos, mesmo usando preservativo, este era de forma irregular, se expondo ao risco de contaminação. O uso

de anticoncepcional foi mais evidente em mulheres até 45 anos. Sendo que atualmente, nenhuma fazia uso de contraceptivo oral (Tabela 9).

Tabela 9. Análise dos fatores de risco contraceptivos para infecção pelo HPV segundo as diferentes faixas etárias da amostra geral.

Variáveis	Faixa Etária			
	Até 45 anos (n=23)		Acima de 45 anos (n=14)	
	n	%	n	%
Preservativos na vida				
Sim	20	87	4	28,6
Não	3	13	9	64,3
Não declarou	0	0	1	7,1
p-valor= 0,0011*				
Preservativo uso				
Nunca/às vezes	22	96	11	78,6
Regularmente	1	4	0	0
Não declarou	0	0	3	21,4
p-valor= 1,00				
Anticoncepcional oral na vida				
Sim	13	56,5	4	28,6
Não	10	43,5	10	71,4
p-valor= 0,1734				
Anticoncepcional oral atual				
Sim	0	0	0	0
Não	23	100	14	100
p-valor= -				

O comportamento sexual destas mulheres mostrou que em sua grande maioria, nos dois grupos, tiveram sua primeira relação sexual após 15 anos. Em relação ao número de parceiros predominou o número de um a dois nos dois grupos. Porém, destaca -se que em mulheres até 45 anos, 30,4% tiveram mais de 5 parceiros (Tabela 10).

Tabela 10. Análise dos fatores de risco de comportamento sexual para infecção pelo HPV segundo as diferentes faixas etárias da amostra geral.

Variáveis	Faixa Etária			
	Até 45 anos (n=23)		Acima de 45 anos (n=14)	
	n	%	n	%
Coitarca				
Menor ou igual a 15 anos	6	26	4	28,6
Maior que 15 anos	17	74	10	71,4
p-valor= 0,9998				
Nº de parceiros sexuais durante a vida				
1 a 2 parceiros	13	56,5	9	64,3
3 a 4 parceiros	2	8,7	4	28,6
≥ 5 parceiros	7	30,4	1	7,1
Não declarou	1	4,4	0	
p-valor= 0,0963				

As mulheres até 45 anos realizaram o exame de PCCU com maior frequência do que as mulheres acima de 45 anos. As mulheres nos dois grupos relataram não ter histórico de DST em sua grande maioria (Tabela 11).

Tabela 11. Análise dos fatores de risco ginecológicos para infecção pelo HPV segundo as diferentes faixas etárias da amostra geral.

Variáveis	Faixa Etária			
	Até 45 anos (n=23)		Acima de 45 anos (n=14)	
	n	%	n	%
Nº de PCCU				
1 a 2 vezes	5	21,7	7	50
> 2	18	78,3	7	50
p= 0,1459				
História de DST				
Sim	6	26,1	2	14,4
Não	17	73,1	12	85,6
p-valor= 0,4532				

8. DISCUSSÃO

A caracterização da amostra estudada mostra que as mulheres acometidas pelo câncer do colo do útero, em sua maioria, tinha idade até 45 anos (mediana=43 anos), eram casadas e com baixa escolaridade. (Duavy, 2007) enfatiza que a faixa de idade para detecção precoce é de 20 aos 29 anos, período que corresponde ao pico de incidência das lesões precursoras da doença e antecedente ao pico de mortalidade por câncer, o que corrobora com os dados da pesquisa. Estudos de (Silva et al, 2005; Longato Filho et al, 2009), ressaltam que a faixa etária mais acometida de câncer do colo do útero situa-se entre 25 e 60 anos, entretanto referem, que mulheres de faixa etária inferiores constituem uma população de alta vulnerabilidade para este agravo na medida em que o início da vida sexual as aproxima de problemas de saúde da esfera reprodutiva e sexual.

Esses dados são relevantes, visto que se compatibilizam com os identificados no estudo. Tais achados coincidem com a pesquisa, pois (BRASIL, 2011) afirma que a incidência do câncer do colo do útero manifesta-se a partir da faixa etária de 20 a 29 anos, aumentando seu risco rapidamente até atingir o pico etário entre 50 e 60anos. Estudo analítico de dados secundários realizados no setor de registro hospitalar de câncer no período de 2000 a 2005 no Espírito Santo revela que a idade media das mulheres no momento do diagnostico foi de 53 anos o que corrobora com as atuais recomendações para a realização do exame citopatologico que preconiza a faixa etária de 25 a 64 anos de idade segundo (BRASIL, 2011).

Estudo epidemiológico observacional de delineamento transversal, desenvolvido no ambulatório materno infantil da Universidade do Sul de Santa Catarina envolvendo 67, prontuários, concluiu que a media de idade das mulheres variou de 33 a 58 anos, culminando com o acometimento de lesões pre-invasoras conforme relatam (Calazan; Ferreira 2008). Pesquisa realizada em uma Universidade Publica do Rio de Janeiro no Ambulatório de Patologia Cervical envolvendo 120 mulheres com diagnóstico de lesões precursoras de câncer do colo do útero, evidenciou que a idade das mulheres situou-se entre 36 e 45 anos, com pico entre 46 e 55 anos e declínio a partir dos 56 anos o que

demonstra que mulheres jovens apresentam grandes possibilidades de remissão espontânea de lesões precursoras do câncer.

A variável, relacionada ao nível de escolaridade (tabela 1) demonstrou que as portadoras de câncer do colo do útero são analfabetas ou cursaram apenas o ensino fundamental. Este resultado corrobora com o estudo realizado no Espírito Santo no período de 2000 a 2005, onde foi detectado que mulheres analfabetas e com ensino fundamental representam 70,9% da amostra de mulheres acometidas pelo câncer do colo do útero. Dados de uma revisão sistemática sobre a falta de adesão ao tratamento de lesões precursoras do câncer do colo do útero também esteve associado à baixa escolaridade, segundo (Martins; Thuler; Valente 2005). Resultados encontrados por (Umezulike; Tabanso; Ewunonce; Nwana, 2007) reforçam que a incidência do câncer do colo do útero é mais freqüente em mulheres de classes sociais mais baixas e com menor nível de escolaridade, o que vem confirmar os achados deste estudo.

Para (Leite et al, 2010) mulheres com baixo grau de instrução apresentam risco aumentado de desenvolver câncer do colo do útero e enfatizam que quanto menor o grau de instrução, maior o risco do diagnóstico avançado desses tumores. (Calazan; Ferreira, 2008) num estudo realizado no Rio de Janeiro referem que independente do nível de instrução a maioria das mulheres estudadas foram diagnosticadas em estádios avançados da doença, ressaltam ainda que a grande proporção de mulheres com ensino fundamental incompleto pode contribuir para o diagnóstico tardio da doença, gerando como consequência recidivas, metástases e óbitos.

Com relação à situação conjugal (tabela1) foi evidenciada a predominância de mulheres casadas e em união estável para o acometimento desta neoplasia num total de 30 mulheres (81,08%). Pesquisa realizada por (Rama et al, 2008) confirma a hipótese de que mulheres casadas ou em união consensual ficam mais expostas às doenças sexualmente transmissíveis, pois dentro de um padrão de confiabilidade e segurança ao seu parceiro, desfazem-se do ato de se prevenir, tornando-se alvo fácil

do vírus HPV que associado a outros fatores de risco desencadeiam o câncer do colo do útero.

Analisando a tabela 2, com referencia ao tabagismo, (Soares, 2010; Martins et al, 2007), enfatizam que nas mulheres fumantes ocorre diminuição na vigilância imunológica celular, o que se compatibiliza com os dados encontrados na pesquisa. Estudos de (Rama,2006; Brasil, 2006; Bezerra 2005), reforçam a associação do hábito de fumar com a persistência das lesões cervicais. (Wriglet, 2009), refere que o tabagismo diminui significativamente a quantidade e função das células de Langerhans, as quais são responsáveis pela ativação da imunidade celular local contra o HPV, contribuindo para um mecanismo de imunossupressão. Estes dados confirmam os achados da pesquisa pois 64,86% das mulheres pesquisadas são fumantes.

Estudo retrospectivo de caso – controle realizado com 32 pacientes atendidos no Serviço de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (2007) consideraram estatisticamente validas as associações entre o habito de fumar, presença de DST além de HPV e não utilização de preservativos com a persistência da lesão cervical. Quanto ao hábito etílico, este estudo mostrou que 27 portadoras do câncer do colo do útero eram adeptas de tal pratica. (Bezerra, 2005), afirma que mulheres que fazem uso de substancia etílica apresentam alterações celulares e que quando questionadas se sentem constrangidas, o que pode contribuir para dados não fidedignos, tal estudo vem confirmar os dados encontrados na pesquisa. A análise de seis estudos importantes mostrou que mulheres habitadas a ingerir de dois a cinco drinques por dia apresentaram probabilidade 40% maior de desenvolver câncer.

(Conway, 2008) ressalta que estudos epidemiológicos demonstraram que além dos fatores de risco reconhecidos como tabagismo e alcoolismo, permanece o efeito residual das condições sociais do risco de câncer. Segundo o autor, isto ocorre em decorrência da influencia de outros fatores mediadores das condições em câncer, não completamente explorados nos estudos.(Marshall; Freudenhein, 2006), comentam que o consumo excessivo de bebidas alcoólicas está relacionado com a maior ocorrência de

alguns tumores, entretanto, a avaliação do efeito isolado do álcool é difícil, por sua ligação com outros fatores de risco.

Quanto ao comportamento sexual, as mulheres deste estudo apresentaram, em sua maioria coitarca posterior a 15 anos, com mediana de 17 anos. Comparando este estudo com a pesquisa de (Martins et al, 2007) sobre um programa de rastreamento que compatibilizou a associação de início da atividade sexual, os sujeitos estudados referiram atividade sexual entre 14 e 20 anos. A literatura enfatiza que o início precoce da atividade sexual torna as mulheres vulneráveis para a aquisição do HPV, relacionando tal fato nas mulheres jovens com o período pós-menarca pela presença de células indiferenciadas na cérvix levando a diminuição do muco cervical que constitui uma barreira protetora de agentes infecciosos.

Desse modo torna-se evidente a maior vulnerabilidade das adolescentes para as doenças sexualmente transmissíveis. Para (Bezerra et al, 2005) a ocorrência de lesão precursora de câncer do colo do útero se deve à iniciação sexual precoce na adolescência. Enquanto que (Lima; Palmeira; Cipolotti, 2008), em estudo epidemiológico realizado reforçam que há uma importante associação entre a atividade sexual e o aparecimento de lesões cancerígenas. Estudos realizados em Sergipe nos anos de 2006 e 2008 demonstraram que se o início da atividade sexual ocorrer antes dos 16 anos, o risco de câncer é duplamente aumentado se comparados com mulheres que tiveram sua iniciação sexual após os 20 anos de idade.

Ainda na tabela 3, evidencia-se que das mulheres pesquisadas 59,45% (22/37) referiram ter tido de um a dois parceiros na vida, quanto ao número de parceiros no último ano 35,15% (13/37) mulheres posicionaram-se positivamente enquanto que 51,35 (19/37) mulheres relataram não terem tido parceiros novos no último ano. Para (Gama et al, 2008), as mulheres com dois ou mais parceiros apresentam maior probabilidade de infecção do que as mulheres monogâmicas, isto se compatibiliza com os dados encontrados nesta pesquisa. (Martins et al, 2007), relatam que o número de parceiros sexuais está associado ao aumento dos números de casos de câncer do colo

do útero e também de lesões pré-malignas. Estudos de caso- controle realizados no México comprovam a forte associação deste fator de risco com os casos de neoplasia já instalados, (Hernandez et al, 2007).

A literatura relata a tendência de mulheres sem parceiros fixos apresentarem predisposição para o desenvolvimento do câncer do colo do útero pela multiplicidade de parceiros sexuais; isto é reforçado por (Hammouda et al, 2005), quando enfocam que as mulheres com múltiplos parceiros sexuais estão mais predispostas a desenvolver este tipo de agravo. Em relação aos métodos contraceptivos, verificou-se que a maioria não fez uso de anticoncepcional oral, utilizando o preservativo. Porém, este uso, em termos de proteção foi prejudicado, pois todas que utilizaram relataram não fazer uso em todas as relações. A positividade para o DNA do HPV foi detectada em 36 das 37 amostras analisadas. O que está de acordo com a literatura. O DNA do HPV foi encontrado em 77% a 94% das neoplasias intra-epiteliais (NIC) e em 99% dos carcinomas invasivos segundo (CAVALCANTI et al, 2000; DE SOUZA, 2004).

Em relação às tipagens notou-se o predomínio do HPV 16, como em outros estudos realizados pelo mundo. Mostrou-se a circulação de outros HPVs de alto risco, com destaque para o HPV 31 e 58. O HPV 18, outro de grande importância, para esta população, teve sua detecção menor do que esperado.

No mundo, o subtipo HPV16, sozinho é responsável pelo desenvolvimento de 58,9% dos cânceres do colo do útero sendo, portanto, o mais prevalente nestas lesões conforme (WHEELER et al, ZHENG; BACKER et al, 2006; SMITH et al, 2007; INCA 2011). O exame PCCU foi realizado por todas as mulheres neste estudo. Sendo que a maioria (70,28%) realizou mais de 2 vezes na vida. Estudos de base populacional realizados no, Rio Grande do Sul, São Paulo e Florianópolis, enfatizam que os principais motivos encontrados para a não realização do exame citopatológico estão associados aos fatores demográficos, socioeconômicos e de dificuldade de acesso aos serviços de saúde, segundo (HACKEN HAAR; CESAR; DOMINGUES; AMORIM et al, 2006; MULLER et al, 2008; BRASIL, 2010).

A realização periódica do exame citopatológico continua sendo a estratégia mais adotada para o rastreamento do câncer do colo do útero, o que significa que este exame constitui o componente mais importante no âmbito da atenção primária em saúde para que se obtenha significativa redução da incidência e da mortalidade por essa neoplasia. É consenso na literatura que o rastreamento organizado desse agravo constitui o desafio a ser vencido para o melhor estabelecimento da relação custo-benefício que contemple a cobertura populacional, segundo (ADAB et al, 2004; ANTTILA et al; NICULA et al; 2009).

Isso nos remete ao fato de que pela ausência de programas de rastreamento de câncer do colo do útero no Brasil, não há um sistema de controle, nem periodicidade com que as mulheres o realizam. Segundo dados do (INCA, 2011), devido a ocorrência de exames citopatológicos falso negativos e insatisfatórios, estuda-se a opção de realizar a citologia em base líquida como técnica alternativa ao teste de Papanicolau, com testagem adicional para detecção de DNA-HPV no líquido remanescente. Entretanto metanálise de (Arbyn et al, 2009) comprovou em estudo controlado, que essa técnica, além de onerosa, não é mais sensível ou mais específica que a citologia convencional; inclusive ensaios clínicos randomizados apontaram que não há diferença nas taxas de incidência e mortalidade por câncer do colo do útero, quando o rastreio é realizado pela citologia convencional conforme estudos de (KITCHNER et al, 2010; ANTTILA et al, 2011).

Dividindo as mulheres em dois grupos por idade, uma até 45 anos e outro acima de 45 anos, pode-se verificar algumas diferenças relativas a gerações. Nota-se que a parte sociodemográfica não diferiu muito entre os grupos. Porém, em relação ao comportamento frente ao fumo, verifica-se que as mulheres acima de 45 anos fumavam mais que as mulheres com até 45 anos. O inverso pode ser visto em relação ao etilismo, no qual as mulheres até 45 anos fazem mais uso de álcool. O uso de preservativo e anticoncepcional ocorreu mais entre as mulheres com até 45 anos, sendo o uso de preservativo significativo estatisticamente. O comportamento sexual destes dois grupos não diferiu. A maioria realizou a coitarca com mais de 15 anos, e o

número de parceiros ficou entre um a dois parceiros. Entretanto, vale ressaltar que nas mulheres com até 45 anos, verificou-se maior número de casos naquelas que tiveram mais de 5 parceiros na vida.

Em relação à realização de PCCU, houve maior porcentagem de mulheres até 45 anos que realizaram mais de dois exames citopatológicos na vida, porém não foi significativa estatisticamente.

9. CONCLUSÃO

- A prevalência de HPV nas amostras pesquisadas para câncer do colo do útero foi de 97,3%, com 48,6% de prevalência para o HPV16 e 10,8 % de prevalência para o HPV 58.
- Em relação à associação existente entre a infecção genital pelo HPV e as características clinico- ginecológicas selecionadas, as pacientes em sua maioria apresentaram coitarca após os 15 anos de idade, tiveram de 1 a 2 parceiros sexuais na vida e baixo nível de escolaridade.
- Dividindo as mulheres em dois grupos segundo a idade, não houve diferença entre os grupos, a não ser pelo uso de preservativo, o qual foi maior em mulheres até 45 anos.
- As mulheres acometidas por câncer do colo do útero eram provenientes de Belém e Região Metropolitana (16 mulheres), Bragança (03 mulheres), demais municípios do Pará (17 mulheres) e uma mulher procedente do Estado do Maranhão.

REFERENCIAS

ADAB, P. et al. Effectiveness and efficiency of opportunistic cervical cancer screening comparison with organized screening. **Med care**, 2004; 42 (6): 600-9.

ANTTILLA A et al. Cervical cancer patterns with automation-assiisted and conventional cytological screening: a randomized study. **Int J Cancer**. 2011; 128(5):1204-12

ANTTILLA A et al. Cervical cancer screening policies and coverag in Europe. **Eur J Cancer**, 2009, 45(15); 2649-5

ARBYN, M. et al. Trends of cervical cancer mortality in the Member States of the European Union. **Eur J cancer**, 2009a: 45 (15): 2640-8.

_____ Ministério da Saúde. Caderno da Atenção Básica: **Cancer do colo uterino e mama**, 2006.

_____ Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Política Nacional de Atenção Básica. Brasília, D: **Editora MS**, 2006

BAFVERSTEDT, B. **Condylomata acuminata – past and present**. Acta Derm Venereol., v.47, n.5, p.376 – 381, 1967.

BASEMAN, J. G.; KOUTSKY L. A. The epidemiology of human papillomavirus infections. **Journal of Clinical Virology**, v.32, suppl.1, p.16-24), 2005.

BAYAS, J.M.; COSTAS L.; MUÑOZ, A. Cervical cancer vaccination indications, efficacy, and side effects. **Ginecol Oncol**, v.110, n.3, suppl 2, p.11-14, 2008.

BEHTASH N. MEHRDAD Cervical cancer: screening and prevention. **Asian Pac J Cancer Prev**, 2006: 7:683-686

BERNARD, H. U. The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. **Journal of Clinical Virology**, v.32, suppl.1, p.6, 2005.

BEZERRA, S.J.S; GONÇALVES, P.C.; FRANCO, E.S., *et al.* Perfil de mulheres portadoras de lesões cervicais por HPV quanto aos fatores de risco para câncer de colo de útero. **DST – J Brás.** Doenças Sexualmente Transm, v.17, n.2, p.143-148, 2005.

BROMALL, E.M.; REYNOLDS, S.M.; JACOBSON, R.M. Epidemiology, clinical manifestation, and recent advances in vaccination against human papillomavirus. **Postgrad Med**, v.122, n.2, p.121-129, 2010.

CALAZAN CC, LUIZ RR, FERREIRA I. O diagnóstico de câncer de colo uterino em um centro de referencia brasileiro: tendência temporal e potenciais fatores relacionados. **Rev Bras Cancerol.** 2008;54(4): 325-31

CARVALHO, E.C, TONANI M. BARBOSA J.S. Ações de Enfermagem para o combate ao câncer desenvolvidas em Unidades Básicas de Saúde de um município do estado de São Paulo. **Rev. Bras Cancerol**, 2005, 51 (4):279- 303

CAVALCANTI, S.M.; ZARDO, L.G.; PASSOS, M.R.; OLIVEIRA, L.H. Epidemiological aspects of human papillomavirus infection and cervical câncer in Brazil **J Infection**,2000; 40:80- 87

CHANG, S.; KHOO, C. M.; NAYLOR, M. L.; MASER, R. S.; DE PINHO, R. A. Telomere – based crisis: functional differences between telomerase activation and ALT in tumor progression. **Genes Dev**, Cold Spring Harbor, v.17, 88-100, 2003.

CHRISTENSEN NEIL, D.; HOPFL, R.; DIANGELO, S.L.; CLADEL, N.M.; PATRICK, S.D.; WELSH, P.A.; BUDGEON, L.R., REED, C.A.; KREIDER, J.W. Assembled baculovirus – expressed human papillomavirus type 11 L1 capsid protein virus – like

particles are recognized by neutralizing monoclonal antibodies and induce high titres of neutralizing antibodies. **Journal of General Virology**, p.75, 1994.

CLIFFORD, G., SMITH, J. S., AGUADO, T.; FANCESCHI, S. Comparison of HPV type distribution in high-grade cervical cancer: a meta analysis. **British Journal of Cancer**, v.89: p.101 – 105, 2005.

CONSELHO FEDERAL DE ENFERMAGEM (COFEN). Resolução 381 de 18 de julho de 2011. Execução pelo Enfermeiro, da coleta de material para colpocitologia oncológica pelo método de Papanicolau, Rio de Janeiro: COFEN, 2011. Disponível em: <http://www.portalcofen.br/resolucao_381.htm>. Acesso Em: 09 de novembro de 2012

CULP, T.D.; SPATZ, C.M.; REED, C.A.; CHRISTENSEN, N.D. Binding and neutralization efficiencies of monoclonal antibodies, Fab fragments, and sc Fv specific for L1 epitopes on the capsid of infectious HPV particles. **Virology**, p.361, 2007.

DAVIM, R.M.B.; TORRES, G.I.V.; SILVA, R.A.R.; SILVA, D.A.R. Conhecimento de mulheres de uma Unidade Básica de Saúde da cidade de Natal / RN sobre o exame Papanicolau. **Rev. da Esc Enferm USP**, 2005: 39 (3) 296-302

DE VILLIERS, E.; FAUQUET, M. C.; BROKER, T. R., BERNARD, H. U.; ZUR HAUSEN, H. **Classifications of papillomaviruses Virology**, v.324, n.1, p.17-27, 2004.

DUAVY, L.M.; BATISTA, F.L.R.; Jorge, M.S.B.; Santos, I.B.F. A percepção da mulher sobre o exame preventivo do câncer cérvico- uterino: estudo de caso. **Cien saúde colet**, 2007; 12 (3): 733-742.

DE VUYST, H.; CLIFFORD, G.M.; NASCIMENTO, M.C.; MADELEINE, M.M.; FANCESCHI, S. Prevalence and type distribution of human papillomavirus in carcinoma and intraepithelial neoplasia of the vulva, vagina and anus: a meta-analysis. **Int J Cancer**, v.124, n.7, p.1626-1636, 2009.

DERCHAIN, S.F.M., LONGATTO FILHO, A.; SYRJANEN, K.J. Neoplasia intra-epitelial cervical: diagnóstico e tratamento. Rio de Janeiro, **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, v.27, p.7, 2005.

DUENAS-GONZALEZ, A.; LIZANO, M.; CANDELARIA, M.; CETINA, D.; ARCE, C.; CERVERA, E. Epigenetics of cervical câncer na overview and therapeutic perspectives. **Molecular Cancer**, **October**, v.4: p.38, 2005.

DUENSING, S.; MUNGER, K. Mechanisms of genomic instability in human câncer insights from studies with human papillomavirus oncoproteins. **Int J Cancer**, v.109, n.2, p.157-62, 2004.

DE SOUZA, E.P. – Epidemiologia da Infecção Genital por HPV e anormalidades na Citologia Cervical em Mulheres Jovens Brasileiras. Tese (Doutorado em Tocoginecologia) - Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, 2004.

FRANCESCHI S., DE VUYST H. Human papillomavirus vaccines and anal carcinoma. **Curr Opin HIV AIDS**, v.4. n.1, p.57-63, 2009.

GARNETT, T. O.; DUERKSEN-HUGHES, J. P. Modulation of apoptosis by human Papillomavirus (HPV) oncoproteins. **Archives of Virology**, v.151, n.12, p.2321-35, 2006.

GOLDSCHMIDT, H.; KLIGMAN, A. M. Experimental inoculation of humans with ectodermotropic viruses. **J Invest Dermatol.**, v.31, n.3, p.175-182, 1958.

HACKENHAAR, A.A.; CESAR, J.A.; DOMINGUES, M.R. Exame citopatológico de colo uterino em mulheres com idade entre 20 e 59 anos em Pelotas, RS: prevalência, foco e fatores associados à sua não realização. **Rev Bras Epidemiol**, 2006; 9: 103- 11

HAMMOUDA, D.; MUNOZ, N.; HERRERO, R.; ARSLAN, A.; BOUHADEF, A.; OUBLIL M. et al. Cervical carcinoma in Algiers. In: Algeria: human papillomavirus and lifestyle risk factor. *Ind. J Cancer*, 2005;113 (3): 483-9.

HERNANDEZ, R.A.; CARRILLO, L.M.; LÓPEZ, J.G.S.; ROSAS M.P.; SILVA, V.G.; MARTINEZ, A.J. Factores relacionados com el cáncer servicio uterino em el estado de Nayarit, México. *Ginecol Obstet Mex*, 2007; 75:311-6

HARIHARAN, I.; PILLAI, M.R. Genotypes of the human papillomavirus: relevance to Indian field trials of the vaccine. **The Indian Journal of Medical Research**. New Delhi, v. 130, n.3. p. 247-260, 2009

HOWLEY, P. M., Warts. Cancer and ubiquitylation: lessons from the papillomaviruses. **Transactions of de American Clinical and Climatological Association**, v.117, p.113-126, 2006.

HUTCHINSON, D. J; KLEIN, K. C. Human papillomavírus disease and vaccines. *American Journal of Health System Pharmaey*, Bethesda, V.65, n. 22, p. 2105-2, 2008.

INSTITUTO NACIONAL DE CANCER (BRASIL). Estimativa 2012. Incidência de câncer no Brasil, Rio de Janeiro; INCA, 2011

INSTITUTO NACIONAL DE CANCER. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Informativo: Monitoramento das ações de controle do câncer do colo do útero e de mama. Detecção precoce 2010. Disponível em [www1.ineg.gov.br/inca/arquivos /inform.detecção precoce.pdf](http://www1.ineg.gov.br/inca/arquivos/inform.detecção%20precoce.pdf). acessado em 2010. (28 set).

INTERNACIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Handbooks Cancer Prevention Lyon**. v.10, p.302, 2005.

INTERNACIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Cancer incidence in five continents. Volumes I to IX. [Http://CIS.iarc.fr/](http://CIS.iarc.fr/)(acessado em 23 jul / 2008)

KIM, D.; GAMBHIRA, R.; KARANAM, B; MONIE, A.; HUNG, C.F.; RODEN, R.; WUT, C. Generation and characterization of a preventive and therapeutic HPV DNA vaccine. **Vaccine**, p.26, 2008.

KRINGOS, D.S. et al. The breadth of primary care: a systematic literature review of its core dimensions. **BMC Health Services Research**, 2010; 10: 65

LEITE, F.M.C.; AMORIM M.H.C.; NASCIMENTO, L.G.D.; MENDONÇA M.R.F.; GUEDES N.S.A.; TRISTÃO K.M. Mulheres submetidas à coleta de Papanicolau: perfil socioeconômico e reprodutivo. **Rev bras pesqui saúde**. 2010; 12(1): 57-62.

MANSI, J.A. Vaccination against human Papillomavirus. **Canadian Medical Association of Journal**, p.177, 2007.

MARKOWITZ, L.E.; DUNNE, E.F.; SARAIYA, M; LAWSON, H.W.; CHESSON, H. UNGER, E.R., et al. Quadrivalent Human Papillomavirus Vaccine: recommendations of the advisory committee on immunization practices (ACIP). **MMWR Recomm Rep**, v.56, n.RR-2, p.1-24, 2007.

MARSHALL, JAMES R; FREUDENHEIM, Jo. Alcohol. In: ----- Schottenfeld David. Fraumeni Jr, Joseph F. Cancer epidemiology and prevention. 3th ed. New York: Oxford University Press, 2006.p. 243-258.

Martins RCM, Longatto FA, Hammes LS, Derchain SMF, Naud P, Matos JC et al. Associação entre idade ao início da atividade sexual e subsequente infecção por Papillomavirus humano: resultados de um programa de rastreamento brasileiro. **Rev Bras Ginecol Obstet** 2007;29(11): 580-7.

MARTINS LFL, THULER LCS, VALENTE JG. Cobertura do exame de Papanicolau no Brasil e seus fatores determinantes: uma revisão sistemática da literatura. *Rev Bras Ginecol Obstet.*2005; 27(8): 485-92.

MEDEIROS, L.R.; ROSA, D.D.; DA ROSA, M.I.; BOZZETTI, M.C.; ZANINI, R.R. Efficacy of human papillomavirus vaccines: a systematic quantitative review. **International journal of Gynecological Cancer**, Cambridge, v.19, n.7, p.1116-1176, 2009.

MILLER, A. B.; NAZEER, S.; FONN, S.; BRANDUP-LUKANOW, A.; REHMAN, R.; CRONJE, H.; SANKARANAYANAN, R.; KOROLTCHOUK, V; SYRTANEN, K.; SINGER, A.; ONSRUD, M. **Report on consensus conference on cervical câncer screening and management.** *Int J Cancer*, v.86, n.3, p.440-447, 2000.

MUNGER, K.; BALDWIN, A.; EDWARDS, K. M.; HAIA-KAWA, H.; NGUYEN, C. L.; OWENS, M.; GRACE, M.; HUH, K. Mechanisms of human Papillomavirus – induced oncogenesis. **Journal of Virology**, v.78, n.21, p.11451-11460, 2004.

MUNOZ, N.; BOSCH, F. X.; DE SANJOSÉ, S.; HERRERO, R.; CASTELL SAGUÉ, X.; SHAH, K. V.; SUNIJIDERS, P. J. F.; MEIJER, C. J. L. M. Internacional agency for research on câncer multicenter cervical câncer study group. Epidemiologic classification of human papillomavirus type associated with cervical câncer. **The New England Journal of Medicine**, v.348, p.518-527, 2003.

MUNOZ, N.; CASTELLSAGUE, X.; DE GONZALES, A. B.; GISSMANN, L. Chapter 1: HPV in the etiology of human câncer. **Vaccine**, v.24, suppl 3, p.1 – 10, 2006.

Muller DK, Dias- da- Costa JS. Luz- AMH. Olinto MTA. Cobertura do exame citopatológico do colo do útero na cidade de São Leopoldo. Rio Grande do Sul, Brasil. *Cad Saúde Publica* 2008;24:2511-20.

NADAL, S.R.; MANZIONE, C.R. Vacinas contra o papilomavirus humano. **Revista Brasileira de Coloproctologia**, Rio de Janeiro, v.26, n.3, p.337-340, 2006.

NAKAGAWA; SCHIRMER; BARBIERI. **Virus HPV e câncer de colo de útero**. Revista Brasileira de Enfermagem, Brasília, vol.63, n.2, mar/abr. 2010.

NARCHI, N.Z.; JANICAS, R.C.S.V.; FERNANDES, R.A.Q. Prevenção e controle do câncer cérvico-uterino. *In*: FERNANDES, R.A.Q.; NARCHI, N.Z., Organizadores. **Enfermagem e Saúde da Mulher**. São Paulo: Manole, p.127-149, 2007.

NARISAWA-SAITO, M.; KYIONO, T. Basic mechanisms of high-risk human papillomavirus induced carcinogenesis: roles of E6 and E7 proteins. **Cancer Science**, v.98, n.10, p.1505-1511, 2007.

NICULA, F.A et al. Challenges in starting organised screening programmes for cervical cancer in the new member states of the European Union. **Eur J cancer**. 2009; 45 (15); 2679-84.

ORIEL, J. D. Natural history of genital warts. *Br J Vener Dis.*, v.47, n.1, p.1-13, 1971.

PARKIN, D. M.; BRAY, F. CHAPTER 2: The burden of HPV – related cancers. **Vaccine**, v.24, suppl 3, p.11-25, 2006.

PEH, W. L.; MIDDLETON, K.; CHRISTENSEN, N.; NICHOLLS, P.; EGAWA, K.; SOTLAR, K.; BRANDSMA, J.; PERCIVAL, A.; LEWIS, J.; LIU, W. J.; DOORBAR, J. Life cycle heterogeneity in animal models of human papillomavirus – associated disease. **Journal of Virology**, v.76, n.20, p.10401-10416, 2002.

PENDINO, F.; TARKGNYI, I.; DUDOGNON, C. Telomeres and telomerase; Phamacological targets for new anticancer strategies? **Curr Cancer Drog Targets**, Hilversum, v.6, p.147-180, 2006.

PERREIRA, E.A.G.; PARELLADA, C.I. Entendendo melhor a infecção pelo Papilomavírus humano. **Manual Schering**, 2003

PFISTER, H. Human papillomavirus and skin câncer. **Journal of the National Cancer Institute Monographs**, v.31: p.52-56, 2003.

RAMA, C.; MARTINS, C.R.; DERCHAIN, S.; LONGATTO FILHO, A. et al. Rastreamento anterior para câncer de colo uterino em mulheres com alterações citológicas ou histológicas. **Rev Saúde Pública**, 2008; 42 (3) 411-9.

SALOMON, D.NAYAR,R. Sistema Bethesda para citopatologia cérvico vaginal. 2 ed. Rio de Janeiro: **Revinter**, 2005

SCHEURER, M. E.; TORTORELO-LUNA, G.; ADLER-STORTHZ, K. Human papillomavirus infection: biology, epidemiology and prevention. **International Journal of Gynecological Cancer**, v.15,p.727-746, 2005.

STANLEY, M.A. Immune responses to human papilloma viruses. **The Indian Journal Medical Research**, New Delhe, v. 130, n.3, p.266- 276, 2009

SILVA, P.; OLIVEIRA, M.D.S.; MATOS, M.A.; TAVARES, V.R.; MEDEIROS, M.; BRUNINI, S. Comportamento de risco para as doenças sexualmente transmissíveis em adolescentes escolares de baixa renda. **Rev Eletr Enferm** 2005; 7(2): 185-89.

SCHIFFMAN, M.; CASTLE, P. E.; JERÔNIMO, J.; RODRIGUEZ, A. C.; WACHOLDER, S. Human papillomavirus and cervical câncer. **Lancet.**, v.370, n.9590, p.890-907, 2007.

SMELTZER, S.C.; BARE, B.G. **Tratado de enfermagem médico-cirúrgico**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. MINISTÉRIO DA SAÚDE; VIGITEL. BRASIL, 2009. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Brasília: Ministério da Saúde, 2010

SIMÕES, C.B. Vacinas contra o HPV: Uma visão crítica. *Diagn Tratamento*, 2010: 15 (2): 92-5

SOARES M.B.O.; SILVA S.R. Análise de um programa municipal de prevenção do câncer cérvico –uterino. **Rev Bras Enferm**. 2010; 63(2): 177-82.

STANLEY, M. A. Human papillomavirus and cervical carcinogenesis. **Best Pract Res Clin Obstet Gynecol**, v.15, n.5, p.663-676, 2001.

SMITH JS, LINDSAY L, HOOTS B, KEYS J, FRANCESCHI S, WINER R, et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high- grade cervical lesions: a meta- analysis update. **Int J Cancer**, 2007; 121 (3): 621-32

STOLER, M. H. Human papillomavirus biology and cervical neoplasia: implications for diagnostic criteria and testing. **Arch Pathol Lab Med**, v.127, n.8, p.935-939, 2003.

TAWFICK EL-AMNSI, M. et al. Prevalence of human papillomavirus types 16 and 18 in Cervical adenocarcinoma and its precursors in Scottish patient. **Int J Gynecol Cancer**, 2006.

TORNÉ, A.; ALONSO, I.; PUIG-TINTORÉ, L.M.; PAHISA, J. Clinical role of cervical cancer vaccination: when and whom to vaccinate? **Gynecol Oncol**, v.110, n.3, suppl.2, p.15-16, 2008.

TRIMBLE, C.L; FRAZER, I.H. Development of therapeutic HPV vaccines. **The Lancet Oncology**, London, v.10, p.975-980, 2009.

UMEZULIKE, A.C.; TABANSO, S.N.; EWUNONCE, H.A.; NWANA, E.J. Epidemiological characteristics of carcinoma of the cervix in the federal capital Territory of Nigeria. **Niger J Clin Pract**, 2007.; 10 (2): 143- 6.

VELDMAN, T.; LIU, X.; YUAN, H.; SCHLEGEL, R. Human papillomavirus E6 and Myc proteins associate in vivo and brid to a cooperatively activate the telomerase reverse transcriptase promoter. **Proc Natt Acad Sci USA**, Washington, v.100, p.8211-8216, 2003.

VILLA, L.L. Overview of the clinical development and results of a quadrivalent HPV (types 6, 11, 16, 18) vaccine. **Int J Infect Dis**. Suppl2, p.17-25, 2007.

VILLA, L.L. Prophylatic quadrivalent human papilomavirus (types 6, 11, 16 and 18), L1 virus – like particle vaccine in young woman: a randomized double-blind placebo-controlled multicentre phase II efficacy trial. **Lancet Oncol.**, p.271-278, 2005.

WRIGHT, JR, T.C.; WU X.; LEVINE, A.J. Natural history of HPV infections. **The Journal of Family Prattice**, New York, v.58, n.9, p.53, 2009.

WHEELER CM, HUNT WC, SCHIFFMAN M, CASTLE PE; Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/ Low- Grade Squamous Intraepithelial Lesions Triage Study Group. Human papillomavirus genotypes and the cumulative 2- year risk of cervical precancer. **J Infect Dis**, 2006, 194 (9):1291-9

YANG, B. H.; BRAY, F. I.; PARKIN, D. M.; SELLORS, J. W.; ZHANG, Z. F. **Cervical câncer as a priority for prevention in different world regions: na evaluation using years of life lost.** **Int J Cancer.**, 109(3): 418-424, 2004

YUAN, H.; ESTES, P.A.; CHEN, Y.; NEWSOME, J.; OLCESE, V.A.; GARCEA, R.L.; SCHLEGEL, R. Immunization with a pentameric L1 fusion protein protects against Papillomavirus infection. **Journal of Virology**, p.75, 2001.

ZHENG, Z. M.; BAKER, C. C. Papillomavirus genome structure, expression and post-transcriptional regulation. **Frontiers in Bioscience**, v.11: p.2286-2302, 2006.

ZHOU, J.; GISSMAN, L.; ZENTGRAF, H.; MULLER, H.; PICKEN, M.; MULLER, M. Early phase in the infection of cultured cells papillomavirus virions. *Virology*, p.214, 1995.

ZIELINSKI, G. D.; SNIJDERS, P. J.; ROZENDAAL, L.; DAALMEJER, N.; RISSE, E. K. J.; VOORHORST, F. J.; JIWA, N. M.; VAN DER LINDEN, H. C.; DE SHIPPER, F.A.; RUNSINK, A. P.; MEIJER, C. J. L. M. The presence of high – risk HPV combined with specific p53 and p16 INK4a expression on patterns points to high – risk HPV as the main causative agent for adenocarcinoma in situ and adenocarcinoma of the cervix. **The Journal of Pathology**, v.201, p.535-543, 2003.

ZUR HAUSEN, H.; MEINHOF, W.; SCHEIBER, W.; BOMKAMM, G. W. Attempts to detect virus – specific DNA in human tumors. I. Nucleic acid hybridizations with complementary RNA of human wart virus. **Int J Cancer**, v.13, n.5, p.650-656, 1974.

APENDICES



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS**

APENDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Projeto: **ESTUDO DO HPV EM FRAGMENTO UTERINO DE MULHERES COM CÂNCER DO COLO DO ÚTERO.**

Este projeto de pesquisa tem como objetivo de identificar a presença do HPV no Tumor do Colo do Útero.

Convidamos você a participar da pesquisa, respondendo um conjunto de perguntas sobre a temática do estudo. Informamos que por ocasião de sua cirurgia será retirado um pequeno pedaço do tumor, para ser analisado no Laboratório da UFPa. Você tem liberdade para não responder qualquer pergunta. Ressaltamos que as informações obtidas serão utilizadas somente para esta pesquisa e guardadas por cinco anos, quando então serão destruídas; seu nome não vai aparecer na pesquisa, pois você será identificada por um número.

Os resultados da pesquisa poderão ser apresentados em reuniões científicas e publicados em revistas. Nesta pesquisa não será realizado nenhum procedimento que lhe traga qualquer desconforto ou risco à sua vida.

Os benefícios da pesquisa serão para melhorar a assistência a saúde das mulheres com HPV. A qualquer momento você pode desautorizar a pesquisadora de fazer uso das informações obtidas, assim como afastar-se da pesquisa e todo material anotado lhe será devolvido. Não há despesas pessoais para você em qualquer fase do estudo. Este trabalho será realizado com recursos próprios da pesquisadora. Não haverá nenhum pagamento por sua participação. Se você tiver dúvidas e desejar esclarecimentos sobre a pesquisa poderá manter contato com as responsáveis pela mesma: Dra. Hellen Thaís Fuzii, Orientadora e Professora da Universidade Federal do Pará e com a orientanda Maria da Conceição Nascimento Freitas, residente na Cidade Nova 6, WE70 n° 1132 – Tel. 8821.6150, e-mail: nascimentofreitas@yahoo.com.br, e com o Comitê de ética em Pesquisa da UFPa, Tel. 3201.6857

Declaro que li o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e compreendi as informações que me foram explicadas sobre o estudo em questão, ficando claros para mim, quais são os objetivos da pesquisa, os procedimentos a serem realizados e as garantias de confidencialidade. Ficou claro também, que minha participação não tem despesas, nem receberei nenhum tipo de pagamento, podendo retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem penalidades ou prejuízo, desse modo, concordo voluntariamente em participar desse estudo, assinando este Termo em duas vias, junto com a pesquisadora.

Belém/PA, _____ / _____ / _____.

Assinatura do participante - RG n° _____

Assinatura do responsável por obter o consentimento - RG n° _____



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS**

APÊNDICE B

FICHA DE LEVANTAMENTO CLÍNICO E EPIDEMIOLÓGICO

1 Data de coleta: _____/_____/_____

2 Citologia/Registro: _____

3 Idade: _____ anos

4 Procedência: _____

5 Estado civil atual:

Solteira Casada/Companheiro

Separada/Divorciada Viúva

6 Escolaridade:

Analfabeta/fundamental incompleto

Fundamental completo

Médio incompleto

Médio completo

Superior incompleto

Superior completo

Pós-graduação

7 Tabagismo

7.1 Já fumou cigarros na vida?

- Não (se **não**, ir para a pergunta **7.1**)
 Sim. Com que idade iniciou:_____ ou NL

7.2 Fuma cigarros atualmente?

- Não. Com que idade parou:_____ ou NL
 Sim

7.3 Em média, quantos cigarros você fuma/fumava por dia/semana?

_____por dia **ou** _____por semana ou NL

8 Etilismo

8.1 Já consumiu bebidas alcoólicas na vida?

- Não (se **não**, ir para a pergunta **8.1**)
 Sim. Com que idade iniciou:_____ ou NL

8.2 Consome bebida alcoólica atualmente?

- Não. Com que idade parou:_____ ou NL
 Sim

8.3 com que frequência você usa/usava bebida alcoólica?

- Todo dia
 5 a 6 dias na semana
 3 a 4 dias na semana
 1 a 2 dias na semana
 3 a 4 dias no mês
 1 a 2 dias no mês
 Menos de uma vez no mês
 Não lembro

9 História sexual

9.1 Frequência de **relações sexuais** ou contato de genital com genital:

Número de vezes por semana:_____ OU

Número de vezes por mês:_____ OU

Número de vezes por ano:_____ OU

Nenhuma vez no último ano. Quanto tempo se passou desde a última relação sexual ou contato de genital com genital?_____anos

9.2 Idade da primeira relação sexual:_____anos/ NL

9.3 Número de parceiros sexuais **na vida**:_____/ NL

9.4 Número de parceiros sexuais **no último ano**:_____ ou NL

9.5 Número de parceiros **novos no último ano**:_____ ou NL

10 História anticoncepcional

10.1 Já utilizou anticoncepcionais orais (pílula) na vida?

Não (se **não**, ir para a pergunta **9.3**)

Sim. Com que idade iniciou:_____ ou NL

10.2 Ainda utiliza anticoncepcionais orais (pílula) atualmente?

Não. Com que idade parou:_____ ou NL

Sim

10.3 Já utilizou preservativos (camisinha) masculino ou feminino na vida?

Não Sim

10.4 Caso sim na **9.3**, frequência de uso?

Em todas as relações sexuais Às vezes

11 Reprodução

11.1 Números de G:_____P:_____A:_____

11.2 Idades da 1ª gestação:_____anos

12. História ginecológica

12.1 N° de exames de PCCU (preventivos) na vida?

Este é o primeiro

2 a 3 vezes

4 a 5 vezes

6 a 10 vezes

Mais de 10 vezes

ANEXOS



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS

ANEXO I

Belém, 23 de março de 2012.

CARTA DE ACEITE

Eu, Prof^ª Dra. Hellen Fuzii, do **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS** da **UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL**, aceito orientar a discente mestranda Maria da Conceição Nascimento Freitas, na elaboração da Dissertação com o tema: **ESTUDO DO HPV EM FRAGMENTO UTERINO DE MULHERES COM CÂNCER DO COLO DO ÚTERO.**

Estando ciente da minha participação na Banca Examinadora por ocasião da defesa da Dissertação de Mestrado.

Declaro ainda ter conhecimento do conteúdo do projeto para o qual dou meu aceite pela rubrica das páginas.

Atenciosamente

Dra. Hellen Thais Fuzii



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS

ANEXO II

Belém, 23 de março de 2012.

CARTA DE APRESENTAÇÃO

Apresento ao Comitê de Ética, 2 (duas) vias do Projeto cujo título é: **“ESTUDO DO HPV EM FRAGMENTO UTERINO DE MULHERES COM CÂNCER DO COLO DO ÚTERO”**, cuja mestrandia Maria da Conceição Nascimento Freitas é orientada pela Dra. Hellen Thais Fuzii.

Informo estar ciente que após aprovação do mesmo, devo apresentar semestralmente, relatório de andamento da pesquisa, assim como, relatório caso a pesquisa seja interrompida antes do seu final e/ou relatório final da mesma.

Atenciosamente

Prof^ª. Dra. Hellen Thais Fuzii

Enf^ª. Maria da Conceição N. Freitas