



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

**ESTUDO DA PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO PELO PAPILOMA VÍRUS
HUMANO (HPV) EM MULHERES NO CLIMATÉRIO EM UM HOSPITAL DE
REFERÊNCIA DE BELÉM.**

FLORENTINA DO SOCORRO MARTINS BALBI

**Belém – Pará
2015**

FLORENTINA DO SOCORRO MARTINS BALBI

ESTUDO DA PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO PELO PAPILOMA VÍRUS
HUMANO (HPV) EM MULHERES NO CLIMATÉRIO EM UM HOSPITAL DE
REFERÊNCIA DE BELÉM.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais. Orientador(a): Prof^a Dr^a. Hellen Thaís Fuzii

**Belém – Pará
2015**

Balbi, Florentina do Socorro Martins, 1966-
Estudo da prevalência da infecção pelo Papiloma
Vírus Humano (HPV) em mulheres no climatério em um
hospital de referência de Belém. / Florentina do Socorro
Martins Balbi. - 2015.

Orientador: Hellen Thais Fuzii.

Dissertação (Mestrado) - Universidade
Federal do Pará, Núcleo de Medicina Tropical,
Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais,
Belém, 2015.

1. Papilomavírus - Belém (PA). 2. Colo
uterino - Câncer - Belém(PA). 3. Climatério. 4.
Mulheres - Doenças - Belém (PA). I. Título.

CDD 22. ed. 616.99466

FLORENTINA DO SOCORRO MARTINS BALBI

ESTUDO DA PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO PELO PAPILOMA VÍRUS
HUMANO (HPV) EM MULHERES NO CLIMATÉRIO EM UM HOSPITAL DE
REFERÊNCIA DE BELÉM.

Banca examinadora:

Prof. Dra. Hellen Thais Fuzii – Orientadora

Profa. Dr^a Fabiola Elizabeth Villanova

Profa. Dr^a Esther Von Ledebur

Profa. Dr^a Marizeli Viana de Aragão Araújo

Julgado em: 10/04/ 2015

Belém – Pará
2015

AGRADECIMENTOS

A Deus, sobre todas as coisas...

A minha família pela paciência e incentivo.

Aos profissionais do Hospital Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará, por me acolherem e facilitarem o meu acesso no seu serviço.

Aos meus amigos do Núcleo de Medicina Tropical da UFPa (NMT/UFPa), que de forma direta ou indiretamente ajudaram na consolidação deste sonho.

Aos professores do NMT/UFPa que me ajudaram na realização deste trabalho e no meu crescimento acadêmico-profissional.

As mulheres que aceitaram participar voluntariamente deste estudo, contribuindo para que outras estratégias de prevenção e manejo do câncer cervical possam ser empreendidas a partir destes resultados.

A minha especial orientadora, amiga inesquecível e incansável Prof^a Dr^a Hellen Thais Fuzii, com a certeza de que podemos contar sempre uma com a outra, nunca esquecerei das suas palavras de otimismo. Obrigada.

RESUMO

O Papilomavírus humano (HPV) infecta uma grande parcela da população feminina mundial, aproximadamente, 291 milhões de mulheres sendo a principal causa do câncer de colo uterino. O câncer de colo uterino tem sua maior incidência após 40 anos de idade, o que coincide com a idade do climatério. Sendo assim, investigar a presença da infecção genital pelo HPV e seus fatores de risco em mulheres no climatério é de grande importância para avaliar a susceptibilidade desta população para o desenvolvimento de câncer. Com isso, este estudo teve como objetivo investigar os aspectos epidemiológicos da infecção genital pelo HPV em mulheres da região metropolitana de Belém, no período do climatério. Foram avaliadas 213 mulheres entre 35 a 60 anos, atendidas no Ambulatório da Mulher da Fundação Santa Casa do Pará, no período de janeiro de 2009 a dezembro de 2011. Foram coletados dados clínicos e epidemiológicos das pacientes através de um formulário. As amostras para detecção do DNA do HPV também foram colhidas utilizando escova citológica. Para a detecção do HPV foi utilizada Reação em cadeia de polymerase (PCR) com oligonucleotídeos iniciadores MY9/MY11. E para tipagem dos subtipos HPV6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 52 e 58 foi realizada PCR em tempo real com sondas específicas. Entre as 213 mulheres estudadas, a prevalência geral de infecção genital pelo HPV foi de 11,7%. Os fatores de risco que foram associados à infecção por HPV foram o uso irregular do preservativo (OR 1.11), e a coitarca com idade igual ou inferior a 14 anos (OR 1). As frequências dos subtipos testados entre as amostras positivas para HPV foram de 4% para HPV 11, 16, 31, 33 e de 8% para HPV 6 e 35.

Palavras-chave: HPV, Climatério, Câncer de colo uterino

ABSTRACT

HPV infects a large proportion of women worldwide. Approximately 291 million women worldwide are carriers of this virus. HPV is the cause of cervical cancer, that the incidence is higher in women after 40 years old, the same age of climacteric. Therefore, it is important to investigate the presence of HPV genital infection and risk factors in climacteric women to evaluate cervical cancer susceptibility. This study is to investigate HPV genital infection in climacteric women in Belém city. We evaluated 213 women between 35 and 60 years old, whose are assistance at Ambulatório da Mulher da Fundação Santa Casa do Pará. Clinical and epidemiologic data were collected using a questionnaire. Cervical cells were collected using cytological brush to detect HPV DNA. HPV DNA was detected using PCR with MY9/MY11 primers. To type HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 52 e 58, it was performed using real time PCR with specific probes. Among 213 women, HPV genital infection was 11,7%. Associated risk factors were irregular use of condom and sexual initiation before 14 years old. Subtypes HPV frequency were 4% to HPV 11, 16, 31, 33 and 8% to HPV 6 e 35.

Key words: HPV, Climacteric, Cervical cancer

LISTA DE ABREVIATURAS

DNA Ácido desoxirribonucleico

DST Doença sexualmente transmissível

E Região precoce do genoma viral

FSH Hormônio folículo estimulante

HIV Vírus da imunodeficiência humana

HPV Papiloma vírus humano

HSIL Lesão escamosa intra-epitelial de alto grau

IFN Interferon

INCA Instituto Nacional do Câncer

L Região tardia do genoma viral

LH Homônio luteinizante

MAO Método anticoncepcional oral

NIC neoplasia intra-epitelial cervical

OMS Organização Mundial da Saúde

PBS Solução salina tamponada com fosfato

PCR Reação em cadeia da polymerase

P53 Gene humano protetor à indução do câncer

pRb Gene supressor de tumor da família do retinoblastoma

TH2 Células T Helper 2

TNF Fator de necrose tumoral

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Foto de colposcopia realizada em paciente portadora de lesão neoplásica em colo de útero apresentando sangramento (seta).¹pg 26

FIGURA 2: Desenho esquemático do HPV mostrando seu capsídeo viral icosaédrico.²pg 29

FIGURA 3: O genoma do HPV é constituído por cerca de 8000 pares de base distribuídos em duplo filamento circular com 2 genes estruturais tardios (L1 e L2) e genes funcionais precoces (E1 a E7).³pg32

LISTA DE TABELAS

- **Tabela 1:** Estimativas de casos novos por câncer nas diferentes regiões do Brasil para o ano de 2014 pg 24
- **Tabela 2:** Distribuição das mulheres do estudo de acordo com fatores de risco sócio - demográficos.pg 41
- **Tabela 3:** Distribuição das mulheres do estudo de acordo com fatores de risco sexuais pg 42
- **Tabela 4:** Distribuição das mulheres do estudo de acordo com fatores de risco contraceptivos pg 43
- **Tabela 5:** Distribuição das mulheres do estudo de acordo com o consumo de álcool e fumo 44
- **Tabela 6:** Distribuição das mulheres do estudo de acordo com fatores de risco ginecológicos pg 44
- **Tabela 7:** Prevalência da infecção genital pelo HPV em mulheres com e sem vida sexual ativa.pg 45
- **Tabela 8:** Prevalência da infecção genital por HPV (presença do DNA do HPV), segundo os fatores de risco sócio-demográficos pg45
- **Tabela 9:** Prevalência da infecção genital por HPV (presença do DNA do HPV), segundo os fatores de risco sexuais pg 46
- **Tabela 10:**Prevalência da infecção genital por HPV (presença do DNA do HPV), segundo os fatores de risco contraceptivos pg 47
- **Tabela 11:** Prevalência da infecção genital por HPV (presença do DNA do HPV), segundo o uso de álcool e fumo pg 47
- **Tabela 12:** Prevalência da infecção genital por HPV (presença do DNA do HPV), segundo os fatores de risco ginecológicos pg 48

- **Tabela 13:** Frequência dos subtipos de HPV testados em relação às amostras positivas para HPV pg 49

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	Erro! Indicador não definido.
2. JUSTIFICATIVA	Erro! Indicador não definido.
3. OBJETIVOS	Erro! Indicador não definido.
3.1. OBJETIVO GERAL	Erro! Indicador não definido.
4. REFERENCIAL TEÓRICO	Erro! Indicador não definido.
5. MATERIAIS E MÉTODOS	Erro! Indicador não definido.
5.1. DELINEAMENTO DO ESTUDO	Erro! Indicador não definido.
5.2. SUJEITOS	Erro! Indicador não definido.
5.2.1. Critérios de inclusão	Erro! Indicador não definido.
5.2.2. Critérios de exclusão	Erro! Indicador não definido.
5.3. COLHEITA DAS AMOSTRAS.....	Erro! Indicador não definido.
5.3.1. Colheita dos dados clínicos e epidemiológicos	Erro! Indicador não definido.
5.3.2. Isolamento do DNA.....	Erro! Indicador não definido.
5.3.3. PCR para detecção do HPV e tipagem do HPV	Erro! Indicador não definido.
6. ANÁLISE DE DADOS	Erro! Indicador não definido.
6.1. ASPECTOS ÉTICOS.....	Erro! Indicador não definido.
RESULTADOS	Erro! Indicador não definido.
DISCUSSÃO	Erro! Indicador não definido.
CONCLUSÃO.....	Erro! Indicador não definido.

REFERÊNCIAS.....**Erro! Indicador não definido.**

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética Erro! Indicador não definido.

1. INTRODUÇÃO

O câncer de colo uterino é um problema de saúde pública mundial, configurando-se como a terceira causa mais comum de câncer em mulheres. É responsável pelo óbito anual de aproximadamente 230 mil mulheres, sendo mais de 80% ocorridos nos países em desenvolvimento (INCA, 2003; MOODY; LAIMINS, 2010; ROBBINS et al., 2005)

No Brasil, este tipo de câncer é o segundo tipo mais frequente entre mulheres, após o câncer de mama, sem considerar o câncer de pele não melanoma. A frequência do câncer cérvico-uterino varia nas diferentes Regiões do Brasil, sendo que nas regiões menos desenvolvidas sócio-econômicamente, com a Região Norte, a ocorrência dos casos de câncer genital feminino é mais frequente.

Em 2014, as previsões foram de 17.540 casos novos, com estimativa variando de 17 a 21 casos a cada 100 mil mulheres, sendo maiores incidências registradas em estados com menor nível de desenvolvimento socioeconômico, acompanhando o mesmo perfil observado no mundo. Na região Centro- Oeste a incidência média é de 28/100 mil, na região Norte de 24/100 mil, na região Nordeste de 18/100 mil, na região Sudeste de 15/100 mil e na região Sul de 14/100 mil (INCA 2014). O Estado do Pará representa uma das áreas mais acometidas (FERNANDES *et al.*, 2010; INCA, 2009). Segundo PARÁ (2004) o câncer cervical representou a segunda causa de mortalidade, sendo superado apenas pelo câncer gástrico.

Desde 1974, o Papilomavírus humano (HPV) é estudado por seu papel na etiologia do câncer ano-genital, com capacidade de indução das lesões pré-neoplásicas e posteriormente em carcinoma invasivo. Em estudos atuais observa-se que em torno de 90% das lesões precursoras e tumores malignos o material genético

de alguns tipos de HPV está presente (INCA, 2009; MOODY ; LAIMINS, 2010; ZHENG ; BAKER, 2006).

Estudos mostram que a prevalência do HPV é maior em mulheres no início da atividade sexual, decaindo com a idade (MOODY ; LAIMINS, 2010). A infecção pelo HPV é transitória, e normalmente é resolvida em até 2 anos pelo sistema imunológico. Porém, uma pequena porcentagem de mulheres infectadas pode apresentar quadro persistente de infecção, e assim aumenta o risco de evoluir para o câncer.

Situações que levem à alteração na resposta imunológica podem funcionar como fator facilitador para a infecção pelo HPV e persistência da mesma. Uma destas situações é o climatério, no qual a mulher sofre diversas modificações físicas, psíquicas e imunológicas, com diminuição crescente de estrogênio. Isso leva a diversos sintomas locais urogenitais, tais como secura vaginal, dispareunia, sangramento durante o coito com solução de continuidade, pela fragilidade do tecido, favorecendo às infecções secundárias. Estas condições podem propiciar o desenvolvimento de lesões precursoras ou do câncer propriamente dito.

2. JUSTIFICATIVA

O climatério é uma fase da vida da mulher que ocorre entre a faixa etária de 40 a 65 anos de acordo com a OMS e de 35 a 55 anos de acordo com a Sociedade Internacional do Climatério, em que a mulher apresenta modificações físicas, psíquicas e imunológicas, resultantes da diminuição dos níveis de estrogênio circulantes. Entre estas modificações, observam-se as alterações genito-urinárias com atrofia vulvovaginal progressiva e diminuição dos fatores de proteção local, tornando estas mulheres susceptíveis a infecções secundárias, entre elas o HPV (MARTINS, et al 2000).

Alguns tipos de HPV infectam o epitélio anogenital, sendo a doença sexualmente transmissível (DST) mais comum no mundo. Esta infecção é mais frequente em jovens, estando o pico na faixa etária entre 20 e 24 anos. A maior parte dessas infecções é assintomática, porém, as que desenvolvem lesões, regredem espontaneamente entre 12 a 18 meses, com eliminação do vírus por mecanismo imunológico. Em alguns casos pode ocorrer a persistência da infecção pelo HPV, e isso é um grande fator de risco para o desenvolvimento do câncer de colo uterino, pois este vírus é o agente etiológico deste câncer. No Brasil, este tipo de câncer é o segundo tipo mais freqüente entre mulheres, após o câncer de mama, sem considerar o câncer de pele não melanoma. Em 2014, as estimativas foram de 17.540 casos novos no Brasil, sendo 860 casos novo no Estado do Pará (INCA,2014).

A maior incidência do câncer de colo uterino ocorre após os 40 anos, o que coincide com a idade do climatério. Sendo assim, investigar a presença da infecção genital pelo HPV e seus fatores de risco nessas mulheres é de grande importância para avaliar a susceptibilidade desta população para o desenvolvimento de câncer, principalmente pela fragilidade imunológica ocasionada pela diminuição hormonal.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

-Determinar a prevalência do HPV e analisar os aspectos clínicos e sócio-demográficos da infecção pelo HPV em pacientes no climatério atendidas no ambulatório do Hospital Santa Casa de Misericórdia do Pará.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar a prevalência da infecção genital por HPV em pacientes no climatério pela PCR;
- Verificar a prevalência dos subtipos HPV6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 52, 58;
- Traçar os perfis comportamentais, sexuais, contraceptivos e clínico-ginecológico,
- Correlacionar o perfil clínico-epidemiológico com a prevalência do HPV,
- Correlacionar o perfil epidemiológico com a prevalência do HPV

4. REFERENCIAL TEÓRICO

O climatério corresponde ao período de vida da mulher que inicia geralmente segundo a OMS aos 40 anos, estendendo-se até a senectude por volta dos 65 anos ou dos 35 anos aos 55 anos segundo a Sociedade Internacional do Climatério.. Durante este período ocorrem várias modificações no corpo desta mulher, tendo como fator desencadeante a falta de ovulação e o déficit na síntese de hormônios esteroides. Com isso, leva à queda da capacidade reprodutiva, sendo por isto, considerado um período de transição do período reprodutivo para o não reprodutivo (FEBRASGO, 2004).

É caracterizado pela falência progressiva dos ovários, sendo a menopausa, que é a data da última menstruação, o período de referência para sua divisão em fases pré-, peri e pós-menopausal, segundo a Sociedade Internacional de Menopausa (1999). Mais recentemente, tem-se dividido o climatério em transição menopausal e pós-menopausal, sendo a clínica do climatério característico em cada fase do mesmo, com alterações graduais.

A mulher sofre diversas modificações físicas e psíquicas no período climatérico. A diminuição da atividade folicular ovariana leva a diminuição do estradiol que acarreta uma parada do retrocontrole negativo dos estrogênios sobre o eixo hipotálamo-hipofisário. Tendo como consequência a elevação das gonadotofinas hipofisárias, FSH (hormônio folículo estimulante) e LH (hormônio luteinizante) pela maior produção das mesmas. O hipoestrogenismo é responsável por inúmeros eventos no período do climatério, podendo ser extragenitais e/ou genitais (FEBRASGO,2004).

Nos órgãos extragenitais existem sintomas neurovegetativos. Ocorre uma maior frequência das coronáriopatias arterioscleróticas, osteoporose, com maior risco

fraturas ósseas. Sendo possível observar crises de ansiedade e depressão, e graus variáveis de hirsutismo.

Nos órgãos genitais externos, observa-se perda do turgor da pele e rarefação dos pêlos. Essas alterações tróficas levam a diminuição da espessura da epiderme e da derme, há redução do tecido adiposo dos lábios maiores, com perda da elasticidade, tornando os lábios menores proeminentes e retração do intróito vaginal. Ocorre adelgaçamento do epitélio vaginal, falta de glicogênio nas células epiteliais, com elevação do pH e diminuição da espessura da mucosa vaginal. Com isso, há maior predisposição para dispareunia, sangramento durante o coito, infecções secundárias, corrimento com prurido (FEBRASGO2004).

O colo uterino torna-se progressivamente atrófico, com estreitamento do canal cervical, o epitélio escamoso exocervical diminui de espessura, tornando a rede capilar subepitelial mais nítida, ocorrendo também diminuição de glicogênio, atrofiam-se as glândulas endocervicais. A uretra se transforma em uma estrutura rígida, de epitélio delgado e friável, com sintomas caracterizados de síndrome uretral.

Nos órgãos genitais internos, no útero, tanto endométrio e como no miométrio, ocorrem alterações involutivas, com redução do tamanho do mesmo. A atrofia endometrial predispõe a sangramentos irregulares. As tubas uterinas e os ovários sofrem igualmente alterações involutivas. Apresenta maior predisposição ao prolapso genital devido à frouxidão do tecido de sustentação pélvica (FEBRASGO,2004).

Três razões favorecem para que as mulheres com mais de 45 anos estejam mais vulneráveis às infecções pelo vírus HPV. A primeira seria fisiológica, inerente ao processo de envelhecimento da mulher. Com o passar dos anos, a imunidade da mucosa vaginal diminui influenciada pelo declínio hormonal, e diminuição da lubrificação típicos desta fase. Estes processos facilitariam o aparecimento de pequenas fissuras e machucados na área interna genital, servindo como porta de

entrada para a infecção viral. A segunda razão pela qual estas mulheres se tornam mais vulneráveis seria a resistência desta mulher madura ao uso de preservativos na hora da relação sexual. A terceira razão para esse aumento do risco seria que as mulheres mais velhas não podem ser vacinadas contra o vírus HPV, ao contrário das adolescentes e mulheres jovens adultas

Com relação aos processos oncológicos ginecológicos, o câncer de colo uterino, reveste-se de extrema importância pelo impacto socio-econômico especialmente em países em desenvolvimento. Este câncer chega a acometer cerca de 530 mil mulheres no mundo, sendo que a Organização Mundial de Saúde (OMS) o destaca como sendo o 6º tipo mais ocorrente (em países desenvolvidos), e o 2º tipo mais frequente entre as mulheres, representando um grave problema de saúde pública em virtude de ocasionar altos índices de mortalidade. Do meio milhão de casos novos, registram-se cerca de 260 mil mortes em todo o mundo, ressaltando que 80% destas acontecem em países em desenvolvimento (WOLSCHCK et al, 2007; MALAGUTTI; BERGO, 2010; FONSECA et al, 2010; INCA, 2013).

O Instituto Nacional do Câncer – INCA estima, para o ano de 2014, a ocorrência de 576.000 novos registros de câncer no país, dentre esses 15.590 novos casos de câncer do colo do útero, número mais significativo quando se observa o número de mortes de 5.160, no ano anterior, por câncer do colo do útero (INCA, 2014) (Tabela 1).

Analisando a frequência da doença no Brasil, a previsão para 2014 foram de 17.540 casos novos, com estimativa variando de 17 a 21 casos a cada 100 mil mulheres, sendo maiores incidências registradas em estados com menor nível de desenvolvimento socioeconômico. Na região Centro- Oeste a incidência média é de 28/100 mil, na região Norte de 24/100 mil, na região Nordeste de 18/100 mil, na região

Sudeste de 15/100 mil e na região Sul de 14/100 mil (INCA 2014). No Norte a ocorrência é de 1.890 casos novos de câncer cervical, sendo que no Estado do Pará haveria registro de 960 casos novos em sua capital Belém (INCA, 2014).

Segundo INCA 2014 o câncer de colo uterino ocupa o terceiro lugar geral no País. Está em primeiro lugar na região Norte (24 casos/100mil). Nas regiões Centro-Oeste (22 casos/100mil) e Nordeste (19 casos/100 mil) ocupa o segundo lugar. Na região Sudeste (18 casos/100mil) é o quarto, e na região Sul (16 casos/100 mil) o quinto mais incidente. Por este motivo no Brasil preconiza-se o rastreamento do câncer de colo uterino seja realizado em mulheres dos 25 a 64 anos, com coleta de preventivo (Papanicolaou) a cada 3 anos, após 2 exames normais com intervalo de 1 ano.

Tabela1: Estimativas de casos novos por câncer nas diferentes regiões do Brasil para o ano de 2014

Localização Primária	Norte	Nordeste	Centro-Oeste	Sul	Sudeste
Próstata	2.480	12.930	4.580	12.830	35.980
Mama Feminina	1.720	10.490	3.800	10.370	30.740
Colo do Útero	1.890	5.370	1.640	2.320	4.370
Traqueia, Brônquio e Pulmão	1.020	4.280	1.660	7.830	12.540
Cólon e Reto	790	3.900	1.990	6.060	19.860
Estômago	1.370	4.610	1.250	3.490	9.670
Cavidade Oral	410	3.020	840	2.590	8.430
Laringe	300	1.500	430	1.420	3.990
Bexiga	280	1.120	610	1.750	5.180
Esôfago	260	1.740	670	3.020	5.090
Ovário	220	1.150	510	960	2.840
Linfoma de Hodgkin	150	360	220	410	1.040
Linfoma não Hodgkin	350	1.720	590	1.800	5.330
Glândula Tireoide	370	1.970	440	2.840	3.580
Sistema Nervoso Central	370	1.840	660	2.090	4.130
Leucemias	530	2.080	550	2.060	4.150
Corpo do Útero	180	1.140	390	910	3.280
Pele Melanoma	150	770	350	1.800	2.820
Outras Localizações	2.850	14.770	4.760	16.790	33.700
Subtotal	15.690	74.760	25.940	81.340	196.720
Pele não Melanoma	4.330	24.300	15.500	34.990	103.010
TOTAL	20.020	99.060	41.440	116.330	299.730

O câncer de colo uterino quando diagnosticado e tratado precocemente, constitui causa de morte evitável, entretanto, a mortalidade por essa doença ainda é elevada no Brasil. Na maioria dos casos, apresenta longa evolução desde a lesão inicial até o câncer invasivo, o qual é mais comum em mulheres com idade superior aos 40 anos (MURTA *et al.*, 1999).

Um estudo realizado por Fernandes *et al.* (2010) na cidade de Natal, analisou 190 mulheres com diagnóstico histopatológico de neoplasia intraepitelial cervical grave (NIC III) e câncer de colo uterino, e verificou que a média de idade das pacientes com este câncer foi de 47,3 anos. Outro trabalho mostrou que na região Norte do Brasil a média de idade foi de 51 anos (NORONHA *et al.*, 1999, RABELO-SANTOS *et al.*, 2003) e na Região Sul foi de 52 anos (ELUF-NETO *et al.*, 1994). Nesse mesmo estudo, foi observada uma alta incidência em mulheres casadas, com baixos níveis educacionais, com mais de um parceiro e fumantes (FERNANDES *et al.*, 2010).

Cerca de 30% a 71% dos carcinomas *in situ* não tratados evoluem para a invasão em 10 anos, ou seja, o diagnóstico das neoplasias pré-invasivas pode ser feito em torno dos 20 aos 30 anos (MURTA *et al.*, 1999). Mostrando que a evolução do câncer de colo uterino se dá de forma lenta, na maioria dos casos, 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 (BRASIL, 2000).

Entretanto, falhas nos diferentes níveis de assistência à saúde, culminam com a descoberta da doença em estágios mais avançado, diminuindo a chance de sobrevivência. A incidência desta neoplasia torna-se evidente na faixa etária de 20 a 29 anos, o risco aumenta rapidamente até atingir seu pico geralmente entre 45 e 49 anos (SILVA, 2006; ZHENG ; BAKER, 2006; MOODY ; LAIMINS, 2010) (Figura 1).

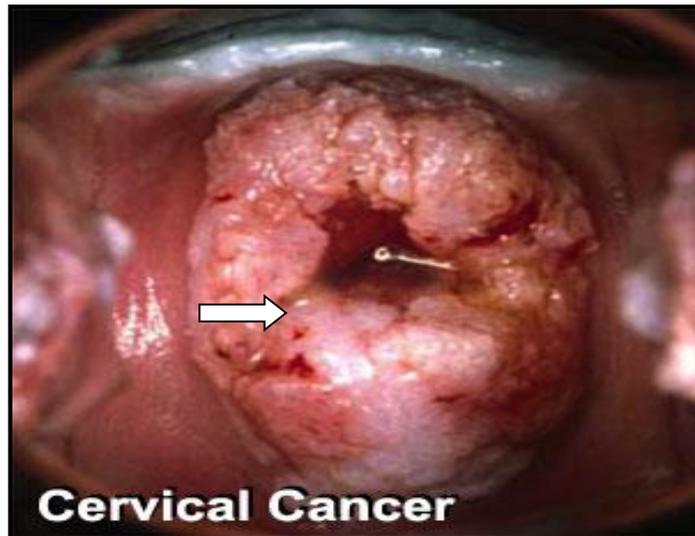


Figura 1: Foto de colposcopia realizada em paciente portadora de lesão neoplásica em colo de útero apresentando sangramento (seta).¹

Fonte: www.patologiaurgente.blogspot.com/2010/12/cancer

Em países desenvolvidos, a sobrevida média estimada em 5 anos varia de 51% a 66%. Nos países em desenvolvimento, as lesões já são encontradas em estágios mais avançados e, conseqüentemente, a sobrevida diminui, cerca de 41% após 5 anos. A média mundial estimada é de 49% (INCA,2009).

O perfil epidemiológico do câncer cervical engloba mulheres no menacme, com coitardia e paridade precoces, multiplicidade de parceiros, multiparidade, baixo nível sócio-econômico, tabagismo, fatores nutricionais como deficiência de vitamina A, ácido fólico, uso de contraceptivos hormonais orais e co-infecção por outros agentes infecciosos como vírus HIV, *Clamidia trachomatis* e infecção pelo HPV (INCA, 2009).

O HPV é considerado o agente etiológico do câncer de colo uterino. O DNA de HPVs de alto risco é detectado na maioria dos espécimes de câncer de colo uterino invasivo (92,9 a 99,7%). Porém, isso não é suficiente para o desenvolvimento do câncer. Outros fatores são necessários que isso ocorra (JACYNTHO, 2007).

Existe alta frequência de mulheres assintomáticas infectadas pelo HPV, cerca de 15% a 40%. Ayres e Silva (2010) mostraram em uma revisão sistemática no Brasil, a prevalência de infecção por HPV de 10,4% a 24,5% entre mulheres com citologia normal no exame de Papanicolaou, mostrando que o rastreamento desta infecção mostra falhas. No Brasil, estima-se que 20% das mulheres sexualmente ativas estejam infectadas pelo HPV, correspondendo 10 a 12 milhões de mulheres (INCA, 2008).

Estudos mostram que a infecção genital pelo HPV é comum em mulheres jovens, ocorrendo o primeiro contato com o vírus no início da vida sexual, e a prevalência declina com o passar dos anos. Ainda não está bem elucidado como o avanço da idade influencia na prevalência do HPV. Estudos mostram que as maiores prevalências são encontradas em mulheres abaixo de 25 anos, com progressivo decréscimo, alcançando valores inferiores a 5% após 55 anos (INCA, 2003).

A explicação para a redução da prevalência, com relação à idade, seria que ela resulte das mudanças de hábitos sexuais, que tornam as mulheres mais expostas. Entretanto, alguns estudos relatam queda na prevalência da infecção pelo HPV com o avanço da idade mesmo em mulheres que mantêm contínua e intensa atividade sexual. Isso sugere que, talvez, a queda seja independente do comportamento sexual, podendo estar relacionada com o desenvolvimento de imunidade tipo específica à infecção (WALBOOMERS *et al.*, 1999).

Alguns estudos veem mostrando um segundo padrão de prevalência da infecção genital pelo HPV, onde a prevalência segue uma curva bi-modal em forma de “U”, com maior predomínio entre jovens, declinando na 3ª década e com novo pico ao redor de 55 anos ou mais (BOSH *et al.*, 2008). Existindo neste segundo pico em alguns casos a prevalência da infecção pelos tipos virais de baixo risco em outros pelos tipos virais de alto risco. Ainda não são conhecidas as razões para o segundo aumento na prevalência da infecção após a menopausa. As mudanças hormonais

associadas a idade podem ser consideradas, pois poderiam alterar a suscetibilidade a infecção, devido ao período transmenopausa e pós menopausa caracterizam-se por progressiva redução na produção hormonal dos esteroides ovarianos, com repercussão sobre o sistema urogenital, predispondo ao maior risco de eclosão de infecções. Porém, outros mecanismos podem ser associados como aquisição de nova infecção ou reativação de infecção latente. O entendimento da história natural dessa infecção nas diferentes fases da vida da mulher é importante para o desenvolvimento de estratégias preventivas para o câncer cervical em todas as idades (BOSCH, 2008).

O Brasil não apresenta dados estatísticos de prevalência de infecção pelo HPV na população sexualmente ativa nos seus Estados e Regiões. Os dados que existem são obtidos da análise de pacientes portadoras de NIC e carcinoma invasor do colo uterino. Em São Paulo, o Instituto Adolfo Lutz registrou uma taxa de 16,4% de infecções por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) em mulheres assintomáticas (PEREIRA *et al.*,2003).

Fernandes et al (2013) realizaram um estudo com 425 mulheres de 2005 a 2008, na região nordeste do Brasil, onde houve prevalência de 65.2%, sendo entre as infectadas, 85.9% infecção por um tipo de vírus e 14.1% múltiplos tipos. Os tipos mais prevalentes foram HPVs 16, 58, 18, 31 e 45.

No Acre, um estudo conduzido com 772 mulheres apresentou prevalência de 85,3% (BORGES, 2012). No sudeste do país, em São Paulo, em 2008, com uma amostra de 2300 indivíduos, a percentagem foi de 14,3% (RAMA et al, 2008). No Rio de Janeiro, a prevalência foi de 18.3% (AFONSO et al, 2013). No estado do Pará, um estudo realizado por Pinto e colaboradores mostrou que na capital Belém, a prevalência da infecção pelo HPV foi de 15% em mulheres assintomáticas e de 14,6% na cidade de Tucuruí (PINTO, 2011).

Com relação a sua estrutura os HPVs são vírus pequenos, não envelopados, da família Papillomaviridae, com aproximadamente 5nm de diâmetro, com capsídeo icosaédrico, sendo um DNA vírus de dupla cadeia (Figura 2). Estes vírus não codificam polimerase ou outras enzimas necessárias para a sua replicação e, por esse motivo, depende de proteínas de replicação das células hospedeiras para síntese do seu DNA Não podem ser cultivados in vitro, pois depende também da diferenciação celular para expressar suas proteínas (MOODY ; LAIMINS, 2010).

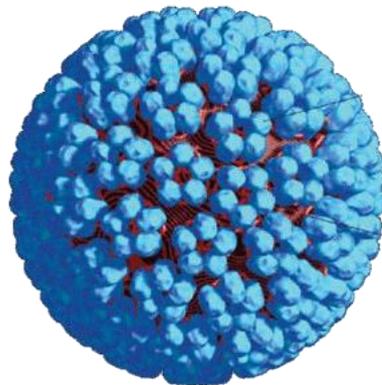


Figura 2: Desenho esquemático do HPV mostrando seu capsídeo viral icosaédrico.²

A inoculação do HPV ocorre durante a relação sexual com pessoas infectadas, sendo que o vírus penetra no hospedeiro através de micro-traumatismos. As células basais tornam-se infectadas. O DNA do HPV se estabelece no núcleo da célula infectada, mas de forma epissomal, ou seja, não integrado ao genoma do hospedeiro. Na camada basal da mucosa são expressos os genes precoces do HPV, genes com baixo número de cópias virais. À medida que progride a maturação celular, são expressos os genes precoces com grande quantidade de cópias virais. Nas camadas superficiais da pele se expressam os genes tardios que formam os virions infectantes (STANLEY, 2005). Como não há *lise* celular, os *virions* infectantes são liberados a partir da descamação do epitélio. Provavelmente por isso, não há inflamação local,

havendo pouco estímulo do sistema imunológico, mediado pelas células de Langerhans, localizadas preferencialmente na porção basal do epitélio. O atraso no reconhecimento do HPV é também responsável pela natureza resistente das lesões cervicais (COX *et al.*, 2003). Em geral, a infecção é resolvida pelo sistema imunológico em até 2 anos. Porém, se ocorre a persistência desta infecção, há um grande risco de desenvolver câncer. Normalmente, a evolução para lesões malignas pode demorar de 10 a 20 anos (SHEPHERD ; BRYSON, 2008).

A estrutura molecular do genoma dos HPV pode ser dividida em duas regiões-chaves, uma com 7-8 genes, ditas proteínas precoces (E1-E8), e outra com duas proteínas estruturais do capsídeo viral ditas tardias (L1-L2). A L1 é a maior proteína do capsídeo e L2 a menor que recruta o genoma viral para ser encapsulado. A região E está relacionada com a replicação viral (E1,E8), controle de transcrição (E2,E8) e transformação celular (E5,E6 e E7) (GONÇALVES ; DONADI, 2004; HORVATH *et al.*, 2010; LONGWORTH ; LAIMINS, 2004). As proteínas E1 e E2 possuem papéis importantes na replicação do genoma viral e regulação da transcrição precoce resultando na sua amplificação e indução de anormalidades cromossômicas (MOODY ; LAIMINS, 2010; ZHENG ; BAKER, 2006).

A proteína E1 é uma helicase essencial para replicação viral e transcrição gênica. A E2 é importante para o controle da expressão dos genes virais e em baixos níveis age como ativador transcricional, enquanto que em altos níveis pode agir como repressor transcricional, isso faz com que E2 controle o número de cópias virais nas células indiferenciadas (GONÇALVES ; DONADI, 2004; GRM *et al.*, 2009; LONGWORTH ; LAIMINS, 2004; SOUTHERN ; HERRINGTON, 2000; SZOSTEK *et al.*, 2008). As oncoproteínas virais E5, E6 e E7 são fatores primários responsáveis pela iniciação e progressão do câncer e agem suprimindo a regulação da proliferação celular, inibindo

os anti-oncogênios da célula hospedeira, com isso, podem induzir á immortalização celular (MOODY ; LAIMINS, 2010; ZHENG ; BAKER, 2006) (Figura 3).

A expressão de E6 e E7 desregula o controle do ciclo celular colocando as células diferenciadas em fase S do ciclo (fase de síntese de DNA propícia para replicação viral) permitindo a ampliação do genoma viral dentro da célula. A proliferação das células (infectadas ou não pelo HPV) é controlada pelas proteínas reguladoras da replicação celular, principalmente o Retinoblastoma, gene supressor de tumor (Rb) que regula o ciclo celular localizado no cromossoma 13 e o p53 chamado de guardião do genoma localizado no cromossoma 17, que quando percebem a célula geneticamente alterada induz a morte desta, impedindo sua multiplicação. (DOBO *et al.*, 2003; LONGWORTH ; LAIMINS, 2004; ZHENG ; BAKER, 2006; SILVA, 2006). Porém se os oncoreguladores forem inativados, esta inibição não ocorre, instalando-se a via oncogênica, levando às lesões intraepiteliais cervicais ao invés da metaplasia natural. A proteína E6 se liga à proteína supressora de tumor p53, levando a sua maior degradação, já a proteína E7 se liga à família de genes supressores de tumor retinoblastoma (Rb), com isso o fator de transcrição E2F é liberado, levando a uma ativação constitutiva dos genes induzidos por ele, que estão envolvidos na síntese de DNA. A proteína p21 também é inibida por E7, permitindo o acúmulo de alterações genéticas. As ações cooperativas de E6 e E7 causam a immortalização das células infectadas, sendo aumentada pela ação da proteína E5.

As proteínas E6 e E7 dos HPVs considerados de baixo risco inativam p53 e Rb com menor eficiência que as oncoproteínas E6 e E7 dos HPVs de alto risco (ZHENG ; BAKER, 2006).

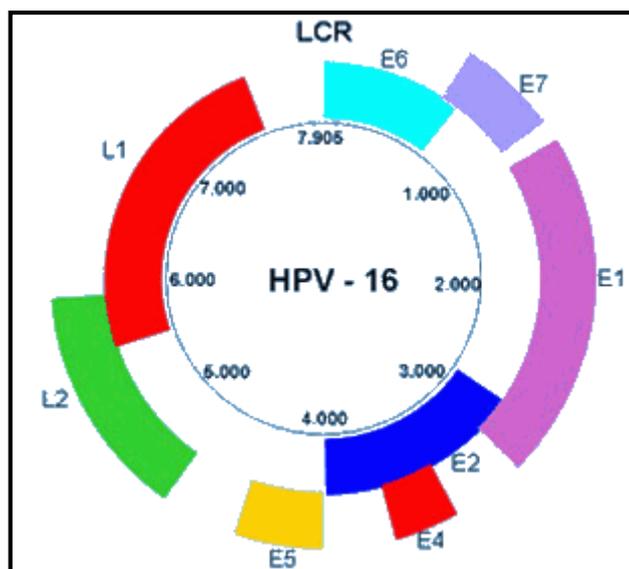


Figura 3: O genoma do HPV é constituído por cerca de 8000 pares de base distribuídos em duplo filamento circular com 2 genes estruturais tardios (L1 e L2) e genes funcionais precoces (E1 a E7).³

O HPV é classificado conforme seu poder oncogênico e, dessa forma, são conhecidos HPV de baixo risco e alto risco para desenvolver o câncer genital. Sendo importante constatar que os tipos mais frequentemente associados às verrugas, na sua grande maioria, não são os mesmos encontrados nos tumores malignos. Dos mais de 40 tipos que infectam o trato genital inferior, 14 tipos de HPVs foram considerados como oncogênicos, ou seja, de alto risco para câncer, que seriam 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68. Aproximadamente, 90% dos cânceres de colo uterino são causados por 5 tipos de HPV, 16, 18, 31, 45 e 33, em ordem de prevalência, sendo o HPV16 relacionado com a metade dos casos em todo mundo e o HPV18 encontrado em 10 e 15% de todos os casos (MUÑOZ, 2003). Dentre os tipos não oncogênicos, os mais frequentes nas infecções do trato genital

inferior, são os tipos HPV6 e HPV11. Aproximadamente 90% das verrugas genitais são causadas por HPV6 (MUÑOZ, 2003).

A infecção persistente pelo HPV oncogênico é essencial para a progressão de uma lesão de menor importância para neoplasia intra-epitelial de alto grau e, a seguir, para lesão invasora. Desta forma, a infecção persistente por longos períodos de tempo permite o desenvolvimento de alterações genéticas adicionais e a progressão das lesões para câncer invasivo (MUNOZ, 2003).

A infecção da mucosa genital pelo HPV leva, frequentemente, ao aparecimento de alterações citomorfológicas cervicais conhecidas por atipias coilocitóticas, em aproximadamente 90% destas alterações localizadas na zona de transição escamo-colunar do epitélio, onde as células proliferativas estão mais expostas. O coilócito é caracterizado por um amplo halo perinuclear, com as bordas bem delimitadas e, normalmente, bi-nucleação; além disso, os núcleos são hipercromáticos com contornos irregulares. Estas células começam a aparecer primeiro nas camadas intermediárias da epiderme, estendendo-se até as camadas superficiais, onde geralmente ocorrem de forma mais exuberante. Pode-se demonstrar a presença de partículas virais e dos antígenos de capsídeo em alguns, mas não em todos os coilócitos. Assim, a presença de coilócitos não deve ser tomada de forma isolada para o diagnóstico da infecção pelo HPV (ROBBINS *et al.*, 2005).

Algumas lesões associadas ao HPV progridem para diferentes graus de neoplasias, com alterações das células infectadas no seu crescimento e diferenciação, continuando com sua proliferação acima da camada basal, perdendo o padrão de estratificação em camadas de células diferenciadas, expressando queratina em quantidade e qualidade diferentes (ROBBINS *et al.*, 2005). De acordo com o sistema de Bethesda estas lesões recebem a seguinte classificação, Lesão Escamosa Intra-epitelial de Baixo Grau (LSIL) e Lesão Escamosa Intra-epitelial de Alto Grau

(HSIL), nas duas classificações a infecção pelo HPV é considerada um processo pré-neoplásico podendo evoluir com invasão dos tecidos adjacentes e/ou metastatizar (BRASIL, 2006).

Em 1993, Richart e Wright agruparam essas lesões em NIC de baixo grau (NIC I) e de alto grau (NIC II e III), semelhante ao Sistema de Bethesda. A NIC representa um grupo de modificações que ocorrem no epitélio escamoso com potencial maligno, com atipia nuclear, capacidade de diferenciação celular e atividade mitótica. Quanto mais intensa a atipia, menor será a diferenciação, caracterizando as formas mais graves de NIC, assim como maior o número de processos mitóticos e a sua presença nas camadas superiores do epitélio, também denotam maior gravidade das lesões. Na fase invasiva inicial as características histológicas são semelhantes das NIC, porém, observa-se rompimento da membrana basal, com células neoplásicas infiltrando o estroma.

Diversos fatores estão envolvidos no processo de transformação maligna, entre eles fatores ambientais, como carcinógenos químicos e físicos, ou restritos ao hospedeiro, tais como hormônios, resposta imunológica, herança genética, entre outros (HAWLEY-NELSON *et al.*, 1989, BISI *et al.*, 1999; MARTINS *et al.*, 2000.).

Em pacientes imunocompetentes, apenas 2% a 3% das pacientes infectados por HPV desenvolvem displasia. Os fatores que determinam a progressão da doença são principalmente o genótipo do HPV, carga viral e a persistência da infecção. O gatilho para o reconhecimento espontâneo do vírus no organismo não é conhecido, diversos estudos sugerem que a resposta imunológica seja mediada pela imunidade celular. Macrófagos e monócitos liberam citocinas como IFN (interferon) alfa, beta, TNF (fator de necrose tumoral) alfa e várias interleucinas em resposta ao reconhecimento do HPV. As citocinas também atuam com quimiotrativos. As células

dendríticas (Langerhans) reconhecem e processam os antígenos do vírus para posterior apresentação e ativação da resposta adaptativa contra o HPV (BURK, 1996). Evidências de depressão imunológica, com diminuição no número de células de Langerhans, têm sido associadas à progressão das lesões induzidas pelo HPV. O processo inflamatório gerado no local pelo HPV, leva o epitélio glandular à metaplasia. A ocorrência da metaplasia pode inibir a migração de células de Langerhans, tornando essa área de risco para o desenvolvimento de NIC, não só pelo fator local de instabilidade tecidual, mas também pela diminuição das células apresentadoras de antígeno.

Para que a resposta imunológica aconteça é necessária a interação das células de Langerhans com o tecido epitelial. Essa interação é mediada por uma molécula de adesão chamada E-caderina, que possui a função de promover a adesão intracelular, mantendo a arquitetura tecidual normal. A E-caderina impede que as células tumorais primárias se soltem e invadam locais próximos ou distantes (KNUDSEN ; WHEELLOCK, 2005). Portanto, a redução da expressão dessas moléculas é um fator facilitador da disseminação das células tumorais (BRUNETTI, 2005). Acredita-se que o HPV seja o responsável pela diminuição da expressão da E-caderina e assim, nos tecidos com lesão intra-epitelial escamosa e nos carcinomas escamoso, a expressão da E-caderina é mais baixa do que nos tecidos normais. Relatam ainda que a expressão da E-caderina diminui inversamente proporcional ao grau de NIC (HUBERT et al,2005).

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. DELINEAMENTO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo observacional, descritivo e analítico, do tipo transversal, realizado na Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará,

5.2. SUJEITOS

As participantes foram selecionadas entre mulheres que compareceram para atendimento no ambulatório de ginecologia da Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará, para consulta de rotina. Neste ambulatório foram realizados a colheita de dados através do formulário epidemiológico e a colheita do material cervical e vaginal para a realização da detecção do DNA do HPV.

5.2.1. Critérios de inclusão

- Mulheres com idade entre 35 e 60 anos
- Possuir registro no Hospital Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará
- Ter as funções cognitivas preservadas no momento da coleta de dados
- Aceitar participar da pesquisa com assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
- Ter vida sexual iniciada

5.2.2. Critérios de exclusão

- Mulheres com idade inferior a 35 anos ou superior a 60 anos, de acordo com o conceito da OMS e da Sociedade Internacional do Climátero com relação á faixa etária desta fase;
- Gravidez confirmada;
- Virgens;
- Mulheres que não assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido e se recusaram a responder o formulário do estudo;
- Deficiência mental ou déficit cognitivo.

5.3. COLHEITA DAS AMOSTRAS

As amostras foram colhidas após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A)

5.3.1. Colheita dos dados clínicos e epidemiológicos

A colheita de dados foi realizada com um formulário clínico-epidemiológico, que indagou informações comportamentais, história sexual, reprodutiva com antecedentes de doença sexualmente transmissível, e outros dados clínicos específicos (Apêndice B). Este formulário foi aplicado durante a consulta médico-ginecológica.

5.3.2. Isolamento do DNA

Para obtenção de DNA das células cervicais, foi coletado o material através de raspado com escova estéril (kit para coleta de colpocitologia oncótica da Libbs®) da mucosa cervical. Após a colheita, a escova foi mergulhada em um tubo de 15 mL com 5 mL de PBS (solução salina tamponada com fosfato) onde a escova foi lavada e assim, as células ficaram em solução. Em seguida, o tubo foi centrifugado a 2000 rpm para a precipitação das células, e lavadas 3 vezes com PBS. Na última lavagem foi deixado 200 µL de PBS sobre o pellet de células e, em seguida, a amostra foi congelada em freezer -20°C. O DNA foi extraído utilizando Purilink mini kit (Invitrogen)

5.3.3. PCR para detecção do HPV e tipagem do HPV

Para a detecção do DNA do HPV foram utilizados dois procedimentos de PCR: o primeiro para a detecção e o segundo para a tipagem. Para controle da extração foi utilizado um par de oligonucleotídeos iniciadores de amplificação do gene da globina (a presença da globina atesta a qualidade da amostra, ou seja, existe DNA adequado para a PCR). As amostras positivas para HPV foram tipadas para os vírus dos tipos 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 52 e 58.

PCR 1 (detecção do DNA do HPV): para cada reação foram utilizado 100ng de DNA em 20µL de tampão composta 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 oligonucleotídeos iniciadores, MY9 e MY11 (específicos para detecção de HPV) (BAUER et al, 1993) e 0,25 unidades de Taq polimerase. A reação iniciou-se com um ciclo de desnaturação de 94°C por 5 minutos, e seguiu-se de 40 ciclos da amplificação, sendo que cada ciclo constituiu-se em 94°C por 30 segundos, 56°C por 30 segundos e 72°C por 30 segundos. A extensão

final ocorre à 72°C por 5 minutos. As amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose a 1% em TBE (Tris-borato EDTA). As amostras positivas apresentaram uma banda de 440 pb (pares de base).

PCR 2 (Tipagem das amostras positivas para HPV) foi realizada por PCR em tempo real, utilizando sondas PrimeTime (IDT) específicas para cada subtipo testado e kit Platinum® qPCR SuperMix-UDG (Invitrogen). Para cada amostra foi utilizado 0,1 µg de de DNA, 200 nM de sonda específica, 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 60 segundos. Os resultados foram analisados pelo StepOnePlus V2 software. EXPLICAR MELHOR O CICLO, ciclos em tempo real?

6. ANÁLISE DE DADOS

Os resultados obtidos durante a pesquisa foram armazenados em planilhas eletrônicas usando o programa EXCEL e analisadas usando o programa Bioestat 5.0, sendo apresentados sob forma de tabelas. As variáveis contínuas foram analisadas pelo estudo de medidas de tendência central como média e mediana, bem como por medidas de variabilidade como coeficiente de variância e desvio-padrão. As hipóteses foram avaliadas pelos seguintes testes: qui-quadrado, exato de Fisher e/ou teste G de acordo com os valores obtidos.

6.1. ASPECTOS ÉTICOS

O estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Núcleo de Medicina Tropical, protocolo (Anexo A). Todas as participantes do estudo foram esclarecidas da importância do estudo, e foi solicitada a permissão

através da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice A), conforme rege a resolução 196/96, do Conselho Nacional de Saúde, sobre aspectos éticos envolvendo a pesquisa com seres humanos, autorizando sua participação nesta pesquisa, possibilitando a coleta de material biológico para pesquisa.

RESULTADOS

Foram coletadas 213 amostras de mulheres no climatério. A média de idade foi de 50,7 anos, variando de 35 a 60 anos. Cerca de 60% dessas mulheres eram casadas e 43% nível de escolaridade era baixo (Tabela 2).

Tabela 2: Distribuição das mulheres do estudo de acordo com fatores de risco socio-demográficos.

Variável	N	%	IC95%
Faixa Etária			
35 a 49 anos	91	42,7%	36,0 - 49,7
≥ 50 anos	122	57,3%	50,3 - 64,0
Idade			
Média ± DP	50,7 ± 7,4		
Mediana	51		
Escolaridade			
Analfabeta	92	43,2%	36,4 - 50,1
Ensino Fundamental	43	20,2%	15,0 - 26,2
Ensino Médio	69	32,4%	26,2 - 39,1
Ensino Superior/Pós-graduação	9	4,2%	2,0 - 7,9
Situação Conjugal			
Casada/Companheiro	129	60,6%	53,7 - 67,2
Solteira	35	16,4%	11,7 - 22,1
Viúva/Separada	49	23,0%	17,5 - 29,2

Em relação ao comportamento sexual, verificou-se que a maioria realizou a coitarca em idade de 15 a 19 anos e tiveram mais de 2 parceiros na vida. Poucas mulheres declararam ter relação com um parceiro novo no último ano. Verificou-se, também, que a maioria das mulheres manteve a vida sexual ativa (69,5%) (Tabela 3).

Tabela 3: Distribuição das mulheres do estudo de acordo com fatores de risco sexuais

Variável	N	%	IC95%
Coitarca Faixa Etária			
≤ 14 anos	27	12,7%	8,5 - 17,9
15 a 19 anos	116	54,5%	47,5 - 61,3
≥ 20 anos	68	31,9%	25,7 - 38,6
Ignorado	2	0,9%	0,1 - 3,4
Média ± DP	18,6 ± 4,8		
Mediana	18,0		
Parceiros sexuais na vida			
1 parceiro	62	29,1%	23,1 - 35,7
2 a 3 parceiros	69	32,4%	26,2 - 39,1
4 ou mais parceiros	76	35,7%	29,3 - 42,5
Ignorado	6	2,8%	1,0 - 6,0
Média ± DP	4,1 ± 4,6		
Mediana	3,0		
Parceiros sexuais último ano			
Nenhum	24	11,3%	7,4 - 16,3
1 ou mais	29	13,6%	9,3 - 19,0
Ignorado	160	75,1%	68,8 - 80,8
Média ± DP	0,6 ± 0,7		
Mediana	1,0		
Parceiros sexuais NOVOS último ano			
Nenhum	27	12,7%	8,5 - 17,9
1 ou mais	17	8,0%	4,7 - 12,5
Ignorado	169	79,3%	73,3 - 84,6
Média ± DP	0,5 ± 0,7		
Mediana	0,0		
Parceria sexual Atual			
SEM vida sexual ativa	65	30,5%	8,9 - 18,4
COM vida sexual ativa	148	69,5%	62,8 - 75,6

Um pouco mais da metade das mulheres não fazia uso de preservativo masculino e, entre as que faziam, a maioria não era com regularidade. Somente cerca da metade das mulheres fizeram uso de anticoncepcional ao longo da vida, sendo que no momento da pesquisa a maioria não fazia mais uso. Cerca de 70,9% tiveram 3 ou mais gestações (Tabela 4).

Tabela 4: Distribuição das mulheres do estudo de acordo com fatores de risco contraceptivos

Variável	N	%	IC95%
Uso de preservativo			
Não	117	54,9%	48,0 - 61,7
Sim	92	43,2%	36,4 - 50,1
Ignorado	4	1,9%	0,5 - 4,7
Preservativo frequência¹			
Às vezes	66	68,8%	59,5 - 78,0
Regularmente	24	25,0%	16,3 - 33,7
Ignorado	6	6,3%	1,4 - 11,1
Anticoncepcional oral na vida			
Não	111	52,1%	45,2 - 59,0
Sim	100	46,9%	40,1 - 53,9
Ignorado	2	0,9%	0,1 - 3,4
Anticoncepcional atual¹			
Não	95	93,1%	86,4 - 97,2
Sim	2	2,0%	0,2 - 6,9
Ignorado	5	4,9%	1,6 - 11,1
Número de gestações			
Nenhuma	7	3,3%	1,3 - 6,7
1 a 2	54	25,4%	19,7 - 31,7
≥ 3	151	70,9%	64,3 - 76,9
Ignorado	1	0,5%	0,0 - 2,6
Média ± DP	4 ± 2,6		
Mediana	3		

Outra variável estudada foi o uso de álcool, o qual ocorreu em 60,1% das mulheres, porém, atualmente, poucas permanecem com este hábito. Em relação ao fumo, foi percebido o mesmo comportamento.

Tabela 5: Distribuição das mulheres do estudo de acordo com o consumo de álcool e fumo

Variável	N	%	IC95%
Álcool Vida			
Não	128	60,1%	53,2 - 66,7
Sim	85	39,9%	33,3 - 46,8
Álcool Atual			
Não	166	77,9%	71,8 - 83,3
Sim	44	20,7%	15,4 - 26,7
Ignorado	3	1,4%	0,1 - 3,4
Fumo Vida			
Não	129	60,6%	53,7 - 67,2
Sim	84	39,4%	32,8 - 46,3
Fumo Atual			
Não	191	89,7%	84,8 - 93,4
Sim	21	9,9%	6,2 - 14,7
Ignorado	1	0,5%	0,0 - 2,6

Verificou-se que as mulheres estudadas tinham o hábito de realizar o exame colpocitológico, porém não com frequência. A ocorrência de DST foi negada pela maioria das mulheres, porém problemas genitais, como corrimento vaginal, foram descritos com grande frequência (Tabela 6).

Tabela 6: Distribuição das mulheres do estudo de acordo com fatores de risco ginecológicos

Variável	N	%	IC95%
PCCU na Vida			
Até 3 vezes	36	16,9%	12,1 - 22,6
4 a 5 vezes	44	20,7%	15,4 - 26,7
6 a 10 vezes	45	21,1%	15,8 - 27,2
Mais de 10 vezes	87	40,8%	34,2 - 47,8
Ignorado	1	0,5%	0,0 - 2,6
História de DST			
Não	186	87,3%	82,1 - 91,5
Sim	23	10,8%	7,0 - 15,8
Ignorado	4	1,9%	0,5 - 4,7
Problema Genital			
Não	54	25,4%	19,7 - 31,7
Sim	156	73,2%	66,8 - 79,1
Ignorado	3	1,4%	0,3 - 4,1

A prevalência geral da infecção genital pelo HPV nesta população foi de 11,7% (25/213). E esta foi maior nas mulheres que mantêm a vida sexual ativa, apesar de não apresentar significância estatística (Tabela 7).

Tabela 7: Prevalência da infecção genital pelo HPV em mulheres com e sem vida sexual ativa.

Variável	Mulheres	DNA HPV		OR	p-valor
		N	%		
Parceria sexual Atual					
SEM vida sexual ativa	65	5	7,7%	0,53	0,257
COM vida sexual ativa	148	20	13,5%		

Os fatores sociais não influenciaram na prevalência da infecção pelo HPV, porém, mulheres com 50 anos ou mais, casadas ou com companheiro e analfabetas apresentaram maior prevalência pelo HPV.

Tabela 8: Prevalência da infecção genital por HPV (presença do DNA do HPV), segundo os fatores de risco sócio-demográficos.

Variável	Mulheres	DNA HPV		OR	p-valor
		N	%		
Faixa Etária					
35 a 49 anos	91	7	7.7	2.07	0.1131
≥ 50 anos	122	18	14.8		
Situação Conjugal					
Casada/Companheiro	129	17	13.2	1	
Solteira	35	4	11.4	0.85	0.7837
Viúva/Separada	49	4	8.2	0.58	0.3586
Escolaridade					
Analfabeta	92	12	13.0	1	
Ensino Fundamental	43	5	11.6	0.87	0.8174
Ensino Médio ou mais	78	8	10.3	0.76	0.5749

A idade da coitarca foi importante fator para a aquisição da infecção pelo HPV, sendo que mulheres que realizaram a coitarca até 14 anos apresentaram maior

prevalência da infecção pelo HPV (25,9%). As mulheres que alegaram ter se relacionado com apenas um parceiro durante a vida apresentaram maior prevalência de HPV. Em relação aos parceiros no último ano e parceiros novos no último ano, a maioria não respondeu, prejudicando a análise dos dados (Tabela 9).

Tabela 9: Prevalência da infecção genital por HPV (presença do DNA do HPV), segundo os fatores de risco sexuais

Variável	Mulheres	DNA HPV		OR	p-valor
		N	%		
Coitarca Faixa Etária					
≤ 14 anos	27	7	25,9%	1	
15 a 19 anos	116	12	10,3%	0,33	0.0379*
≥ 20 anos	68	6	8,8%	0,28	0.0360*
Parceiros sexuais na vida					
1 parceiro	62	9	14,5%	1	
2 a 3 parceiros	69	6	8,7%	0,56	0.3008
4 ou mais parceiros	76	9	11,8%	0,79	0.6432
Parceiros sexuais último ano					
1 ou mais	29	3	10,3%	0,81	0.8056
Nenhum	24	3	12,5%		
Parceiros sexuais NOVOS último ano					
1 ou mais	17	3	17,6%	1,71	0.5414
Nenhum	27	3	11,1%		

Quanto ao uso de preservativo na vida, não apresentou associação com a infecção pelo HPV. Porém, dentre as mulheres que faziam uso irregular apresentaram prevalência maior em relação às que usavam em todas as relações, e foi estatisticamente significativa ($p=0,0148$) (Tabela 10).

O uso de contraceptivo oral não foi relevante para a aquisição da infecção pelo HPV, tão pouco o número de gestações (Tabela 10).

Tabela 10: Prevalência da infecção genital por HPV (presença do DNA do HPV), segundo os fatores de risco contraceptivos

Variável	Mulheres	DNA HPV		OR	p-valor
		N	%		
Uso de preservativo					
Nunca	117	14	12,0%	1.11	0,8052
Sim	92	10	10,9%		
Uso de preservativo frequência					
Às vezes	66	9	13,6%	nt	0,0148*
Regularmente	24	0	0,0%		
Anticoncepcional oral na vida					
Sim	100	12	12,0%	1.02	0,9484
Não	111	13	11,7%		
Anticoncepcional atual					
Sim	2	0	0.0	nt	0,9719
Não	95	11	11,6		
Número de gestações					
Nenhuma	7	1	14,3%	1	
1 a 2	54	4	7,4%	0.48	0,5403
≥ 3	151	20	13,2%	0.91	0,9368

O uso de álcool e de fumo não foram associados à infecção pelo HPV (Tabela 11), tão pouco o histórico ginecológico (Tabela 12).

Tabela 11: Prevalência da infecção genital por HPV (presença do DNA do HPV), segundo o uso de álcool e fumo.

Variável	Mulheres	DNA HPV		OR	p-valor
		N	%		
Álcool Vida					
Sim	85	8	9,4%	0,68	0,3902
Não	128	17	13,3%		
Álcool Atual					
Sim	44	5	11,4%	0,93	0,8909
Não	166	20	12,0%		
Fumo Vida					
Sim	84	10	11,9%	1,02	0,9510
Não	129	15	11,6%		
Fumo atual					
Sim	21	3	14,3%	1,28	0,7096
Não	191	22	11,5%		

Tabela 12: Prevalência da infecção genital por HPV (presença do DNA do HPV), segundo os fatores de risco ginecológicos.

Variável	Mulheres	DNA HPV		OR	p-valor
		N	%		
PCCU na Vida					
Até 3 vezes	36	1	2,8%	1	
4 a 5 vezes	44	7	15,9%	6,62	0,0842
6 a 10 vezes	45	7	15,6%	6,64	0,0886
Mais de 10 vezes	87	10	11,5%	4,54	0,1564
História de DST					
Sim	23	3	13,0%	1,11	0,8655
Não	186	22	11,8%		
Problema Genital					
Sim	156	20	12,8%	1,44	0,4880
Não	54	5	9,3%		

A subtipagem das amostras positivas revelou que, de 25 amostras positivas, apenas 8 foram positivas para os subtipos testados. Para os tipos testados, os com maior frequência foram o tipo 6 e 35 com 8% cada. Os outros que foram encontrados foram 11, 16, 31 e 33, com frequência de 4% cada (Tabela 13).

Tabela 13: Frequência dos subtipos de HPV testados em relação às amostras positivas para HPV.

Subtipos de HPV	Frequência	%
58	0/25	0
52	0/25	0
35	2/25	8
33	1/25	4
31	1/25	4
18	0/25	0
16	1/25	4
11	1/25	4
6	2/25	8
Outros subtipos	17/25	68

DISCUSSÃO

O climatério é um período de várias mudanças na fisiologia da mulher, pois há a diminuição da produção de estrógeno. Isso provoca modificações importantes no trato genital, que altera a imunologia local, levando a maior susceptibilidade a doenças como infecção pelo HPV e desenvolvimento de câncer. A idade do climatério abrange o período de 40 a 65 anos, a qual coincide com a faixa etária de maior incidência de câncer de colo uterino (FEBRASGO, 2004).

Como dito anteriormente, o agente etiológico do câncer de colo uterino é o HPV, e alguns estudos epidemiológicos vêm mostrando um segundo pico da infecção genital pelo HPV em mulheres a partir de 45 anos. Isso impacta diretamente na incidência desse câncer, principalmente na região norte do Brasil, que apresenta as maiores incidências de câncer de colo uterino. Assim, neste estudo foi investigada a epidemiologia da infecção genital pelo HPV e seus fatores de risco sócio-demográfico, comportamentais, sexuais e reprodutivos em 213 mulheres no climatério atendidas no Hospital de referência do município de Belém do Pará.

A prevalência do DNA do HPV foi de 11,7% nessa população estudada, sendo muito próxima a encontrada por Pinto e colaboradores, que também estudaram mulheres residentes em Belém. Este trabalho mostrou a prevalência em mulheres com 45 anos ou mais de 14,5%. No mesmo estudo, os autores mostraram, para a cidade de Tucuruí, a prevalência foi de 10,5% (PINTO, 2011). Em Baltimore, Althoff e col.(2009) mostraram a prevalência de 19% da infecção pelo HPV em mulheres no climatério, maior em relação a este estudo.

Em geral, a maior prevalência da infecção pelo HPV ocorre em mulheres jovens, porém estudos mostram um segundo pico de prevalência em mulheres com idade acima de 40 anos. Isso foi descrito na Europa, nas Américas do Sul e do Norte,

mas não na Ásia. A razão deste pico ainda não está bem clara, porém pode ser devido a atividade sexual, reativação de infecção latente pela flutuação hormonal durante a fase perimenopausal (de SANJOSE, 2007). Segundo Trottier e Franco (2006) e Herrero et al. (2005), poderia ser reativação de infecção latente, devido a pós-menopausa, ou possível aquisição de nova infecção proveniente de novos parceiros. Os dados mostrados na Tabela 9 neste trabalho, podem indicar que pode ocorrer a aquisição de nova infecção, pois mulheres sexualmente ativas apresentaram a prevalência de 13,5%, quase duas vezes mais em relação às mulheres sem vida sexual ativa (7,7%). Outro dado interessante foi que mulheres com 50 anos ou mais apresentaram maior prevalência de HPV (14,8%) em relação às mulheres com idade inferior (7,7%), e isso pode estar relacionado com a reativação do vírus (Tabela 08). Entretanto, no estudo realizado por Althoff (2009), a maior prevalência ocorreu em mulheres entre 40 e 45 anos.

Em relação a situação conjugal, observa-se uma maior frequência de HPV em mulheres casadas / companheiro estável (13,2%), podendo ser questionado a maior incidência nesta população devido à confiança na estabilidade da relação conjugal e o não uso do sexo seguro, como observado na Tabela 10. Suzuki et al (2007) identificou 65,9% das mulheres infectadas, em climatério, como sendo casadas. Essa maior prevalência pode estar ligada ao comportamento do parceiro sexual, o que pode ser uma possibilidade à exposição ao HPV nesta faixa etária. Uma revisão realizada por Eluf –Neto e Nascimento (2001), mostrou que na América Latina, o risco da infecção pelo HPV e câncer de colo uterino também tem associação com o hábito sexual dos parceiros masculinos, como contato sexual com número elevado de parceiros, relações extra-conjugais e relação sexual com profissionais do sexo.

O início da atividade sexual (coitarca) foi um fator importante para a aquisição da infecção pelo HPV. As mulheres que realizaram a coitarca até 14 anos apresentaram maior prevalência de infecção pelo HPV (Tabela 09). Isto pode ser explicado pela exposição temporal a diversos parceiros sexuais e fatores de risco, mostrando que a maioria das participantes iniciou sua vida sexual em um período considerado de maior risco para a infecção do HPV. Dados similares foram observados no estudo de Noronha (2007), com mulheres em Belém do Pará verificando uma coitarca igual a 18 anos.

Com relação ao número de parceiros, não houve diferença estatisticamente relevante, porém que chamou a atenção foi que, mulheres que tiveram parceiros novos no último ano, apresentaram prevalência alta (17,6%) em relação às que não tiveram (11,1%). Isso reforça a probabilidade de aquisição de infecção nova, como dito anteriormente. Além disso, também pode estar relacionado ao uso de preservativo, como verifica-se na Tabela 10, mesmo as mulheres que usavam preservativo, faziam de forma irregular, aumentando a exposição ao vírus.

O uso de métodos anticoncepcionais orais (MAO) no passado ou atual, não foi relevante para a aquisição do HPV, mesmo que o uso de MAO por tempo prolongado, principalmente por mais de 5 anos de uso, encontre-se associado à carcinogênese cervical. Tanto por ação direta do hormônio na cérvix uterina, elevando o risco de interação do DNA viral ao genoma do hospedeiro, quanto como o uso de MAO torna a mulher mais predisposta a manter relações sexuais sem o uso de preservativos, principalmente em relações estáveis com parceiro único. (PINTO; TULIO; CRUZ, 2002).

Entre as que tiveram filhos deram positiva para HPV 20,6%, com maior incidência em mulheres que tiveram 3 ou mais gestações, cerca de 13,2% (Tabela 12). Porém não apresentou relação significativa nos resultados.

O uso de álcool e fumo não foram associados à infecção pelo HPV neste estudo. Porém, com relação ao fumo, as mulheres que atualmente fumam, apresentaram maior prevalência de HPV (14,3%), em relação às que não fumam (11,5%) (Tabela 11).

Há muita divergência entre os resultados de vários estudos em relação ao tabagismo. Em concordância com estudos de Bauer et al (1993) em que fumantes apresentaram maior prevalência de infecção pelo HPV em relação às ex-fumantes e que nunca fumaram. Ferrecio et al (2004) relatou maior risco para a infecção para HPV tanto em fumantes e ex- fumantes em relação às mulheres que nunca fumaram. Mesmo o tabagismo sendo considerado um fator de baixo risco, tanto pela ação direta dos produtos carcinogênicos presentes no tabaco sob a mucosa cervical, quanto pela ação depressora sobre a imunologia local, o hábito do tabagismo é considerado um importante fator de risco tanto para a infecção do HPV como para o desenvolvimento do câncer (MALAGUTTI; BERGO, 2010; BRAGAGNOLO; ELI; HAAS, 2010).

Este estudo avaliou a prevalência de HPV em mulheres no climatério, que é um período de transformações fisiológicas que tornam as mulheres mais susceptíveis a infecções, dando ênfase às DSTs.

Em relação á infecção genital pelo HPV, o que se espera é uma diminuição gradativa com a idade da prevalência desta infecção. Porém, o que muitos trabalhos vêm mostrando é que esta prevalência em mulheres com idade acima de 40 anos, estão apresentando um novo pico da prevalência do HPV. Isso demonstra uma mudança que pode estar relacionada ao próprio comportamento sexual da mulher ou de seu parceiro para aquisição de nova infecção. Entretanto, também pode estar relacionada com reativação de infecção anterior. E isso, é de importância, pois este tipo de infecção é que está mais relacionada com o desenvolvimento de câncer de colo uterino.

A relevância clínica deste trabalho consiste em mostrar quais os riscos que mulheres no climatério apresentam e desenvolver políticas públicas direcionadas para esta população. Principalmente porque é nessa idade que aumentam os riscos de desenvolver o câncer. Ainda não existe uma segurança de indicar o rastreio para o câncer cervical ser realizado com menor frequência, sendo uma questão de controversa principalmente devido o segundo pico de infecção pelo HPV.

O entendimento da epidemiologia da infecção genital por HPV é um importante passo para o desenvolvimento de medidas preventivas desta infecção e consequente diminuição do câncer cervical.

É possível que as mudanças no comportamento sexual verificado nas últimas décadas tenham provocado diferentes exposições ao HPV. Isso justificaria as variações na prevalência por idade.

Estudos prospectivos serão importantes para estabelecer os fatores que determinam a incidência, a dinâmica da infecção e a persistência do HPV nas diferentes faixas etárias, a fim de que se possa adotar medidas preventivas que contemplem adequadamente todas as fases de vida da mulher.

CONCLUSÃO

- A prevalência por Reação em cadeia da polymerase (PCR) da infecção genital pelo HPV em mulheres no climatério foi de 11,7%
- As frequências dos subtipos testados entre as amostras positivas para HPV foram de 4% para HPV 11, 16, 31, 33 e de 8% para HPV 6 e 35.
- As mulheres um pouco mais da metade eram casadas, com idade igual ou acima de 50 anos, tiveram a coitarca entre 15 e 19 anos, não usavam anticoncepcional, nem preservativo. Tiveram 2 ou mais parceiros na vida e 3 ou mais filhos. Em sua maioria não eram tabagistas e não ingeriam bebida alcoólica.
- Os fatores de risco associados com a infecção genital pelo HPV foram: a coitarca com 14 anos ou menos e o uso irregular do preservativo.

REFERÊNCIAS

AFONSO, L.A.; ROCHA, W.M.; CARESTIANO, F.N.; DOBAO, E.; PESCA, L.F., PASSOS, M.R., CAVALCANTI, S.M. Human papillomavirus infection among sexual partners attending a Sexually Transmitted Disease Clinic in Rio de Janeiro, Brazil. **Braz J Med Biol Res**.v.46, n.6, p.533-538.2013.

ALTHOFF, K.N.; PAUL, P; BURKE, A.E.; VISCIDI, ., Sangaramoorthy M, Gravitt PE J. Correlates of cervicovaginal human papillomavirus detection in perimenopausal women. *Womens Health (Larchmt)* 2009 Sep;18(9):1341-6. doi: 10.1089/jwh..1223. 2009.

AYRES, A.R.G., SILVA, G.A. Cervical HPV infections in Brazil: Systematic Review. **Rev. Saúde Pública**, v. 44, n. 5, p. 963-974, out. 2010.

BAUER, H.M.; HILDESHEIM, A. SCHIFFMAN, M.H. GIASS A.G.; RUSH, B.; SCOTT, D.R. et al. Determinants of genital human papillomavirus infection in low-risk women in Portland, Oregon. *Sex Transm Dis*.;20(5):274-8.1993

BISI, F. et al. Fatores de risco para câncer em lesões de cérvix uterina. **Rev. Paraense de medicina**, v.13,n.1,p.18-23,1999

BORGES, M.F.S.O.; DOTTO LEILA, M.G.; KOIFMAN, R.J.; CUNHA, M.A.; MUNIZ, P.T. Prevalência do exame preventivo de câncer do colo do útero em Rio Branco, Acre, Brasil, e fatores associados à não-realização do exameCad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 28(6):1156-1166, jun, 2012

BOSCH, F. X. *et al.* Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and type-specific implications in cervical neoplasia. **Vaccine suppl.**, v. 10, p. 1-16, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação Nacional de DST/AIDS. **Manual de controle das doenças sexualmente transmissíveis - DST**. 3ª Ed. Brasília: Ministério da Saúde 2006.

BRAGAGNOLO, A; ELI, D; HAAS, P. Papiloma Vírus Humano (HPV) / Human Papillomavirus (HPV) *Rev. bras. anal. clin*; v.42, n.2, p.91-96. 2010.

BURK, R. D. *et al.* Sexual behavior and partner characteristics are predominant risk factors for genital human papillomavirus infection in young women. **J. Infect. Dis.**, v. 174, p. 679-689, 1996.

BRUNETTI, G.; SARLI, R.; PREZIOSI, I.; MONARI, C.; BENAZZI E-Cadherin and β -catenin Reduction Influence Invasion but not Proliferation and Survival in Canine Malignant Mammary Tumors *Veterinary Pathology* November v. 42 n. 6 p. 781-787. 2005

CÂNCER do Colo de Útero. [S.l.: s.n.], 2010. Disponível em: <http://patologiaurgente.blogspot.com.br>. Acesso em: 12/02/2012

COX, J. T.; SCHIFFMAM, M.; SOLOMON, D. Prospective follow-up suggests similar risk of subsequent cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 among women with cervical intraepithelial grade 1 or colposcopy and directed biopsy. **Am. J. Obstet. Gynecol.**,v. 188, n. 6, p. 406-412, 2003.

DE SANJOSE S, Diaz M, Castellsague X, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. **Lancet Infect Dis** v.7, p.453–459.2007

DOBO, C.; OSHIMA, C. T. F.; GIANNOTTI FILHO, O. Expressão de p53 em lesões do trato genital feminino associadas ao HPV. **Jornal Brasileiro de Patologia**, v. 39, p. 59, 2003.

ELUF-NETO, J. *et al.* Human papillomavirus and invasive cervical cancer in Brazil. **Br. J. Cancer**, v. 69, n. 1, p. 114-119, 1994.

ELUF-NETO J1, NASCIMENTO, C.M.; Cervical cancer in Latin America. **Semin Oncol.**1 Apr;28(2):p.188-97.2001

FEBRASGO. **Climaterio: manual de orientação**. São Paulo: Ponto, 2004.

FERRECCIO, C.; PRADO, R.B.; LUZORO, A.V.; AMPUERO, S.L.; SNIJDERS, P.J.; MEIJER, C.J.; VACCARELLA, S.V.; JARA, A.T.; PUSCHEL, K.I.; ROBLES, S.C.; HERRERO, R. FRANCESCHI, S.F.; OJEDA, J.M.; Population-based prevalence and age distribution of human papillomavirus among women in Santiago, Chile; **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.** Dec;13(12):p.2271-6.2004

FERNANDES, J. V. *et al.* Prevalence of human papillomavirus in archival samples obtained from patients with cervical pre-malignant and malignant lesions from Northeast Brazil. **BMC Research Notes**, v. 96, n. 3, 2010.

FONSECA, W.; GODOI, S.D.C.; SILVA, J.V.B. Papanicolaou na terceira idade: conhecimento e atitude das idosas cadastradas em uma Estratégia de Saúde da Família da cidade de Itaporã – **MS. RBCEH**, Passo Fundo, v. 7, n. 3, p. 357-369, set./dez. 2010.

GAMARRA, C. J.; VALENTE, J. G.; SILVA, G. A. Correction for reported cervical câncer mortality data in Brazil, 1996-2005. **Rev. Saúde Pública**, v. 44, n.4, p. 629-638, 2010.

GJOEN, K.; OLSEN, A. O.; MAGNUS, P. *et al.* Prevalence of human papillomavirus incervical scrapes, as analyzed by PCR, in a population-based sample of women with and without cervical dysplasia. **APMIS**, Copenhagen, v. 104, n. 1, p. 68-74, jan. 1996.

GONÇALVES, M. A. G.; DONADI, E.A. Immune Cellular Response to HPV: Current Concepts. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 8, n. 1, p. 1-9, 2004.

GRM, H. S.; BERGANT, M.; BANKS, L. Humam papillomavirus infection. **Indian J. Med. Res.**, p. 277-285, 2009.

HAWLEY-Nelson, P. *et al.* HPV16 E6 and E7 proteins cooperate to immortalize human foreskin keratinocytes. **EMBO J.**, v. 8, p. 3905-3910, 1989.

HERRERO, R, Castle PE, Schiffman M, Bratti MC, Hildesheim A, Morales J, et al. Epidemiologic profile of type-specific human papillomavirus infection and cervical neoplasia in Guanacaste, Costa Rica. *J Infect Dis.*;191(11):1796-807.2005

HORVATH, C. A. *et al.* Mechanisms of cell entry by human papillomaviruses: an overview. **Virology Journal**, v. 7, n. 11, 2010.

HUBERT, P., HERMAN, L. MAILLARD, C. CABERG, J. H., NIKKELS, A. et al. Defensins induce the recruitment of dendritic cells in cervical human papillomavirus - associated (pre) neoplastic lesions formed in vitro and transplanted in vivo. **Faseb Journal**, v.21, p. 2765-2775, 2007.

Sítio do INCA (Instituto Nacional do Câncer). Disponível em:
<<http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/Diretrizes para 2014>

INCA. **Estimativa 2010 da incidência do câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, 2009.

INCA **Estimativa 2014 da incidência do câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, 2013.

INCA. Prevenção do câncer de colo do útero: normas e recomendações do INCA. **Rev. Bras. Cancerol.**, v. 49, n. 4, p. 205-205, 2003.

INSTITUTO PORTUGUÊS DE ONCOLOGIA DO PORTO. **Ensino e Formação: Características do HPV**. [S.l.: s.n.], 2012. Disponível em: <http://www.ipoportor.min-saude.pt/formacaoeensino/hpv2.htm>. Acesso em: 13/02/2012.

JACYNTHO, C. **Opinião pessoal III: doença HPV, conduzindo lesão intraepitelial escamosa do colo uterino**. Rio de Janeiro,. 1 v.2007

KNUDSEN KA, WHEELLOCK MJ. Cadherins and the mammary gland. J Cell Biochem. 2005 Jun 1;95(3):488-96.2005.

LONGWORTH, M. S., LAIMINS, L. A. Pathogenesis of Human Papillomaviruses in Differentiating Epithelia. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 68, n. 2, p. 362-372, 2004.

MARTINS, N. V. et al. Colo do Útero. In.: **Ginecologia clínica e cirúrgica**. Belo Horizonte: Atheneu, 2000. P.293-319.

MALAGUTTI, W.; BERGO, A.M. A. **Perfil Epidemiológico das Doenças Transmissíveis na Terceira Idade**. Rio de Janeiro: Rubio, 2010.

MOODY, C. A.; LAIMINS, L. A. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. **Nature reviews**, v. 10, p. 550-560, 2010.

MUÑOZ, N *et al*. International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group, Epidemiologic classification of humano papillomavírus types associated with cervical cancer. **N. Engl. J. Med.**, v. 348, p. 518-527, 2003.

MURTA, E. F. C. *et al.* Câncer de colo uterino: Correlação com Início da Atividade Sexual e Paridade. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 21, n. 9, p. 555-559, 1999.

NORONHA, V. *et al.* Papilomavírus humano associado a lesões de cérvix uterina. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 32, n. 3, p. 235-240, 1999.

NORONHA, V.L. ***Papilomavirus humano (HPV) e co-fatores de risco em mulheres submetidas a rastreamento para câncer de cérvix uterina***: Unidade Materno-Infantil do Marco Belem, Para, Brasil. 2007. 155f. Tese (Doutorado em Medicina) – Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), 2007

PEREIRA, S. M. M. *et al.* Implantação do teste de captura de híbridos no Instituto Adolfo Lutz. **Bol. Inst. Adolfo Lutz**, v. 13, n. 1, 2003.

PINTO, A. P.; Tulio, S.; Cruz, O.R. Co-fatores do HPV na oncogênese cervical. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo, v. 48, n. 1. 2002 <http://www.scielo.br/scielo>. Acesso em: 23 ago. 2013.

PINTO. D.S.; Fuzii, H.T.; Quaresma, J.A.S.. Prevalência de infecção genital pelo HPV em populações urbana e rural da Amazônia Oriental Brasileira. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 27, n.4, Apr. 2011.

RABELO-Santos, S. H. *et al.* Human papillomavirus prevalence among women with cervical intraepithelial neoplasia III and invasive cervical cancer from Goiânia, Brazil.

Mem. Inst. Oswaldo Cruz, v. 98, n. 2, p.181-184, 2003.

RAMA, CH, SYRJÄNEN, K.; DERCHAIN, S.F.M. ALDRIGHI, J.M.; GONTIJO, R.C.; SARIAN, L.O.Z.; *et al.* Prevalência do HPV em mulheres rastreadas para o cancer cervical.

Ver. Saude Publica.;42(1):123-30.DO:10.1590/S0034-89102008000100016.2008.

ROBBINS, S.L. *et al.* **Patologia: bases patológicas das doenças**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

SHEPHERD, L. J.; BRYSON, S. C. Human papillomavírus lessons from history and challenges for the future. **J. Obstet. Gynaecol.**, v. 30, n. 11, p. 1025-1033, 2008.

SILVA, T. T. *et al.* Identificação de tipos de papilomavírus e de outro fatores de risco para neoplasia intraepitelial cervical. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, v. 28, p. 385-391, 2006.

SOCIEDADE PORTUGUESA DE PAPILOMAVÍRUS. **Informações Científicas**.

[S.l.: s.n.], 2009. Disponível em: http://www.sppv.org/info_ciencia.html. Acesso em: 12/02/2012.

SOUTHERN, S. A.; HERRINGTON, C. S. Disruption of cell cycle control by human papillomavirus with special reference to cervical carcinoma. **International Journal of Gynecological Cancer**, v. 10, p. 263-274, 2000.

STANLEY, M. Immune responses to human papillomavirus. **Vaccine**, Amsterdam, v. 24,supl. 1, p. S16-22, mar. 2005.

SUZUKI, L.E.;ALDRIGHI, J.M.; ALECRIN, I.N.; MARTINS, C.R. Estudo da prevalência da infecção genital por papilomavírus humano em mulheres no climatério. **Rev Bras de Análises Clínicas**, v. 39, n.4, p. 305-309, 2007.

SZOSTEK, S. *et al.* Genotype-specific human papillomavirus detection in cervical smears. **Acta Biochimica Polonica**, v. 55, n. 4, p. 687- 692, 2008.

TROTTIER, H, FRANCO E.L. **The epidemiology of genital human papillomavirus infection.** *Vaccine*. 2006;24(Suppl 1):S1-15. 2006.

WALBOOMERS, J. M. Human papillomavírus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. **J. Pathol.**, v. 189, p. 12-19, 1999.

WOLSCHICK, N.M.; CONSOLARO, M.E.L.; SUZUKI, L.E.; BOER, C.G. Câncer do colo do útero: tecnologias emergentes no diagnostico, tratamento e prevenção da doença. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v.39 n.2:p. 213-215, 2007

ZHENG, Z., BAKER, C. C., Papillomavirus genome structure, expression, and post-transcriptional regulation. **NIH Public access- author manuscript**, v.11, p. 2286-2302, 2006.

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Amostra de Belém – PA

Título do Estudo: Aspectos clínicos, epidemiológicos e moleculares da infecção genital pelo Papilomavirus humano (HPV).

Este documento deverá ser apresentado em sua totalidade ao indivíduo/paciente; nenhuma página ou seção deverá ser omitida. O conteúdo do documento deverá ser explicado verbalmente à participante.

Introdução

Este documento lhe dará [ou a seu responsável legal, quando menor de 18 anos] as informações necessárias para ajudá-la a decidir se você deseja participar ou não deste estudo. Ele permitirá uma compreensão completa, mas simples, acerca das razões científicas deste estudo, bem como sobre suas garantias e responsabilidades no caso de decidir participar do mesmo.

Objetivo do estudo

Este estudo tem a intenção de analisar os aspectos clínicos, epidemiológicos e moleculares da infecção genital pelo Papilomavírus humano (HPV) entre mulheres atendidas em Unidades Públicas de Saúde da cidade de Belém do Pará, para que possamos fornecer informações mais precisas e regionais para programas de prevenção e tratamento das lesões do colo do útero relacionadas ao HPV.

Participação no Estudo

Caso você decida participar deste estudo, todos os procedimentos serão realizados durante a sua consulta de rotina para a realização do seu PCCU (preventivo) nesta unidade de saúde, sendo que o primeiro passo será uma entrevista privada com um entrevistador que lhe explicará [e para seu responsável legal, quando menor de 18 anos] o estudo detalhadamente. Você deverá [e seu responsável legal, quando menor de 18 anos] antes consentir com a sua participação no estudo.

Pediremos que você responda a um formulário contendo perguntas sobre dados pessoais tais como: escolaridade, hábitos, história reprodutiva, sexual e anticoncepcional, e algumas informações ginecológicas.

Pediremos que você responda a um entrevistador que lhe fará cada pergunta do formulário pausadamente, dando-lhe tempo para as respostas, e caso você não compreenda a pergunta, esta será repetida e explicada até seu completo entendimento. Sua entrevista será realizada de maneira privada, sendo que suas respostas não serão reveladas a ninguém [nem ao seu responsável legal, quando menor de 18 anos].

Posteriormente, durante o seu exame ginecológico de rotina que será realizado normalmente por um médico ou técnico da unidade de saúde, serão realizados os seguintes procedimentos:

- A verificação de alguma anormalidade clínica no colo do seu útero;
- A retirada de uma porção de muco do colo do seu útero com uma escovinha plástica para a realização do exame de citologia cervical (Papanicolaou) e um exame de DNA para pesquisa de HPV, a fim de saber se você possui o HPV e o tipo;
- A inspeção visual do seu colo uterino com ácido acético a 2% ou 5% (IVA) e a colposcopia (fotografia do colo do útero);

Após estes procedimentos, a amostra coletada durante o seu exame ginecológico será analisada e testada por técnicos especializados em laboratórios autorizados por esta unidade de saúde e pelos laboratórios do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará. O médico desta unidade de saúde lhe informará o resultado do seu exame ginecológico, sendo também informado o resultado do seu exame para a pesquisa do DNA do HPV. Caso o resultado destes exames apresente

alguma alteração, o médico desta unidade de saúde lhe explicará o significado deste resultado e você será encaminhada para um ginecologista para um acompanhamento mais adequado.

É importante notar que você não deverá ter relações sexuais nas 24 horas prévias ao exame de PCCU (preventivo). Se você estiver menstruada ou usando algum tipo de medicamento intravaginal no período do seu exame, solicitaremos que remarque o exame para 1 a 3 dias depois.

Riscos associados com o estudo

Os procedimentos do estudo trazem risco e desconforto mínimos a você, uma vez que não interferem com a sua atividade física ou intelectual de rotina. Entretanto, os riscos e desconfortos em potencial deste estudo dizem respeito às etapas próprias aos procedimentos do exame de PCCU (preventivo) que serão realizados rotineiramente nesta unidade de saúde. Além disso, a própria coleta das suas informações íntimas pelos entrevistadores poderia trazer algum constrangimento, podendo tais informações ser divulgadas, identificando a participante e ferindo a confidencialidade das respostas. Porém tais riscos serão contornados com a utilização de equipamento e materiais descartáveis para a coleta de todo o material biológico, trazendo risco mínimo tanto para o examinador como para você, sendo que a entrevista será individualizada e em sala reservada, com a utilização de formulários identificados apenas com o seu número de registro na unidade de saúde, garantindo assim seu anonimato e a confidencialidade de suas respostas.

Benefícios do estudo

Serão fornecidos integralmente a você os resultados dos exames citopatológico, histopatológico e de biologia molecular para pesquisa do DNA do HPV, sendo que este último não é fornecido rotineiramente pelos serviços públicos de

saúde. Tal procedimento poderá trazer um benefício adicional à você, a fim de que possa tomar os cuidados mais adequados para a prevenção e manejo clínico das lesões uterinas associadas ao HPV. Para a sociedade como um todo, para a ciência e especificamente para a região Norte do país, os benefícios que serão alcançados com o presente estudo têm relevância tanto pela consolidação de grupos de pesquisa que necessitam de apoio para tal, quanto pela integração entre Instituições de Ensino Superior com Unidades de Serviço em Saúde e muito mais pelo impulso no estabelecimento e consolidação de serviços no atendimento de pacientes com lesão cervical associado ao HPV. A aquisição de conhecimentos da evolução e manejo clínico e laboratorial, bem como os aspectos epidemiológicos concernentes à distribuição dos genótipos de HPV em mulheres atendidas em uma unidade de referência de Belém do Pará e sua relação com as lesões cervicais, preencherá lacunas até então presentes nos dados acerca dessas morbidades na Região Norte. Por fim, resultados poderão ser utilizados em aplicações práticas no manejo da infecção pelo HPV, fomentando o planejamento de políticas públicas de combate e acompanhamento da infecção pelo HPV e conseqüentemente das lesões uterinas a ele associadas, com recomendações encaminhadas à Coordenação Nacional de Saúde da Mulher do Ministério da Saúde, bem como às esferas estaduais e municipais de saúde

GARANTIAS

Asseguro que sua identidade será mantida em segredo e que você poderá fazer qualquer pergunta sobre o estudo. Apesar de apreciarmos o seu apoio contínuo, você tem direito de retirar-se do estudo quando quiser e não estará obrigada a ser submetida a outro exame do colo de útero com colheita de amostras. Além disso, sua participação não envolverá nenhum custo para você. Se você tiver alguma dúvida, por

favor, entre em contato com a autora do estudo: **Prof^a Florentina do Socorro Martins Balbi**, no Ambulatório da Mulher da Santa Casa de Misericórdia do Pará na Oliveira Belo, nº 396, fone: 3242-9022/ cel: 8869-9280.

Consentimento Livre e Esclarecido

Os objetivos e procedimentos deste estudo foram explicados de forma clara e eu li e compreendi a informação fornecida. Concordo em fazer parte do estudo. Entendo que tenho o direito a não tomar parte no estudo e que posso retirar-me dele quando quiser e por qualquer motivo, sem que por isso haja conseqüências na atenção a minha saúde, presente ou futura, e o atendimento que recebo de meu prestador de saúde. Fui informada sobre meu direito de acessar e pedir que meus dados pessoais sejam corrigidos.

Eu, (Nome completo) _____, por este meio e de livre e espontânea vontade, dou o meu consentimento para participar deste estudo.

Assinatura da participante: _____

Data: _____ Hora: _____

APÊNDICE B – Formulário Clínico e Epidemiológico**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ/NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL/PPG****EM DOENÇAS TROPICAIS - 2009****PROJETO: ASPECTOS CLÍNICOS, EPIDEMIOLÓGICOS E MOLECULARES DA
INFECÇÃO GENITAL PELO PAPILOMAVIRUS HUMANO****FICHA DE LEVANTAMENTO CLÍNICO E EPIDEMIOLÓGICO**

1 Data de coleta: _____ / _____ / _____

2 Citologia/Registro: _____

3 Idade: _____ anos

4 Estado civil atual:

 Solteira Casada/Companheiro Separada/Divorciada Viúva

5 Escolaridade:

 Analfabeta/fundamental incompleto Fundamental completo Médio incompleto Médio completo Superior incompleto Superior completo Pós-graduação

6 Tabagismo

6.1 Já fumou cigarros na vida?

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

6.2 Fuma cigarros atualmente?

Não. Com que idade parou:_____ ou NL

Sim

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

_____por dia **ou** _____por semana ou NL

7 Etilismo

7.1 Já consumiu bebidas alcoólicas na vida?

Não (se **não**, ir para a pergunta **8.1**)

Sim. Com que idade iniciou:_____ ou NL

7.2 Consome bebida alcoólica atualmente?

Não. Com que idade parou:_____ ou NL

Sim

7.3 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

8 História sexual

8.1 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

8.2 Idade da primeira relação sexual:_____anos/ NL

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

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

8.5 Número de parceiros **novos no último ano**:_____

ou NL

9 História anticoncepcional

9.1 Já utilizou anticoncepcionais orais (pílula) na vida?

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

Sim. Com que idade iniciou:_____ ou NL

9.2 Ainda utiliza anticoncepcionais orais (pílula) atualmente?

Não. Com que idade parou:_____ ou NL

Sim

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

Não Sim

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

Em todas as relações sexuais Às vezes

10 Reprodução

10.1 Número de G:_____P:_____A:_____

10.2 Idade da 1ª gestação:_____anos

11 História ginecológica

11.1 Nº 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

11.2 Ano do último PCCU (preventivo): _____

11.3 Já teve alguma DST (doença sexualmente transmissível) na vida?

- Não
- Sim

11.4 Na vida sexualmente ativa, já apresentou algum problema genital como corrimento vaginal anormal, coceira excessiva ou irritação?

- Não
- Sim

12 Dados laboratoriais

12.1 Citologia Cervical:

- Sem lesão
- Alterações Inflamatórias
- Atipias de Células Escamosas de Origem Indeterminada (ASCUS)
- Lesões Intraepiteliais de baixo Grau (NIC I)
- Lesões Intraepiteliais de alto grau (NIC II e III)
- Atipias Glandulares de Significado Indeterminado (AGUS)
- Adenocarcinoma in situ
- Carcinoma de Células Escamosas estágios I a IV
- Outros tipos histológicos raros

12.2 Infecção por HPV (presente quando o DNA do HPV for detectado pela PCR):

- Não
- Sim

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLO DE MEDICINA TROPICAL
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

PARECER DE ÉTICA DE PROJETO DE PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

1. **Protocolo:** Nº 171/2005-CEP/NMT
2. **Projeto de Pesquisa:** INFECÇÃO PELO HPV E CÂNCER CERVICAL: CORRELAÇÃO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO E FATORES DE RISCO EM POPULAÇÕES DISTINTAS DA AMAZÔNIA BRASILEIRA.
3. **Pesquisador Responsável:** Maria Paula Cruz Schneider.
4. **Instituição / Unidade:** CCB/UFPA.
5. **Data de Entrada:** 10/12/2005.
6. **Data do Parecer:** 26/01/2006.

PARECER

O Comitê de Ética em Pesquisa do NMT/UFPA apreciou o protocolo em tela durante a reunião realizada no dia 26/01/2006. Considerando que foram atendidas as exigências da Resolução 196/96-CNS/MS, manifestou-se pela aprovação do parecer do relator.

Parecer: **APROVADO**

Belém, 26 de janeiro de 2006.


Profª Maria da Conceição Nascimento Pinheiro
Coordenadora do CEP-NMT/UFPA.