



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

ELCIMARA DA PAIXÃO FERREIRA CHAGAS

**PREVALÊNCIA E ASPECTOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DE MULHERES HIV POSITIVAS
INFECTADAS PELO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) GENITAL NA AMAZÔNIA BRASILEIRA**

BELÉM/PARÁ
2014

ELCIMARA DA PAIXÃO FERREIRA CHAGAS

**PREVALÊNCIA E ASPECTOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DE MULHERES HIV POSITIVAS
INFECTADAS PELO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) GENITAL NA AMAZÔNIA BRASILEIRA**

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^{ra}. Dr^a. Hellen Thais Fuzii

**BELÉM
2014**

Dados Internacionais de Catalogação-na- Publicação (CIP) –

Chagas, Elcimara da Paixão Ferreira

Prevalência da infecção genital pelo papilomavírus humano (HPV) em mulheres soropositivas para o HIV no Município de Tucuruí, Pará, Brasil / Elcimara da Paixão Ferreira Chagas; orientadora, Hellen Thais Fuzii. – 2014

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará. Núcleo de Medicina Tropical. Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais. Belém, 2014.

1. Papilomavírus – Tucuruí (PA). 2. Colo uterino – Câncer – Tucuruí (PA). 3. HIV (Vírus) – Tucuruí (PA). I. Fuzii, Hellen Thais, orient. II. Título.

CDD: 22. ed. 616.99466



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

ELCIMARA DA PAIXÃO FERREIRA CHAGAS

**PREVALÊNCIA E ASPECTOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DE MULHERES HIV
POSITIVAS INFECTADAS PELO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) GENITAL NA
AMAZÔNIA BRASILEIRA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Doenças Tropicais do Núcleo de Medicina Tropical/UFPA.

Aprovado em: ___/___/___

Conceito: _____

Banca Examinadora

Prof^ª. Dr^ª. Hellen Thais Fuzii
Orientadora – NMT/UFPA

Prof^ª. Dr^ª. Marizeli Viana de Aragão Araújo
Membro - ICS/UFPA

Prof^ª. Dr^ª. Maria da Conceição Nascimento Pinheiro
Membro - NMT/UFPA

Prof^ª. Dr^ª. Nara Macedo Botelho Brito
Membro - ICS/UFPA

Prof^ª. Dr^ª. Fabíola Elizabeth Villanova
Suplente - NMT/UFPA

As minhas mães Lourdiney e Elcy, meus pais Sinval e Aluísio, minhas irmãs Lorena e Alycia, por todo carinho, apoio, alicerce e valores que vem de uma família que tem como base o amor de Deus. Tudo o que busco é por eles e para eles. Ao Paulo, Anna Laura, Anna Luiza e demais familiares, que são meus grandes incentivadores, sonham junto comigo, e principalmente me ajudam a realizar, quer seja de forma prática, quer seja simplesmente por me ensinarem que o amor incondicional é simples e profundo. À minha Comunidade CAJU e ao fundador Cônego Raul, que me relembram diariamente o quanto Deus sabe trabalhar com instrumentos imperfeitos. Aos amigos e irmãos de caminhada, que junto comigo, constroem e reconstroem a missão de ser melhor por Deus e para Deus através de todas as renúncias, desertos e dificuldades que o amor que vem de Deus nos ensina a superar.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Prof^a. Dr^a. Hellen Thais Fuzii

Por ter sido mais que uma orientadora, ser uma mãe científica, aquela que direciona, que chama a atenção, que corrige, mas principalmente que faz tudo com muito amor. Um amor pela ciência que inspira, que impulsiona e desperta a vontade de ser melhor.

Por acreditar em mim nos momentos mais difíceis, aqueles que talvez nem eu mesmo acreditasse. Pela capacidade de ter tornado o processo de aprendizado agradável, embora o mesmo fosse tantas vezes doloroso.

Orientar a ciência talvez seja isso, partilhar a vida, e despertar o amor para a pesquisa pela dedicação e exemplo. Um exemplo de amor por aquilo que se faz. Amor que fica transparente nas palavras que mencionam sua atual posição no mundo científico e do quanto lutou para chegar onde está. Amor no bom-humor, pérolas e brincadeiras que tornam o clima mais agradável no comum e rotineiro de cada dia, mesmo quando no rotineiro são dias com as tarefas infinitas e o tempo pra si próprio tão escasso. Amor até no cansaço e no estresse que deixam o temperamento forte evidente, o mesmo temperamento que a fortaleceu para alcançar o seu lugar.

Lapidar-se na vida acadêmica tem sempre um sabor amargo, mas quando se tem quem te acompanhe e apoie tudo pode ganhar novo sentido, o medo vira prudência, a ansiedade vira discernimento, o temperamento vira liderança, e assim os defeitos são resignificados para serem melhor utilizados nesta árdua e difícil missão de fazer ciência, e foi com ela que experimentei isso.

Sentar ao lado do aluno, recebe-lo nos finais de semana na sua casa, aceitar suas limitações, entende-las e faze-las frutificar é um dom de quem realmente pode ser chamada de **ORIENTADORA**.

A minha orientadora, a minha gratidão e principalmente o meu respeito pela coragem de buscar o melhor, pelo amor e pulso que a fazem reger o laboratório, e pela busca incessante de conhecimento. O meu maior agradecimento será aprender na prática, com suas atitudes a amar aquilo que se faz e a fazer tudo com profundo e verdadeiro amor.

AGRADECIMENTOS

A DEUS por um amor tão desconcertante, que em nenhum momento permitiu que eu me sentisse desamparada.

À Universidade Federal do Pará (UFPA), ao Núcleo de Medicina Tropical, ao Programa de Pós-graduação em Doenças Tropicais, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), por viabilizarem a realização deste trabalho.

Ao Laboratório de Imunopatologia, e a todos que fazem parte desta família, pela paciência no processo de aprendizagem, que contribuiu de forma decisiva para todas as etapas, não só do trabalho, mas da minha formação pessoal e profissional. A eles: Juarez Quaresma, Marizeli Araújo, George Alberto, Fabíola Villanova, Tinara Aarão, Jorge Rodrigues, Luciana Mota, Kelly Emi, Larissa Freitas, Wesley Monteiro, Esther von Ledebur, Cindy Tran, a gratidão que me acompanhará por toda minha vida.

A todos aqueles, e não menos importantes, que já passaram ou estão chegando agora ao laboratório, pelos ensinamentos, convivência, amizade que tanto é pilastra na construção da ciência que almejamos.

A Juliana e Nathalia, pela parceria no projeto, pela disponibilidade e seus comprometermos com a execução de todo o trabalho.

A Fabíola, e aos médicos Renato e Celso, que pacientemente ensinaram na prática clínica, conhecimentos que embasaram a construção deste trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Doenças Tropicais, que me ajudaram a discernir a área como foco da minha vida profissional, pela dedicação e disponibilidade em ensinar. A docência que foi ensinada não é somente o conteúdo de cada disciplina, mas o amor pela prática ensino-aprendizagem, que tanto necessitamos ter.

À equipe do CTA/SAE Tucuruí, que fizeram parte da construção do trabalho.

A todos da família do Núcleo de Medicina Tropical da UFPA: Marluce, Wagner, Ademir, Socorro, Dulce, Jean e Ana que tornaram (e tornam) agradável o ambiente de convivência, seja com o café caprichado, seja com o bom dia, seja com um simples sorriso acolhedor.

Às pacientes, grande propósito da realização deste estudo, que colaboraram de forma imprescindível na coleta das amostras e aplicação dos questionários.

Aos amigos de pós-graduação, pela parceria nas disciplinas e pela convivência tão construtiva, em especial a Tatiana, que compartilhou junto comigo os momentos mais desafiantes dessa jornada.

Ao Paulo Cardoso, por todo o apoio emocional, e ajuda prática, sem o qual não teria conseguido, sua participação rompeu a barreira do possível e tornou-se imprescindível para o sucesso final.

“É justo que muito custe o que muito vale!”

Santa Tereza D’Ávila.

RESUMO

O Vírus da Imunodeficiência Adquirida (HIV) tem se mostrado um potencializador dos mecanismos oncogênicos da Infecção Genital pelo Papilomavírus humano (HPV), acredita-se que o estado de imunocompetência do hospedeiro possa ter algum papel na evolução das lesões cervicais. O HPV infecta uma grande parcela da população feminina mundial, sendo a DST (Doença Sexualmente Transmissível) mais comum no mundo com aproximadamente 291 milhões das mulheres portadoras desse vírus. Essa informação mantém relação com a incidência anual de quase 500 mil casos de câncer de colo do útero. De acordo com o Instituto Nacional do Câncer (INCA), este é o segundo câncer mais incidente na população brasileira, e o mais incidente no Pará. O objetivo do estudo é de detectar a prevalência e os aspectos clínicos e epidemiológicos nas mulheres HIV positivas infectadas pelo HPV. Trata-se de estudo transversal-analítico. As amostras são de pacientes atendidas no Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) do município de Tucuruí no período de março de 2011 a julho de 2013, para detecção e contagem de células T CD4 e CD8 foi realizado a técnica de nested-PCR, e qPCR, e as lâminas foram coradas pelo método de Papanicolaou. A prevalência encontrada do HPV foi de 68%. A maior parte era casada/união estável (63,5%), analfabetas/fundamental incompleto (50%). Em relação aos antecedentes ginecológicos, 94,59% utilizam camisinha em todas as relações, a mediana de idade da coitarca foi de 13 anos, sendo que apenas 24,3% tiveram a primeira relação com 14 anos ou menos. Dentre as entrevistadas, 82,4% tiveram 2 ou mais parceiros sexuais durante a vida, com mediana de 6 parceiros. A infecção por HIV é considerada um fator de risco para o desenvolvimento do câncer de colo uterino e durante a pesquisa foram correlacionados dados que demonstravam a contagem de CD4+ ser inversamente proporcional ao surgimento dessa enfermidade. Oitenta por cento das amostras que estavam positivas para o DNA HPV foram detectáveis aos 9 subtipos (6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 52, 58) estudados, e 88% das amostras positivas para o DNA HPV foram subtipadas com 1 ou mais subtipos de alto risco para o câncer do colo uterino. A avaliação da população de mulheres soropositivas em relação à presença de HPV e seus subtipos foram de grande importância para auxiliar no diagnóstico precoce e tratamento, fornecem subsídios para programas regionalizados de prevenção e manejo dessas infecções.

Palavras-chave: Papilomavírus humano, câncer de colo uterino, vírus da imunodeficiência humana.

ABSTRACT

The Human Immunodeficiency Virus (HIV) has been shown to potentiate the oncogenic mechanisms of Genital Infection by the human papillomavirus (HPV), it is believed that the state of immunocompetence of the host may play a role in the evolution of cervical lesions. HPV infects a large proportion of women worldwide, with an STD (sexually transmitted disease) more common in the world with approximately 291 million carriers of this virus women. This keeps information related to the annual incidence of nearly 500,000 cases of cervical cancer. According to the National Cancer Institute (INCA), this is the second most frequent cancer in a Brazilian population and more common in Pará. The objective is to detect the prevalence and clinical and epidemiological aspects of the HIV-infected women positive for HPV. It is a cross-analytical study. The samples are from patients treated at the Counseling and Testing Center (ATC) of the municipality of Tucuruí from March 2011 to July 2013 for detection and enumeration of CD4 and CD8 T cells was performed the technique of nested-PCR, and qPCR, and the slides were stained by the Papanicolaou method. The prevalence of HPV was 68%. Most were married / common-law marriage (63.5%), illiterate / incomplete primary (50%). Regarding gynecological history, 94.59% used condoms in all relationships, the median age of first sexual intercourse was 13 years, and only 24.3% had their first intercourse at age 14 or less. Among the respondents, 82.4% had 2 or more sexual partners during their lifetime, with a median of 6 partners. HIV infection is considered a risk factor for development of cervical cancer and during the survey data showed that the CD4+ count is inversely proportional to the emergence of this disease were correlated. Eighty percent of the samples that were positive for HPV DNA were detectable after 9 subtypes (6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 52, 58) studied, and 88% positive DNA HPV of the samples were subtyped with one or more subtypes high risk for cervical cancer. The population estimate of HIV positive women for the presence of HPV and its subtypes were of great importance to aid in the early diagnosis and treatment, provide subsidies to regionalized programs for the prevention and management of these infections.

Key-words: Human papillomavirus, cervical cancer, human immunodeficiency virus.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

° C	Graus centígrados
ABC	Abacavir
ACO	Contraceptivos orais
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ASCUS	<i>Atypical squamous cells of undetermined significance</i> (Células escamosas atípicas de significância indeterminada)
ATP	Adenosina trifosfato
AZT	Zidovudina
Brd4	Bromadomain 4
C+	Controle Positivo
C-	Controle Negativo
CA	Câncer
CCU	Câncer de Colo uterino
CD4	<i>Cluster of differentiation 4</i> (Grupamento de diferenciação 4)
CD8	<i>Cluster of differentiation 8</i> (Grupamento de diferenciação 8)
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos
CH	Captura Híbrida
CONEP	Conselho Nacional de Ética em Pesquisa
CTA	Centro de Testagem e Aconselhamento
DDL	Didanosina
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i> (ácido desoxirribonucléico)
dNTP	desoxiAdenosina Trifosfatada

DST	Doenças Sexualmente Transmissíveis
d4T	Estavudina
E	<i>Early</i>
EFV	Efavirenz
E2F	<i>Transcription factor E2F</i>
Freq	Frequência
Foxp3	<i>Forkhead/winged helix transcription factor</i>
HAART	<i>Highly Active Antiretroviral Therapy</i> (Terapia Antirretroviral Altamente Ativa)
HE	Hemotoxilina-Eosina
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HPV	Papilomavírus Humano
HR-HPV	<i>High risk</i> – HPV
HSIL	<i>Highgrade squamous intraepithelial lesion</i> (Lesão intraepithelial escamosa de alto grau)
IC	Intervalo de confiança
INCA	Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva
ITRN	Inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleosídeos
ITRNt	Inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleotídeos
ITRNN	Inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos
IP/r	Inibidores de protease reforçados com Ritonavir
kDa	Kilodaltons
L	<i>Late region</i> (Região tardia do genoma viral)
LCR	<i>Long Control Region</i> (Região Controladora longa)
LIE	Lesões intraepiteliais cervicais

LIEBG	Lesões intraepiteliais cervicais de baixo grau
LIEAG	Lesões intraepiteliais cervicais de alto grau
LPV	Lopinavir
LR-HPV	<i>Low risk</i> – HPV
LSIL	<i>Lowgrade squamous intraepithelial lesion</i> (Lesão intraepithelial escamosa de baixo grau)
mA	MiliAmpere
Mg	Miligrama
mL	Mililitro
mM	Milimolar
Ng	Nanograma
nM	Nanomol
Nm	Nanômetro
NF-kB	<i>Nuclear factor kappa B</i>
NIC	Neoplasia Intraepitelial cervical
NMT	Núcleo de Medicina Tropical
NVP	Nevirapina
OMS	Organização Mundial de Saúde
OR	<i>Odds ratio</i> (Razão de chances)
ORF	<i>Open Reading Frames</i> (região codificadora do genoma viral)
p53	Gene humano supressor de tumor
PB	Pares de base
PBS	<i>Phosphate buffered saline</i> (Tampão fosfato-salino)
PCCU	Preventivo do Câncer do Colo do Útero

PCR	<i>Polimerase chain reaction – reação em cadeia da polimerase</i>
PM	Peso molecular
pRb	Proteína do Retinoblasma
RPM	Rotações por minuto
RTV	Ritonavir
SCC	<i>Squamous cell carcinoma</i> (Carcinoma escamoso invasivo)
SIL	<i>Squamous intraepithelial lesion</i> (Lesão intraepitelial escamosa)
TARV	Terapia Antirretroviral
TDF	Tenofovir
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
Treg	Células T regulatórias
UFPA	Universidade Federal do Pará
URR	<i>Upper Regulatory Region</i> (Região Reguladora <i>upstream</i>)
V	Voltagem
WHO	<i>World Health Organization</i> (Organização Mundial da Saúde)
μl	Microlitro
μM	Micromolar
3TC	Lamivudina

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Filogenia de genótipos e gêneros de HPVs.	23
Figura 2 - HPVs mucosotrópicos e filogenia do seus potenciais oncogênicos	24
Quadro 1 - Subtipos de HPV que infectam o trato genital e seus riscos oncogênicos	25
Figura 3 - Capsômeros e proteínas da cápside do HPV	26
Figura 4 - DNA do HPV (a) Genoma do HPV (Regiões E, L e LCR), (b) Organização linear do genoma do HPV.....	27
Figura 5 - Proteínas do vírus e suas funções	29
Figura 6 - O ciclo de vida do Papilomavírus Humano	30
Figura 7 - Integração do DNA viral ao DNA do hospedeiro	31
Figura 8 - Mecanismo de E6 e E7 na carcinogênese cervical	32
Figura 9 - Evolução e progressão da lesão até a geração de câncer	34
Figura 10 - Alterações do Epitélio cervical e lâminas citológicas das lesões cervicais	35
Figura 11 - Vírus da Imunodeficiência Humana	38
Figura 12 - Interação do HIV na patogênese do HPV	39
Tabela 1 - Variáveis sócio-demográficas das mulheres soropositivas para o HIV	53
Tabela 2 - Variáveis contraceptivas e de paridade	54
Tabela 3 - Variáveis comportamentais sexuais	55
Tabela 4 - Resultados das citologias da mulheres soropositivas para o HIV	55
Tabela 5 - Variáveis sócio-demográficos para o DNA HPV em HIV positivas	56
Tabela 6 - Variáveis sexuais para o DNA HPV em HIV positivas	57
Tabela 7 - Citopatologia para o DNA HPV em HIV positivas	58
Tabela 8 - TARV em DNA HPV em HIV positivas	59
Tabela 9 - TARVs combinadas em DNA HPV em HIV positivas	59
Tabela 10 - Subtipos de HPV e citologia em DNA HPV em HIV positivas	60
Tabela 11 - Grupos de DNA HPV de alto e baixo risco	61
Tabela 12 - Frequência do DNA HPV de acordo com a contagem de CD4+	61
Tabela 13 - Frequência do DNA HPV de acordo com a contagem de CD8+	62
Tabela 12 - Frequência do DNA HPV de acordo com a razão CD4+/CD8+	62
Gráfico 1 - Contagem de CD4+ em HIV positivas com DNA HPV + e -	63
Gráfico 2 - Contagem de CD8+ em HIV positivas com HPV + e -	63
Gráfico 3 - Razão CD4+/CD8+ em HIV positivas e DNA HPV.....	64

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	18
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	20
2.1 CÂNCER DE COLO UTERINO E SEUS FATORES DE RISCO	20
2.2 O HPV (PAPILOMAVIRUS HUMANO)	22
2.2.1 Classificação do HPV	22
2.2.2 Biologia do HPV.....	25
2.2.3 Proteínas do vírus	26
2.2.4 Patogênese do HPV.....	29
2.2.5 Progressão da infecção pelo HPV e a formação do câncer	33
2.2.6 Detecção do HPV	35
2.3 EPIDEMIOLOGIA DO HPV	36
2.4 ASSOCIAÇÃO DO HPV COM O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV)	38
2.5 VACINA DE HPV EM HIV POSITIVAS.....	42
3 OBJETIVOS.....	44
3.1 GERAL.....	44
3.2 ESPECÍFICOS.....	44
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO	45
4.2 SELEÇÃO DOS CASOS	45
4.3 PROCEDIMENTOS.....	46
4.3.1 Coleta da amostra	46
4.3.2 Isolamento do DNA	46
4.3.3 Extração do DNA.....	47

4.3.4 PCR globina	47
4.3.5 PCR para detecção do HPV	49
4.3.6 Nested PCR para detecção do HPV	50
4.3.7 qPCR ou PCR em Tempo Real	50
4.4 CITOPATOLOGIA E HISTOPATOLOGIA	51
4. 5 ANÁLISE DE DADOS	51
4. 6 ASPECTOS ÉTICOS	52
5 RESULTADOS	53
6 DISCUSSÃO	65
7 CONCLUSÕES	72
8 REFERÊNCIAS	73
APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	89
APÊNDICE B - FICHA DE LEVANTAMENTO CLÍNICO E EPIDEMIOLÓGICO	91
ANEXO A – PARECER DE ÉTICA DE PROJETO DE PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS	92

1 INTRODUÇÃO

O HPV é a doença sexualmente transmissível (DSTs) mais comum em todo o mundo, sendo um problema de saúde pública. Compartilhando os mesmos fatores de risco do HPV, o vírus da imunodeficiência humana (HIV), tem se mostrado um potencializador dos mecanismos oncogênicos do HPV, elevando a predisposição ao desenvolvimento de câncer de colo uterino em mulheres co-infectadas por ambos os vírus (BRASIL, 2006).

Ocorrem cerca de 500.000 novos casos a cada ano do câncer do colo uterino. Desde que Zur Hausen, na década de 70, sugeriu a associação entre o HPV e o câncer cervical, vários estudos epidemiológicos, clínico-patológicos e moleculares se seguiram e confirmaram o papel do HPV na patogênese do câncer cervical e em suas lesões precursoras (WRIGHT & SCHIFFMAN, 2003).

O câncer de colo uterino vem alcançando altas taxas de morbi-mortalidade, já sendo de acordo com o INCA (Instituto Nacional de Câncer), o quarto câncer mais incidente na população mundial, o segundo mais incidente no Brasil e o primeiro mais incidente no Estado do Pará. Estima-se que em 2014, só no Pará, a quantidade de casos registrados cresça aproximadamente 19%. O principal fator de risco para o desenvolvimento de lesões intraepiteliais de alto grau (lesões precursoras do câncer do colo do útero) e do câncer do colo do útero é a infecção pelo papilomavírus humano (HPV). O HPV é um fator necessário, mas não suficiente, para o desenvolvimento do câncer do colo do útero, faz-se necessária sua persistência e outros fatores de risco como falhas no sistema imunológico (INCA, 2014).

Um dos indicativos para isso é que a quantidade de casos estimados de mulheres infectadas pelo vírus, que é de 291 milhões de mulheres no mundo estar muito inferior a incidência anual de casos de câncer do colo uterino no mundo, que é de aproximadamente 500 mil. (INCA 2013).

Um dos fatores de risco para a infecção por HPV e neoplasia subsequentes, incluindo câncer do colo uterino, está associado a resposta imunológica mediada por célula. Estudos observacionais envolvendo mulheres HIV positivas têm mostrado uma forte e consistente relação entre a co-infecção com o HIV e HPV e neoplasias cervical intra-epiteliais (NIC) (CONLEY et al 2002, CONTI et al 1993). Apesar dos vários estudos publicados e de tudo que já se conhece a respeito da infecção pelo HPV e neoplasia cervical em mulheres portadoras do

HIV, muitas dúvidas levantadas permanecem sem resposta, incluindo o melhor seguimento para essas pacientes, estratégia de vigilância, o papel dos diferentes tipos de HPV e a identificação de fatores independentes preditivos do desenvolvimento da doença.

O sistema imunológico é crucial para a definição do desfecho da infecção por HPV, qualquer desequilíbrio nessa resposta pode propiciar o avanço da infecção e suas consequências. Acredita-se que o estado de imunocompetência do hospedeiro possa ter algum papel na evolução das lesões cervicais. A imunossupressão induzida pelo HIV aumenta a suscetibilidade à infecção por HPV, havendo assim, maior chance do desenvolvimento de NIC (Neoplasia Intraepitelial Cervical). Ao avaliar o estado imunológico das mulheres positivas para o HIV infectadas pelo HPV, observa-se que a imunossupressão pode ser fator favorável às infecções cervicais pelos HPVs de alto risco oncogênico, que têm sua expressão clínica nas NICs neste grupo de mulheres. Desta forma, o uso da Terapia Antirretroviral (TARV), quando necessário, faz-se de extrema importância, pois demonstra efeito protetor para a reincidência de neoplasia cervical, inclusive as de alto grau, pois melhora a resposta imunológica (BRITO, GALVÃO, 2010).

A avaliação da população de mulheres soropositivas para o HIV em relação aos subtipos de HPVs se faz de grande importância para auxiliar no diagnóstico precoce, aumentando as chances de um tratamento direcional e ações preventivas ao desenvolvimento do câncer do colo do útero. No estado do Pará, principalmente em municípios do interior, como Tucuruí, estudos mais abrangentes relacionados à infecção por HPV em mulheres infectadas por HIV apresentam lacunas que são de grande importância para programas em saúde voltados para essa população. Com isso, a detecção de HPV e de subtipos por técnicas biomoleculares, unida à avaliação de aspectos clínicos e epidemiológicos em mulheres soropositivas atendidas em serviços públicos de saúde do município de Tucuruí poderão fornecer subsídios para programas regionalizados de prevenção e manejo dessas infecções.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CÂNCER DE COLO UTERINO E SEUS FATORES DE RISCO

O câncer de colo uterino (CCU) é um importante problema de saúde pública, sua incidência é maior em países menos desenvolvidos quando comparada aos países mais desenvolvidos. Em geral, ocorre a partir de 30 anos, aumentando seu risco rapidamente até atingir o pico etário entre 50 e 60 anos. Esse câncer foi responsável pelo óbito de 265 mil mulheres em 2012, sendo que 87% desses óbitos ocorreram em países em desenvolvimento. Para o câncer de colo do útero, a sobrevivência é de aproximada 70% (WHO, 2013).

O CCU ocupa o terceiro lugar geral no Brasil em número de casos registrados. Está em primeiro lugar na região Norte (24 casos/100 mil). Nas regiões Centro-Oeste (22 casos/100 mil) e Nordeste (19 casos/100 mil) ocupa a segunda posição geral. Na região Sudeste (10 casos /100 mil) é o quarto, e na região Sul (16 casos /100 mil), o quinto mais incidente. Recentes estimativas apontaram aproximadamente 15.590 casos novos de câncer de colo uterino em mulheres no Brasil para o ano de 2014 (INCA 2014).

A progressão do CCU é contínua, e de acordo com a classificação de Bethesda (NAYAR, SOLOMON, 2004), a transição neoplásica da lesão intraepitelial escamosa (SIL), ocorre das lesões intraepiteliais escamosas de baixo-grau (LSIL =NIC I) para lesões intraepiteliais escamosas de alto-grau (HSIL), que incluem NIC II, NIC III e carcinoma in situ, e finalmente para carcinoma escamoso invasivo (SCC). Na NIC 1, o genoma viral encontra-se sob a forma episômal, há baixo risco de progressão maligna, e pode ocorrer a regressão na ausência de tratamento (WHO, 2010).

Fatores de risco que podem levar ao desenvolvimento de câncer na cérvix uterina podem ser divididos em dois grandes grupos: experimentalmente documentados e fatores epidemiológicos. Entre aqueles classificados no primeiro grupo, praticamente todos os casos de câncer de colo do útero são atribuíveis a infecção persistente por certas cepas de HPV, especialmente o HPV 16 e HPV 18 (OLIVEIRA, LEVI, 2011; RAYCHAUDHURI, MANDAL, 2012). O câncer de colo de útero foi o primeiro tipo de câncer reconhecido pela Organização Mundial da Saúde como totalmente atribuído a uma infecção viral (BOSCH, de

SANJOSE, 2002). Análises de tumores cervicais mostraram a presença do vírus em 99,7% dos tumores (WALBOOMERS et al., 1999).

Entre os fatores de risco epidemiológicos, pode-se citar coitarca em idade precoce, grande número de parceiros, o não uso de preservativo, uso de anticoncepcional, hábito de fumar, dentre outros. A multiplicidade de parceiros e a promiscuidade se apresentam como fatores importantes para o desenvolvimento do câncer de colo uterino, pois isso indica uma maior exposição da mulher à contaminação com DST's, principalmente o HPV e o HIV (BRITO; GALVÃO, 2010). A co-infecção com HIV duplica o risco para aparecimento de NIC (BEZERRA et al. 2005; CASTELLSAGUÉ; BOSCH 2007).

A multiparidade pode ser associada com carcinoma cervical e carcinoma *in situ* na maioria dos estudos de caso-controle. Além disso, a maior parte dos grandes estudos se restringe a análise de mulheres HPV-positivas, reportando um aumento do risco de lesão de alto grau (BRITO et al, 2006) e carcinoma cervical com uma elevação do número de gestações. Mulheres que engravidaram e chegaram ao termo possuem sete ou mais vezes risco aumentado para o desenvolvimento de câncer cervical ou lesão intraepitelial de alto grau (HSIL), quando comparado com mulheres nulíparas (CASTELLSAGUÉ, BOSCH, MUÑOZ, 2002).

Outro fator de risco são os contraceptivos orais, pois podem provocar um aumento da atividade dos oncogenes do HPV e interferirem na redução das lesões da cérvix. Estudos propõem que o uso de contraceptivos orais (ACO) por período superior a cinco anos pode levar ao desenvolvimento de lesões de alto grau em mulheres infectadas pelo HPV. O uso de ACO por período inferior não tem demonstrado associação com a carcinogênese (BRITO; GALVÃO, 2010).

Alguns estudos avaliam a influência hormonal, que pode modular o risco de progressão para lesões de alto grau e câncer cervical em mulheres infectadas pelo HPV. Mecanismos hormônio-relacionados podem influenciar na progressão de lesões cervicais pré-malignas para malignas, devido à promoção da integração do DNA viral ao genoma celular (CASTELLSAGUÉ; MUÑOZ, 2003).

Quanto ao tabagismo, alguns estudos mostram a relação direta entre carga do tabaco e risco de desenvolvimento de carcinoma *in situ*, devido a vários mecanismos, principalmente

devido à presença de substâncias carcinogênicas e alteração da imunidade pelos mesmos. (SCHEIDT et al., 2006).

Grande número de evidências sugerem que diferentes DSTs, como o HIV podem agir como cofatores para HPV16 e HPV18 na carcinogênese cervical. A infecção com múltiplos subtipos tipos de HPV de alto risco tem sido sugerida como possível aumento do risco para o câncer do colo do útero em comparação com infecções simples (KAASILA et al., 2009), embora também haja evidências de que a coinfeção pode agir independentemente um do outro no progressão para o câncer cervical (CHATURVEDI et al. 2011).

2.2 O HPV (PAPILOMAVIRUS HUMANO)

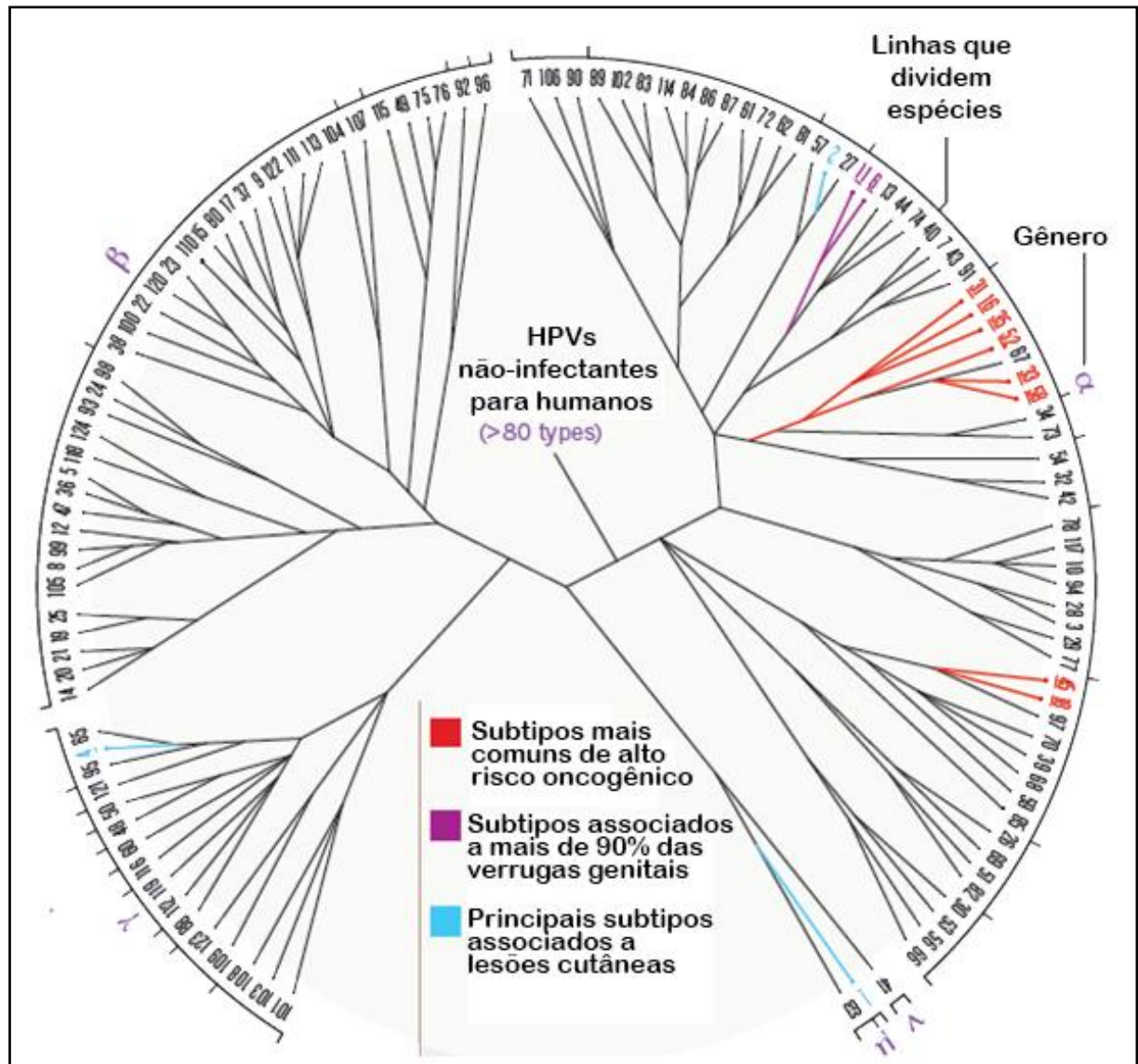
2.2.1 Classificação do HPV

O HPV é um vírus de DNA pertencente a família Papilomaviridae, composta de 30 gêneros (BERNARD et al., 2010). Esta família é de pequenos vírus que infectam aves, mamíferos, e dentre estes os humanos. São divididos em diversos tipos, de acordo com a função e suas específicas regiões de controle gênico. Sua denominação vem do latim: papila, diminutivo de papula, que quer dizer projeção ou saliência em forma de mamilo. Suas denominações das espécies são decorrentes do grupo de animais que infectam (Van REGENMORTEL et al., 2000). As espécies que infectam humanos estão entre os gêneros *Alphapapillomavirus*, *Betapapillomavirus*, *Gammapapillomavirus*, *Mupapillomavirus*, *Nupapillomavirus* (Figura 1) (BERNARD et al, 2010).

São mais de 200 tipos de HPV descritos, dos quais mais de 40 são formas infectantes para o trato genital. A maior parte dos HPVs mais prevalentes estão agrupados no gênero *Alphapapillomavirus*, aproximadamente 14 espécies são associadas a lesões da mucosa genital (de VILLIERS et al, 2004, BRAVO et al, 2006).

Os tipos de HPV são genótipos, porque sua classificação é feita com base nas diferenças do próprio genoma, ou seja, na comparação de sequências de nucleotídeos do gene L1 dos diversos HPVs. Essa diferença é de pelo menos 10%; se for inferior a 10% e até 2% é subtipo, se for menor que 2% é considerado variante (GARCÍA-ESPINOSA et al., 2009).

Figura 1 - Filogenia de genótipos e gêneros de HPVs.



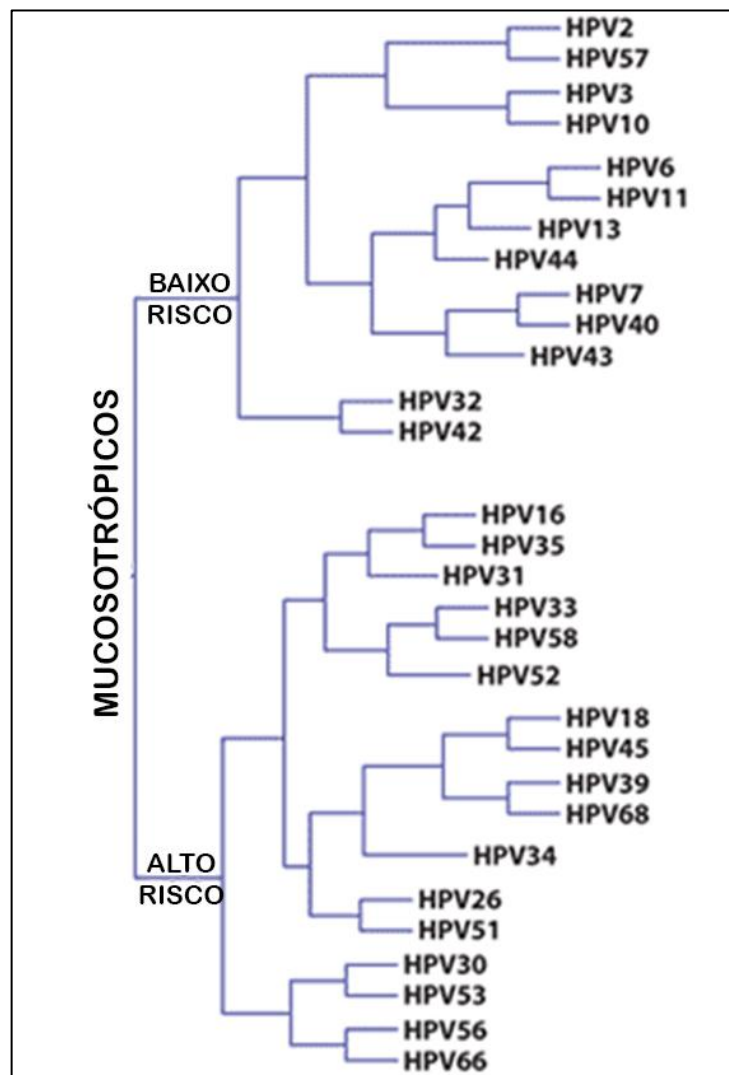
Fonte: Adaptado de Crow, 2012.

Entre os diversos tipos identificados de HPV alguns apresentam tropismo característico (GUIMARÃES, 2011). Há os que têm tropismo pela pele, sendo encontrados muitas vezes em verrugas e lesões cutâneas, como os subtipos 1, 4, 5, 8, 41, 48, 60, 63 e 65 enquanto os HPVs 6, 11, 13, 16, 18, 26, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 39, 42, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 64, 66, 67, 68, 69, 70 e 73 apresentam afinidade pela mucosa. Estes podem ser encontrados em lesões neoplásicas e cancerosas do colo uterino, como também da vagina, vulva, ânus e pênis e, ocasionalmente, também podem causar lesões malignas na cavidade oral, orofaringe, laringe e esôfago (PIQUÉ; JOSÉ, 2008; SOUTO; FALHARI; CRUZ, 2005).

Os tipos de HPV são classificados entre vírus de alto ou baixo risco oncogênico, de acordo com a capacidade do vírus de transformar a célula hospedeira (PIQUÉ; JOSÉ, 2008; PALESFKY, 2009) (Figura 2).

Cerca de 40 tipos de HPV infectam a região anogenital e podem ser classificados em HPV de baixo risco oncogênico (HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 55) e de alto risco oncogênico (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 e 59). Os tipos de HPV 26, 53, 66, 67, 68, 70, 73 e 82 são classificados como genótipos de provável alto risco (LEVI, 2012). Existe ainda um grupo de subtipos, 2, 3, 7, 10, 27, 28, 29, 40, 43, 57, 61, 62 e 72, que podem ser encontrados tanto em lesões cutâneas, quanto em mucosas, estando a sua relação com lesões malignas menos estabelecidas (Quadro 1) (PIQUÉ; JOSÉ, 2008).

Figura 2 - HPVs mucosotrópicos e filogenia do seus potenciais oncogênicos



Fonte: Adaptado de http://www.aacc.org/publications/cln/2007/june/Pages/cover2_0607.aspx.

Quadro 1 - Subtipos de HPV que infectam o trato genital e seus riscos oncogênicos

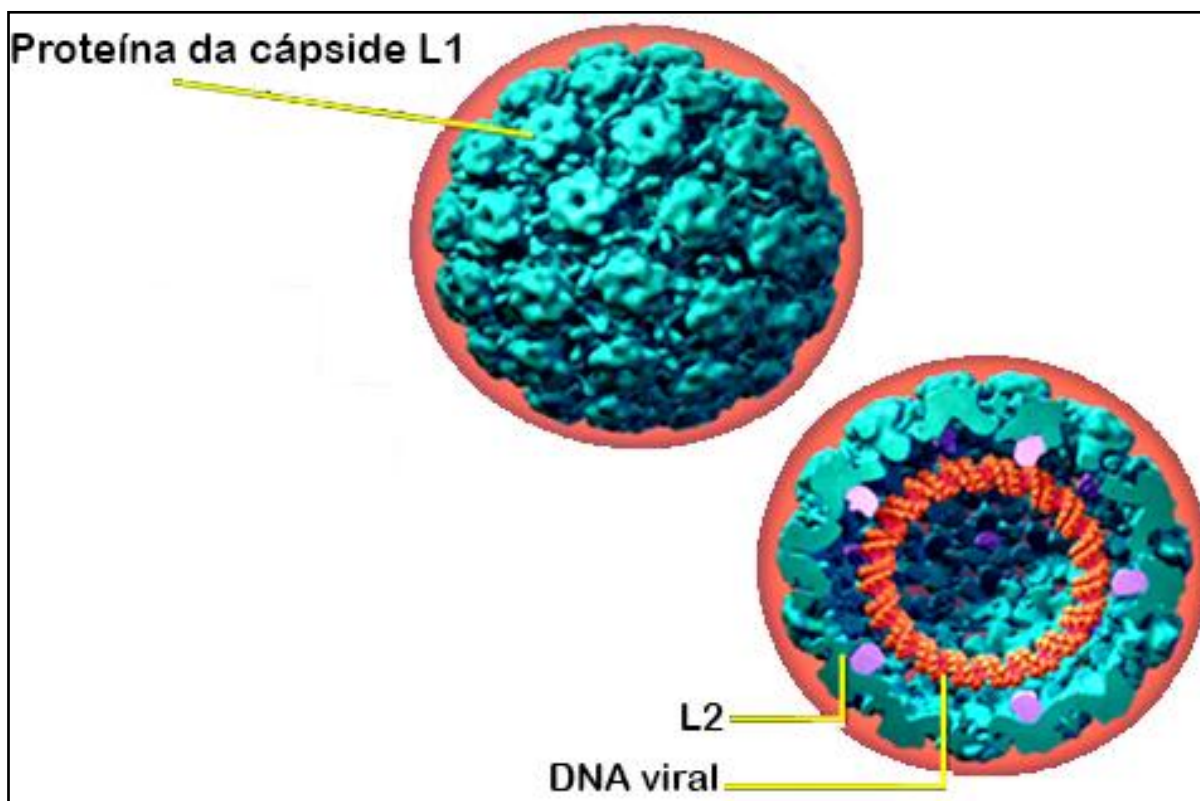
Risco Oncogênico	Subtipos
Alto risco	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82
Prováveis de alto risco	26, 53, 66, 67, 68, 70, 73 e 82
Baixo Risco	6, 11, 42, 44, 51, 53, 83
Mais comuns de alto risco	16, 18, 58, 33, 45, 31, 52, 35, 59, 39, 51, 56
Mais comuns de baixo risco	6, 11

Fonte: Adaptado de Levi, 2002a; Levi 2002b; De Freitas et al., 2012, Leaver & Labonte, 2010, Carter et al., 2011, Kojic e Cu-Uvin, 2007.

2.2.2 Biologia do HPV

Os HPVs são pequenos vírus não envelopados, arredondados, com diâmetro em torno de 55 nm. O DNA é circular de dupla fita com cerca de 8 kb, ligadas covalentemente e associadas a histonas de origem celular, fica de forma episomal no núcleo da célula hospedeira. A partícula viral, o vírion, consiste de uma capa protéica, o capsídeo, que envolve o genoma viral, tendo aproximadamente 2 nm de espessura e é composto por 72 unidades morfológicas, os capsômeros, dispostos segundo uma simetria icosaédrica (T=7). Os capsômeros que estão localizados em cada um dos 12 vértices são pentavalentes, isto é, circundados por cinco capsômeros adjacentes, e os outros 60 capsômeros que são hexavalentes. Os 72 capsômeros são pentâmeros da proteína estrutural principal, L1 (54 kDa). Outra proteína estrutural menos representada, a L2 (76 kDa), também compõe mais internamente o capsídeo. Essas proteínas são responsáveis pela imunogenicidade do vírus e carregam determinantes antigênicos gênero-específicos (Figura 3) (JASTREBOFF; CYMET, 2002; PSYRRI; DIMAIO, 2008 SANCLEMENTE; GILL, 2002; CHEN et al., 2009).

Figura 3 - Capsômeros e proteínas da cápside do HPV



Fonte: Adaptado de <http://papiloma-que.blogspot.com.br/2011/06/vacinacao-contrainfeccoes-por.html>.

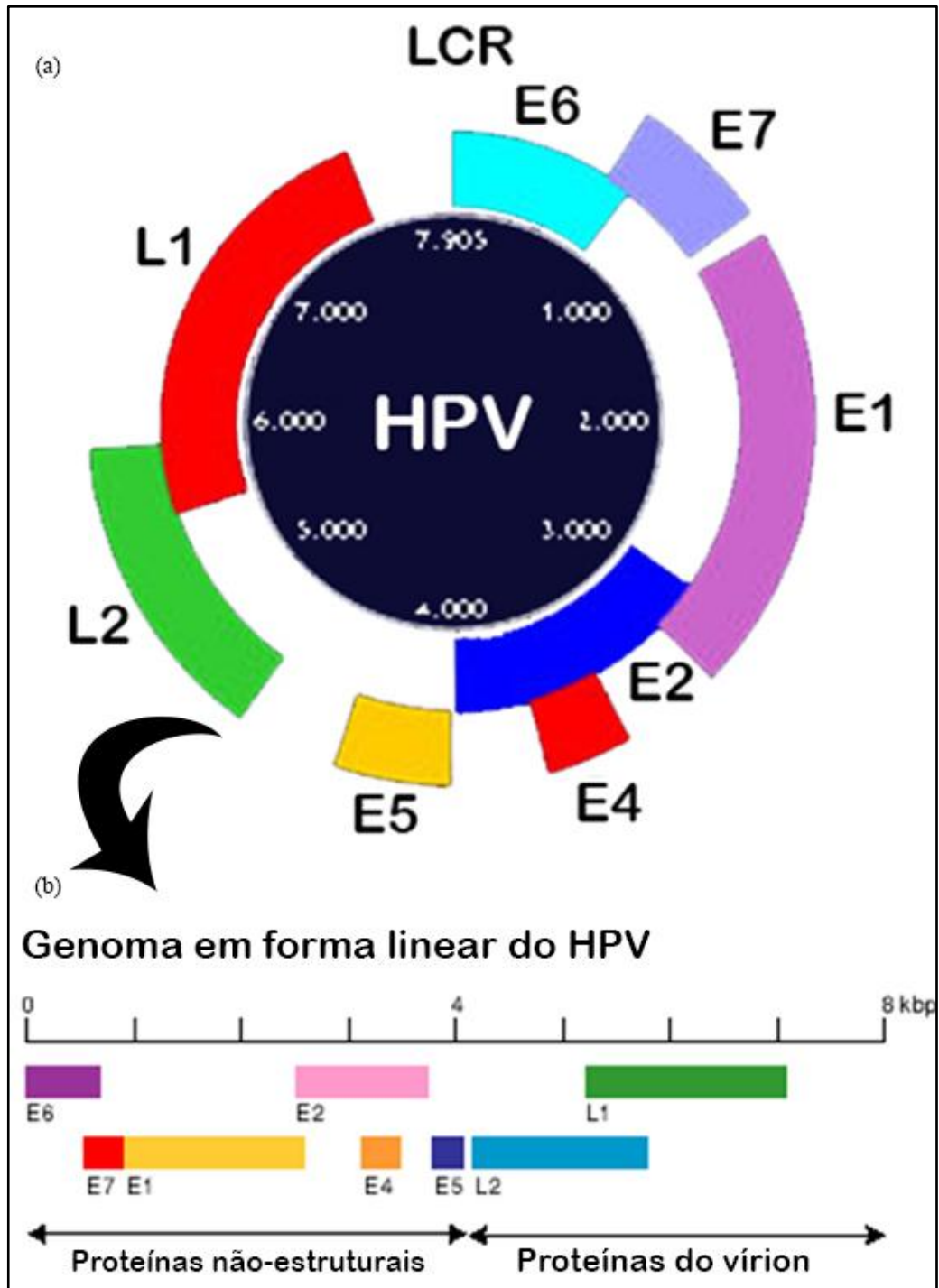
2.2.3 Proteínas do vírus

O genoma do HPV contém 8 regiões conhecidas como fases de leitura aberta (ORFs - open reading frames) e mais uma região não-decodificadora. Na fase de leitura aberta é dividido em 2 regiões: Precoce (E do inglês Early), e Tardia (L - do inglês Late); a terceira região é a não-decodificadora: Região longa de controle, (LCR - do inglês Long Control Region) ou Região regulatória de alto fluxo (URR - do inglês Upstream Regulatory Region) (JUNG et al., 2004; ANGULO; CARVAJAL-RODRIGUEZ, 2007; HENG et al., 2009; ROSA e al., 2009).

A região Early ou Região Precoce recebe essa denominação, pois tem suas proteínas no ciclo viral. Na região E, estão as ORFs que codificam as proteínas não estruturais E1, E2, E4, E5, E6 e E7, a região L ou região tardia (Late), é composta pelos genes L1 e L2 (DOORBAR, 2005) (Figura 4). A URR ou LCR ajuda na regulação da expressão do gene do

vírus e sua replicação (BOULET et al., 2007; PASSOS et al., 2008, MOTOYAMA et al., 2004).

Figura 4 - DNA do HPV (a) Genoma do HPV (Regiões E, L e LCR), (b) Organização linear do genoma do HPV



Fonte: Adaptado de Expert Reviews in Molecular Medicine (Disponível em: http://journals.cambridge.org/fulltext_content/ERM/ERM1_05/S1462399498000210sup010.htm) e de Doorbar, 2005.

A proteína E1 é uma helicase essencial para replicação viral e transcrição gênica. E2 atua na replicação viral, age na transcrição viral, tem um papel importante na patogênese oncogênica, mas principalmente é um regulador da transcrição genes virais. É responsável pelo controle da expressão das proteínas E6 e E7, estando envolvida na repressão do promotor viral precoce, controlando o mecanismo de (PASSOS et al., 2008).

Em níveis baixos de expressão, E2 liga suas sequências de reconhecimento e ativa o promotor precoce, enquanto que em concentrações elevadas reprime a ligação dos fatores de transcrição celular. Essa capacidade de E2 contribui para o controle do número de cópias virais em células indiferenciadas (BOULET et al., 2007; PASSOS et al., 2008, MOTOYAMA et al., 2004).

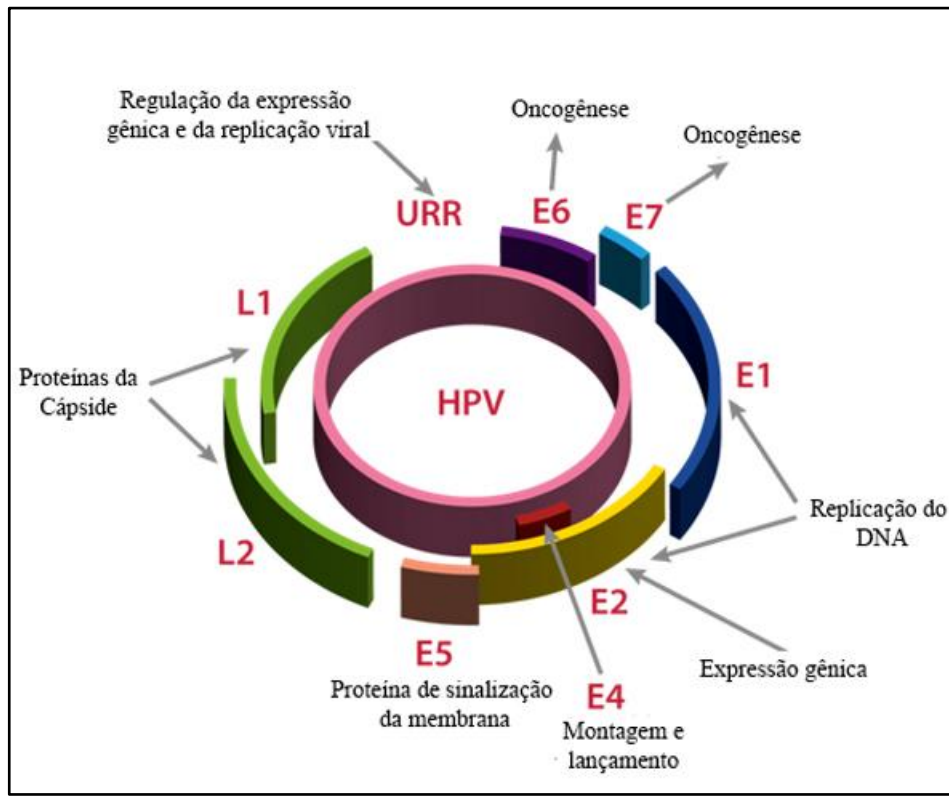
E4 ainda não possui uma função conhecida. Apesar das poucas informações sobre os produtos do gene E4 é provável que auxilie a saída do vírus da célula induzindo a rede de citoqueratina celular ao colapso. Também pode estar associada na regulação e estabilidade do RNAm, e por promover a coilocitose nas células infectadas pelo vírus (MOTOYAMA et al., 2004).

O gene E5, de maneira independente, pode causar transformação tumorigênica, provavelmente associada a modificação das vias de fatores de crescimento. Parece ativar os receptores para o fator de crescimento da epiderme, resultando em estímulo do crescimento celular. Também pode se associar a proteína E7 e promover a malignização das linhagens celulares afetadas, e pode inibir a expressão do gene supressor de tumor p21 (PASSOS et al., 2008).

E6 e E7 possuem várias funções associados a oncogênese cervical que serão descritas a seguir na patogênese viral.

Os genes tardios codificam as proteínas denominadas L1 e L2, as quais são componentes estruturais do capsídeo virótico. Essas proteínas são responsáveis pela imunogenicidade do vírus e carregam determinantes antigênicos gênero-específicos (Figura 5) (BOULET et al., 2007; PASSOS et al., 2008, MOTOYAMA et al., 2004).

Figura 5: Proteínas do vírus e suas funções



Fonte: <http://www.genpathdiagnostics.com/womens-health/gencerv/>

2.2.4 Patogênese do HPV

De acordo com Doorbar (2005), a patogênese do vírus ocorre em 5 etapas: infecção, manutenção do genoma viral, proliferação viral, amplificação dos genes e a síntese de novas células virais com sua posterior liberação no ambiente.

Lesões abrasivas favorecem o início da infecção, por darem ao vírus acesso às células basais. Estas células que são da camada mais profunda e menos diferenciada do epitélio escamoso, e que ainda têm atividade mitótica (ROSA et al., 2009).

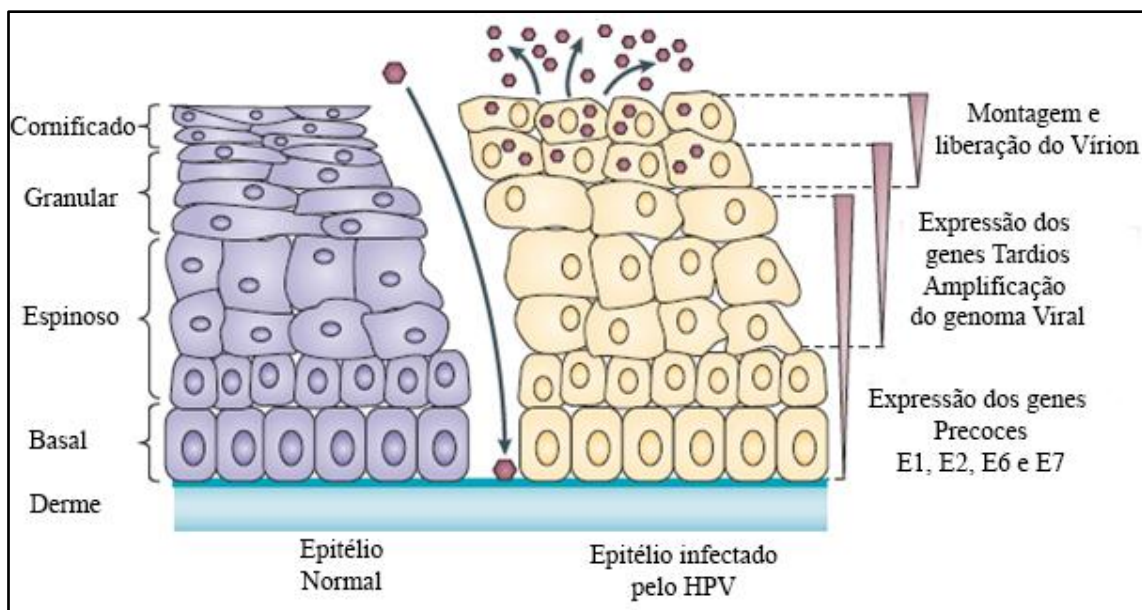
O vírion em contato com a superfície celular ativa as proteínas do capsídeo que interagem com receptores específicos dessa superfície. A alfa-6 integrina é este receptor celular para os papilomavírus (EGAWA, 2003). Depois de penetrar na célula, o vírion perde seu capsídeo, expondo seu DNA à ação de enzimas nucleares, o que favorece a expressão dos genes virais (WILSON et al., 2002).

O vírus passa por um período de incubação de 2 a 3 semanas, antes que se inicie o desenvolvimento de lesões (DOORBAR, 2005).

Na fase da manutenção do genoma logo após a infecção, ainda são baixos o número de cópias, e o vírus se encontra sob a forma epissomal nas células da camada basal. Há baixa expressão das proteínas E6 e E7, E1 e E2, só suficiente para manutenção genômica viral. E6 e E7 estimulam a progressão do ciclo celular e associam-se com os reguladores do ciclo celular (DOORBAR, 2005).

Na fase proliferativa, as células basais saem do ciclo celular, migrando para as camadas suprabasais e passam por um processo de diferenciação terminal. Isso estimula a expressão de outros genes virais para a produção de vírus completos (MADISON, 2003; MUNGER et al., 2001). A síntese de partículas virais ocorre com a expressão de E1, E2, E3 e E4. Essas partículas são formadas nas camadas médias e superiores do epitélio da cérvice, com os genes L1 e L2 codificando as proteínas do capsídeo viral. Em seguida, ocorre a montagem dos vírions, com o empacotamento do DNA viral na camada superficial do epitélio. A liberação das partículas virais ocorre sem lise das células hospedeiras, pela descamação do epitélio (DOORBAR, 2005) (Figura 6).

Figura 6 - O ciclo de vida do papilomavírus humano



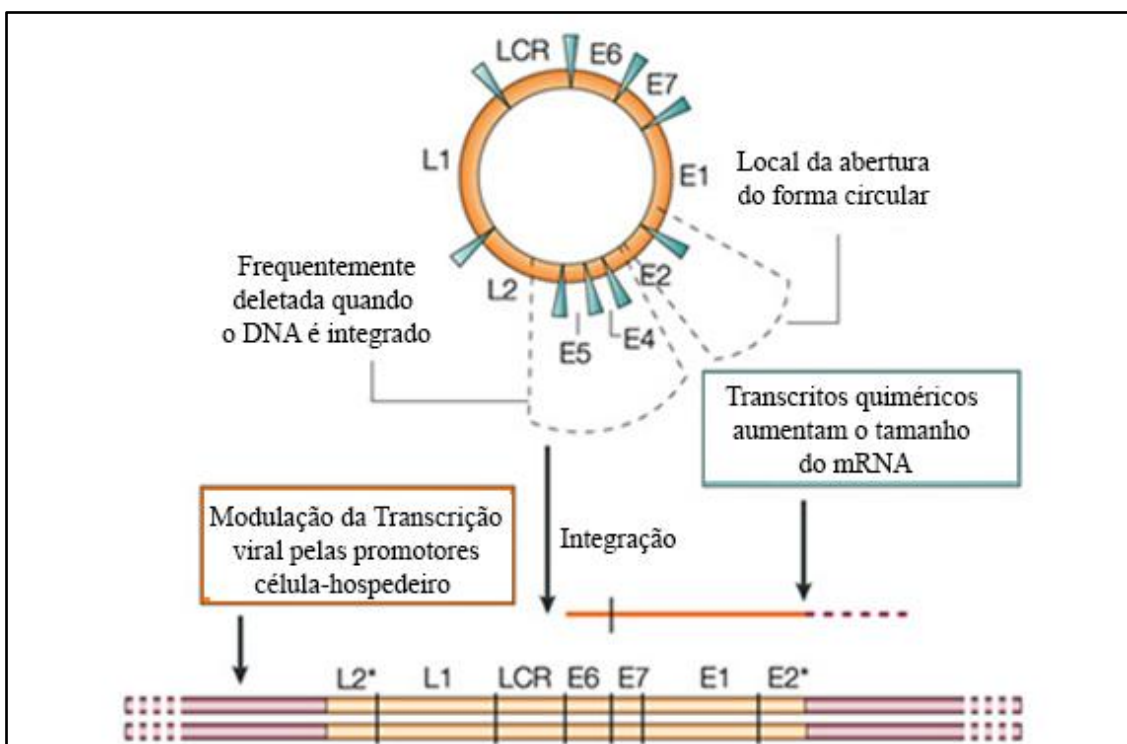
Fonte: Adaptado de Moody e Laimins, 2010.

A geração de neoplasias está associada à perda da regulação do ciclo do HPV, que ocorre em infecções persistentes, principalmente com tipos de alto risco oncogênico, que leva a integração do genoma viral ao genoma da célula hospedeira (AGGARWAL et al, 2006; AZEVEDO et al, 2006).

Quando ocorre a integração do genoma viral ao DNA da célula hospedeira, há a ruptura do gene E2, este que é responsável por controlar a expressão de E6 e E7. Com isso, há aumento de E6 e E7 estimulando a replicação celular (Figura 7) (DOORBAR, 2005).

Observa-se nas lesões de baixo grau o DNA do HPV na forma epissomal, ou seja, não integrado ao DNA celular, enquanto que em lesões de alto grau o DNA do HPV se integra ao DNA da célula (GUIMARÃES, 2011).

Figura 7: Integração do DNA viral ao DNA do hospedeiro

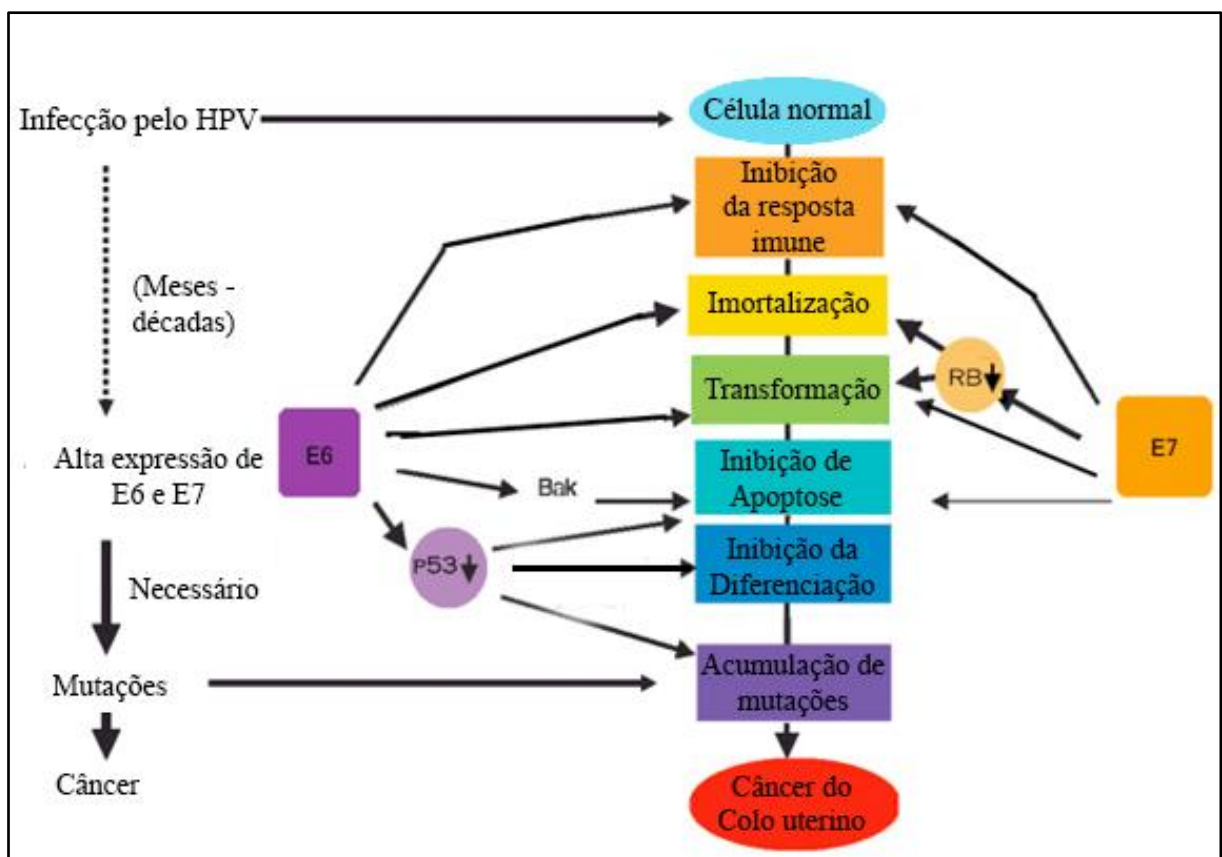


Fonte: Zur Hausen (2002).

As proteínas E6 e E7 possuem um papel importante na carcinogênese em caso de lesões persistentes, suas altas expressões podem gerar mutações. Ambas atuam em várias vias que facilitam a geração de câncer (BOULET et al, 2007).

A proteína E6 é envolvida no processo de transformação e imortalização celular, pois provoca a ubiquitinação da proteína p53, que a leva a degradação no proteossoma, evitando a apoptose celular. E6 também podem associar-se com outras proteínas pró - apoptóticas, incluindo Bak (THOMAS; BANKS, 1998) e Bax (LI; DOU, 2000), pode ativar a telomerase e induzir a instabilidade genômica (MOTOYAMA et al., 2004; PASSOS et al., 2008, BOULET et al., 2007). Já a proteína E7 se liga à proteína retinoblastoma (pRb), liberando o fator E2F que desencadeia a entrada da célula em ciclo celular. Assim induz podendo levar ao processo de transformação e imortalização da célula. O grau de expressão de E6 e E7 é diretamente proporcional ao grau de lesão cervical e em níveis maiores são encontrados em todo o epitélio de lesões de alto grau (GUIMARÃES, 2011; MOTOYAMA et al., 2004; PASSOS et al., 2008, BOULET et al., 2007) (Figura 8).

Figura 8: Mecanismo de E6 e E7 na carcinogênese cervical



Fonte: Adaptado de <http://oncohealthcorp.com/technology.html>.

2.2.5 Progressão da infecção pelo HPV e a formação do câncer

A infecção pelo HPV pode ser dividida em três formas distintas: clínica, subclínica e latente. A infecção clínica é facilmente detectada a olho nu, como uma verruga. A forma subclínica é a que geralmente pode ser encontrada no colo do útero, correspondendo a 80% dos casos, pode ser diagnosticada com o uso do colposcópico, após o uso de ácido acético a 5%. A forma latente pode ser detectada somente através dos exames de biologia molecular (CASTRO et al., 2009).

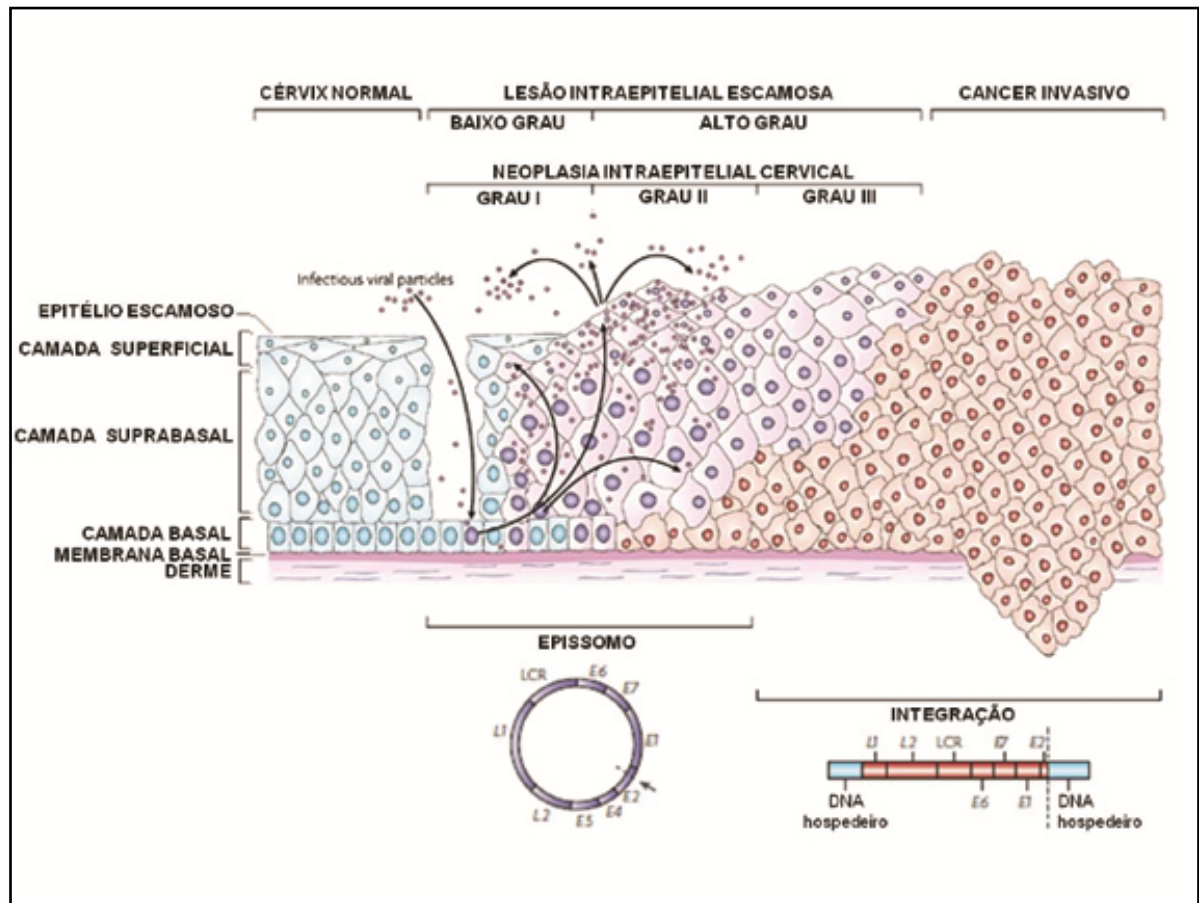
O fato de a infecção nem sempre progredir para a neoplasia também sugere que variações interpessoais do sistema imunológico possam ter papel na resolução da infecção da infecção pelo HPV e/ou na sua aquisição (CRUZ; MELO, 2010).

As lesões malignas do câncer cervical invasivo são precedidas de várias modificações no epitélio cervical original (FONSECA-MOUTINHO, 2008).

Essas alterações são agrupadas de acordo com os graus de gravidade, nas alterações na relação núcleo/citoplasma aumentados e padrão irregular de cromatina (SANTANA et al., 2008) (Figura 9).

De acordo com a evolução, as lesões são classificadas de acordo com o grau de diferenciação celular. Na histologia, a displasia suave é NIC I, a displasia moderada é NIC II, a displasia severa até o carcinoma in situ é NIC III. Na citologia, e no padrão mais recente do Sistema Bethesda, as lesões pré-malignas são classificadas em Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado (ASCUS), lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau (LSIL), na qual há displasia leve, coilocitose ou atipias condilomatosas e lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (HSIL), com displasia moderada a severa e carcinoma in situ (JASTREBOFF; CYMET, 2002) (Figura 10).

Figura 9 - Evolução e progressão da lesão até a geração de câncer

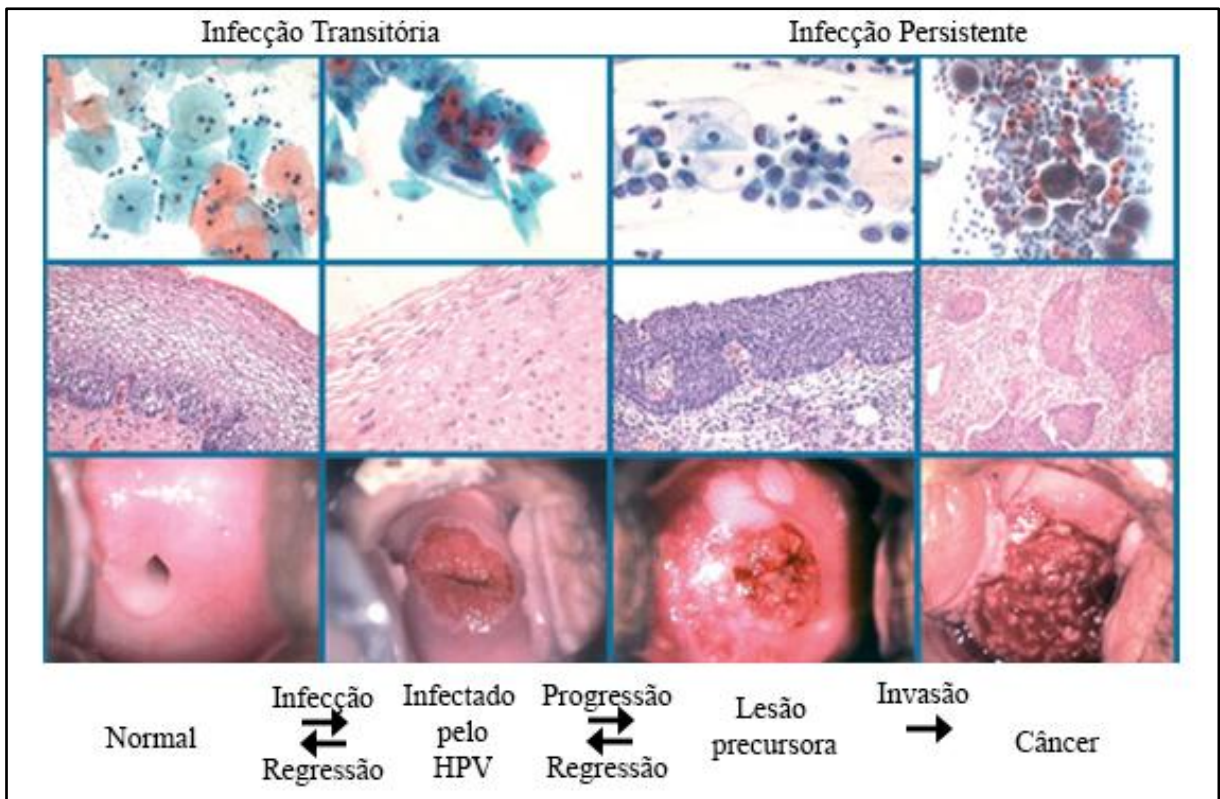


Fonte: http://www.nature.com/nrc/journal/v7/n1/fig_tab/nrc2050_F1.html.

Este processo de evolução das lesões, em geral, demora 10 anos (CRUZ; MELO, 2010). Porém, a detecção dessas lesões pré-cancerígenas e anomalias citológicas em pacientes com DNA HPV é pequena, devido a baixa sensibilidade dos métodos de triagem (SCHIFFMAN et al, 2007).

Embora o câncer cervical siga essas etapas, a involução também pode ocorrer, ou seja, a eliminação natural do HPV, ou regressões do pré-câncer para o tecido normal. (SCHIFFMAN et al, 2007).

Figura 10 - Alterações do epitélio cervical e lâminas citológicas das lesões cervicais



Fonte: Adaptado de SCHIFFMAN et al., 2007.

2.2.6 Detecção do HPV

O exame colpocitológico tem relevância na avaliação da integridade da mucosa vaginal e diferenciação entre um processo inflamatório e displasia provocada pelo HPV. A coilocitose que consiste no aspecto esburacado de uma célula devido à presença de grandes vacúolos perinucleares é sugestivo da infecção viral na citologia, porém os diagnósticos citológicos e histológicos revelam baixa sensibilidade. Portanto, a utilização de métodos de biologia molecular contribui na resolução de citologias alteradas (SWYGART, 1997; VINOKUROVA et al., 2005). Ogilvie et al. (2005) concluíram que a qualidade da coleta com material adequado mostra uma eficácia superior a 70% para o diagnóstico de infecção por HPV tanto na citologia como nos exames de biologia molecular como a hibridização in situ.

Garuti et al. (1989) em estudo semelhante chegaram a 86,2% de sensibilidade para o método, Frisch et al. (1990) descreveram a importância da colposcopia no acompanhamento

das alterações citológicas inflamatórias e avaliação das suas possíveis mudanças citológicas ou histológicas.

Nos casos de infecção subclínica ou latência a hibridização *in situ* nos tecidos ajuda na caracterização da infecção pelo HPV (SCHNEIDER et al,1991).

Com o advento das técnicas de biologia molecular, foi possível obter estimativas mais fidedignas, já que a maioria da população infectada pelo HPV não apresenta sintomas clínicos ou alterações citológicas. Mesmo dentre as diversas técnicas de detecção, ocorrem variações significativas dos dados a depender do método utilizado (MANZIONE et al., 2004).

A Reação em cadeia de polimerase (PCR) é considerado o método de diagnóstico da infecção pelo HPV mais eficaz (MANZIONE et al., 2004). Pois o esfregaço cervical e a colpocitologia em meio líquido ainda são dependentes da leitura subjetiva de um técnico ou patologista (FRANCO et al., 2012)

2. 3 EPIDEMIOLOGIA DO HPV

A infecção genital pelo HPV é considerada a DST mais frequente em todo o mundo, representando problema de saúde pública importante devido à sua alta prevalência e transmissibilidade (TROTTIER; FRANCO, 2006). Estima-se que 75% da população sexualmente ativa entre em contato com um ou mais tipos de HPV durante sua vida (KOUTSKY et al., 1997).

Habitualmente, a infecção é transitória e auto-limitada. Estudos revelam que até 90% das infecções pelo HPV são eliminadas ou suprimidas a níveis indetectáveis após 12 a 24 meses (HO et al., 1998; FRANCO et al., 1999). Infecções com os HPVs de alto risco, principalmente o HPV 16, parecem ter duração maior do que aquelas associadas aos HPVs de baixo risco (RICHARDSON et al, 2003).

Apesar das estimativas serem variáveis, é consenso que a incidência da infecção pelo HPV é alta, principalmente após a primeira relação sexual e a cada introdução de parceiro novo. Estudos de coorte, utilizando a técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR) para detecção do vírus, demonstraram que até 3% por mês das mulheres previamente negativas tornam-se positivas em um teste subsequente. A incidência dos tipos oncogênicos é habitualmente maior do que dos não-oncogênicos (TROTTIER; FRANCO, 2006).

Em estudos de coorte, cujas amostras eram formadas por estudantes, a incidência cumulativa ultrapassou 40% em três anos de acompanhamento (HO et al., 1998; WOODMAN et al, 2001; WINER et al, 2003). Em coorte brasileira, a incidência cumulativa foi de 24% em 18 meses (FRANCO et al., 1999).

As taxas de prevalência da infecção pelo HPV variam a depender do método diagnóstico escolhido e da população de estudo. Estudos baseados no rastreamento através do exame de Papanicolaou revelam taxas de prevalências inferiores a 6% (SYRJÄNEN; SYRJÄNEN, 1990; GHAZAL-ASWAD et al., 2006).

Em população de mulheres assintomáticas, demonstrou-se diferença significativa na taxa de detecção encontrada pelas técnicas de PCR e de dot-blot, respectivamente 46 e 11% (BAUER et al., 1991).

A literatura brasileira carece de estatísticas nacionais. Estudo transversal com mulheres atendidas em um serviço público de rastreamento para câncer em Porto Alegre (RS) detectou o material genético do HPV (HPV-DNA) em 27% das amostras (NONNENMACHER et al., 2002). Por sua vez, Oliveira et al. (2006) identificaram positividade para o HPV em 58% das mulheres encaminhadas para exame de rotina em serviço privado do Rio de Janeiro, RJ. Em estudo realizado na população rural do Nordeste brasileiro, a prevalência de HPV foi de 26% (DE LIMA SOARES et al., 2003). Em uma amostra de mulheres de uma instituição carcerária de São Paulo, a detecção do HPV através da captura híbrida (CH) foi de 16,3% para os HPV de alto grau e de 4,8% para os HPV de baixo grau (LOPES et al., 2001).

PINTO et al, (2011) encontrou prevalência de 14,2% de infecção genital pelo HPV em mulheres residentes nas margens esquerda e direita do lago da Usina Hidrelétrica de Tucuruí, incluindo as ilhas e a porção continental, não havendo diferença significativa com a prevalência encontrada na capital do estado do Pará, a qual foi de 15%.

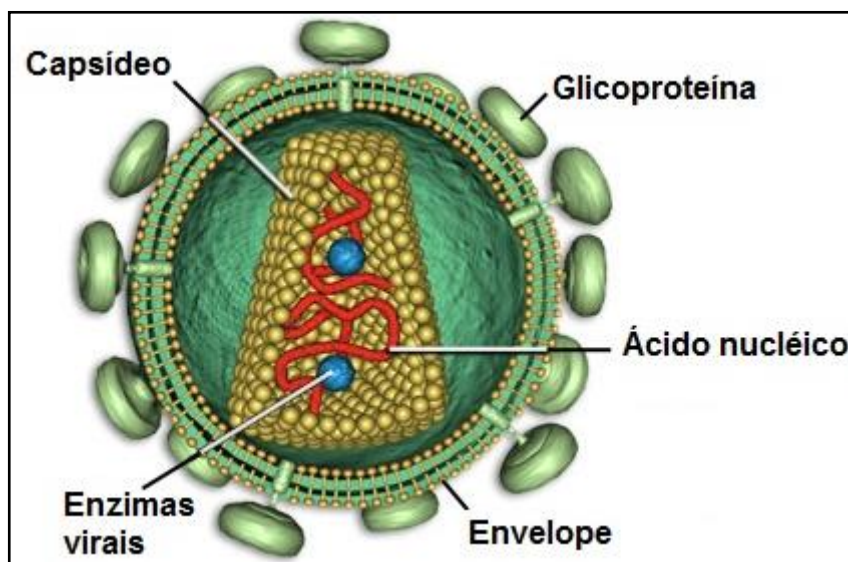
A estimativa da infecção pelo HPV apresenta-se da seguinte forma: 100% da ocorrência de câncer cervical está relacionado ao HPV; 90% dos casos de câncer anal, 40% dos casos de câncer genital (vulva, vagina e pênis), aproximadamente 12% dos casos de câncer de orofaringe e 3% dos casos de câncer oral estão associados à presença do HPV (WHO, 2007).

Os HPVs de elevado risco oncogênico estão frequentemente associados HSIL e neoplasias malignas do colo uterino. Entre os subtipos de HPV, o 16 e o 18 causam aproximadamente 70% de todos os casos de câncer cervical registrados no mundo. (ENTIAUSPE et al, 2010).

2.4 ASSOCIAÇÃO DO HPV COM O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV)

O HIV possui duas variantes, o HIV-1 e o HIV-2. É um RNA-vírus de fita dupla com 100 a 120nm de diâmetro (Figura 11). A infecção pelo HIV provoca depleção e enfraquecimento funcional de células T CD4+ e aumento de células T CD8+ ativadas e irresponsivas, assim como aumento de auto-anticorpos e complexos imunes (BACCAGLINI et al., 2007).

Figura 11 - Vírus da Imunodeficiência Adquirida



Adaptado de <http://micro.magnet.fsu.edu/cell/viruses/hivvirus.html>

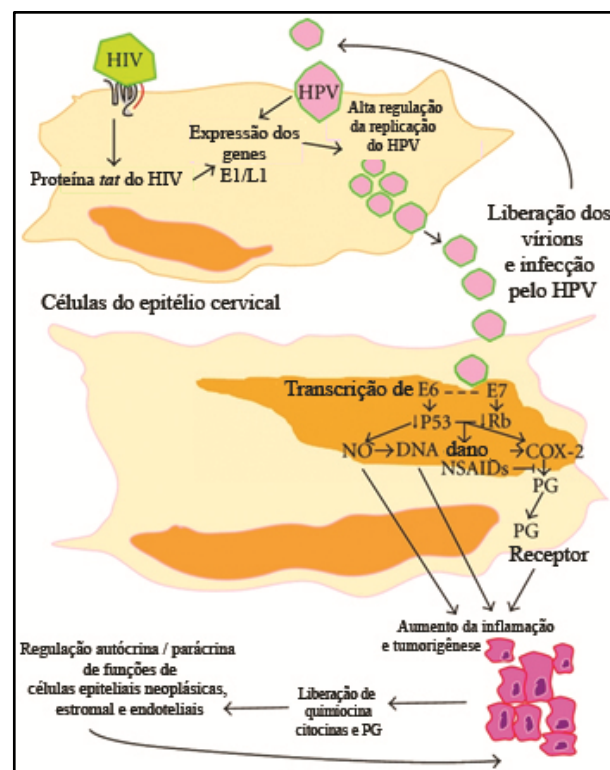
HIV contribui para uma maior suscetibilidade a infecção e oncogênese do HPV através da imunossupressão do hospedeiro, que permite não só uma resposta ineficiente a contaminação pelo vírus como também sua persistência e mudanças genéticas subsequentes no epitélio que promovem displasia e eventualmente o câncer (D' SOUZA et al. 2008; CHARUA - GUINDIC et al, 2009; KOBLIN et al, 2006; ORDONEZ & MARCONI, 2012).

O HIV atua na patogênese do HPV através da proteína *tat* que faz com que aja amplificação dos genes do E1/L1 levando ao aumento da replicação do HPV e também a libertação de viriões de HPV. Estes infectam a célula e também células epiteliais do colo do útero adjacentes. Dentro das células epiteliais, E6 e E7 que pelas vias descritas anteriormente

atuam na patogênese e oncogênese, podem aumentar o óxido nítrico (NO), danos no DNA e ativação do receptor COX-2/PG/PGR, levando ao aumento da inflamação e tumorigênese. Essas células inflamatórias e tumorais podem então libertar citocinas, quimiocinas e prostaglandinas (PG) que atuam de forma autócrina e parácrina para regular o endotélio e o microambiente tecidual. Com isso, podem haver aumento da angiogênese no tumor, aumento do crescimento tumoral, redução da apoptose e diminuição da imunovigilância local (PALESKY, 2009, GUIMARÃES, 2000; ZIMMERMMANN; MELO; ZIMMERMMANN, 2008) (Figura 12).

A modulação da resposta imunológica para o HPV é mais provável mecanismo pelo qual o HIV potencializa doença associada ao HPV. A resposta imunológica ao HPV se acredita desempenhar um papel crítico no controle da infecção por HPV em ambos os indivíduos saudáveis e HIV-positivos (SCHIFFMAN, 1992). Por conta da infecção pelo HIV, há a diminuição de células CD4+. Estudos indicam que ambas as respostas pró e anti-inflamatórias presentes nas HSIL são suprimidas nas mulheres soropositivas para o HIV. Isso resulta em maior prevalência da displasia de alto grau e diminuição da probabilidade de regressão espontânea de displasias (CRITCHLOW et al, 1998; KOBAYASHI et al., 2004; LEVI et al., 2005; ZIMMERMMANN; MELO; ZIMMERMMANN, 2007).

Figura 12 - Interação do HIV na patogênese do HPV



Apesar da reconstituição imunológica associada com o uso da terapia anti-retroviral combinada, a prevalência de infecções por HPV e lesões cervicais continuam altas em mulheres HIV positivas (D'SOUZA et al., 2008; PATEL et al., 2008).

O tratamento com antivirais tem esquemas com monoterapia ou combinações de medicações e o período ideal para o início da terapia ainda é controverso, mas basicamente utiliza-se da dosagem de células T CD4+ no sangue quando está repetidamente baixa como parâmetro e em pacientes assintomáticos (KOSS, 1987).

O grau de imunocomprometimento do soropositivo para o HIV varia em diversos estágios, podendo favorecer a suscetibilidade ao HPV e, por conseguinte a evolução ao câncer do colo uterino, portanto a necessidade de um rastreamento ainda mais rigoroso nessas mulheres, e com teste eficazes, com as novas técnicas de biologia molecular, consegue-se identificar numerosos tipos de HPV e ainda aqueles relacionados com a oncogênese, ao quais não são detectados nos métodos convencionais (KOSS, 1987).

Meniconi (2007) encontrou em mulheres coinfectadas com HPV e HIV, através de testes moleculares, maior número de células T CD4+ nos tecidos das pacientes com quadros histológicos de LSIL e condiloma e uma maior frequência de achados de metaplasia escamosa epidermóide das pacientes com quadros histológicos mais graves como HSIL e condiloma.

A associação entre o HPV e HIV leva a maior predisposição ao desenvolvimento de NIC e invasiva do trato genital inferior. O elo entre doenças relacionadas ao HPV e o HIV é extremamente relevante, pois, estes vírus são transmitidos sexualmente e possuem os mesmos fatores de risco (COELHO et al., 2004).

Numerosos estudos epidemiológicos têm evidenciado que, nos grupos de mulheres HIV- soropositivas, observa-se maior frequência de infecção do trato genital inferior pelo HPV e acredita-se que a imunossupressão e a própria carga viral do HIV sejam fatores facilitadores da persistência do HPV no colo uterino (CALORE et al., 2001; CARDILLO et al., 2001; SONCINI; CODEMI, 2003; MELO et al., 2003).

Ambas as infecções estão associadas a baixo nível socioeconômico, multiplicidade de parceiros, coitarca precoce, intercurso sexual desprotegido, multiparidade, dentre outros fatores. À medida que melhora o arsenal terapêutico disponível às pacientes HIV-positivas, a sobrevida tende a aumentar, assim como a incidência de NIC como manifestação oportunista

(CALORE et al., 2001; CARDILLO et al., 2001; SONCINI; CODEMI, 2003; MELO et al., 2003; PALEFSKY et al., 1999; SOPRACORDEVOLE et al., 1996). Entretanto, nota-se que a soro positividade para HIV é um fator de risco independente para infecções por HPV, nas formas latentes e clínicas (PINTO; TULIO; CRUZ, 2002).

As mulheres infectadas pelo HIV apresentam maior vulnerabilidade para manifestação do câncer de colo do útero em função da imunossupressão decorrente do HIV, que aumenta a suscetibilidade às doenças oportunistas. Estados de imunossupressão do hospedeiro, neste caso a mulher com HIV, produzem evolução das lesões cervicais com maior grau de severidade. Em virtude da rápida evolução do câncer cervical, essa neoplasia foi a primeira doença de gênero específico a ser incluída na definição de caso de AIDS no mundo (BRITO, GALVÃO; PEREIRA, 2011).

As mulheres que são portadoras concomitantemente do vírus da imunodeficiência humana e do HPV apresentam um risco 6,6 vezes maior de desenvolver Neoplasia Intra-epitelial Cervical (NIC) do que aquelas que são acometidas somente por um vírus. Aproximadamente 50% das mulheres com a síndrome da imunodeficiência adquirida têm citologia cervical anormal com suspeita de NIC. Nota-se que a imunodeficiência, principalmente com a redução do número de linfócitos T-CD4+, relaciona-se a maior prevalência e persistência da infecção por HPV e NIC (FERNANDES, 2004; COBUCCI et al., 2012).

Segundo Cerqueira et al. (2007), a infecção pelo HIV-1 pode tornar mais rápida a progressão das lesões associadas ao HPV e evolução para lesões de alto grau. Na maioria dos casos, o câncer cervical invasivo demora em torno de dez anos para evoluir em mulheres infectadas apenas com o HPV. Porém, no caso de mulheres soropositivas para o HIV-1, co-infectadas com o HPV, o período pode ser reduzido, evoluindo em cerca de um ou dois anos. Somando-se a isso a replicação do HPV pode ser realizada de forma mais eficaz em hospedeiros imunodeficientes, o que levaria a uma maior taxa de detecção e maior chance de desenvolvimento de infecção persistente pelo HPV.

2. 5 VACINA DE HPV EM HIV POSITIVAS

A vacina quadrivalente para HPV foi projetado para evitar que 4 tipos de HPV, os tipos 16 e 18 que são os agentes causadores da maioria do câncer do colo do útero, e os tipos 6 e 11, que mais causam verrugas genitais (CLARK et al, 2013).

A vacina é constituída de partículas semelhantes a vírus gerados pela expressão da proteína principal da cápside L1 a partir de tipos de HPV 6, 11, 16 , e 18, com um adjuvante de alumínio(CLARK et al, 2013).

Quando administrado a mulheres não infectadas pelo HIV sem exposição prévia ao HPV-16 e 18, a vacina contra o HPV demonstrou eficácia de 98% na prevenção da neoplasia intra-epiteliais cervicais relacionadas aos tipos de vacina e 100% das verrugas anogenitais (GARLAND et al., 2007).

O uso da vacina entre 700 mulheres negras impediu 100% de doença cervical e vulvar (CLARK et al., 2013).

Segundo Kojic et al. (2014) a vacina quadrivalente HPV é segura e imunogênica entre as mulheres infectadas pelo HIV com idades entre 13-45 anos, que eram soronegativos para os tipos de HPV incluídos na vacina, com proporções de soroconversão superiores a 75% para todos os 4 tipos de HPV. Em mulheres soropositivas para os tipos de HPV indicados antes para a série de vacinação, a vacina induziu um aumento significativo nos níveis de anticorpos.

O estudo de Wilkin et al. (2010) que avaliou a imunogenicidade da vacina quadrivalente de HPV entre os homens infectados pelo HIV com contagem de CD4+ acima de 200 células / mm³, mostrou 95% de soroconversão e nenhuma relação entre a contagem de células CD4+ e concentrações de anticorpos de HPV foram observadas, mas grandes concentrações de anticorpos anti-HPV 16 e 18 foram observados nos pacientes que receberam TARV.

Proporções de soroconversão foram maiores entre as mulheres com contagens de células CD4+ acima de 200 células/mm³ em comparação com ≤ 200 células/mm³ (KOJIC et al., 2014).

Resultados semelhantes foram encontrados entre 99 jovens mulheres infectadas pelo HIV com idade entre 16-23 anos (KANH et al., 2013).

Até o momento os estudos de eficácia da vacina publicados sobre as pessoas infectadas pelo HIV são raros. A literatura, porém mostra que pessoas infectadas pelo HIV têm sido documentadas como tendo uma baixa resposta a série de vacinação padrão como hepatite A e B14 (OVERTON et al., 2007).

Os dados sobre os preditores de respostas imunogênicas das vacinações têm sido inconsistentes, mas ambos consideram que a viremia do HIV e contagem de células CD4+ pode afetar as respostas (WEINBERG et al., 2006).

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Avaliar a prevalência e os aspectos clínicos e epidemiológicos da infecção genital pelo Papilomavírus humano (HPV) em mulheres soropositivas para HIV que são atendidas no Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) e Hospital Municipal de Tucuruí.

3.2 ESPECÍFICOS

- Determinar a prevalência da infecção genital por HPV e os subtipos 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 52, e 58 por meio de biologia molecular nas mulheres estudadas;
- Investigar a presença de HPV e seus subtipos em mulheres com citologia normal e citologia alterada
- Investigar as possíveis associações existentes entre a infecção genital pelo HPV e fatores sociodemográficos, comportamentais, sexuais, contraceptivos, reprodutivos e clínicos-ginecológicos selecionados;
- Avaliar a resposta imunológica e o uso de Terapia Antirretroviral com a presença do HPV.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

O estudo é observacional, descritivo e transversal-analítico.

4.2 SELEÇÃO DOS CASOS

As amostras foram coletadas no período de Março de 2011 a Julho de 2013. O estudo foi realizado em 74 pacientes infectadas por HIV atendidas no Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) do município de Tucuruí e Hospital Municipal de Tucuruí onde o exame e o material biológico foi recolhido e os questionários aplicados, sob supervisão de profissional responsável. A realização dos exames citológicos foi de responsabilidade da Secretaria municipal de Saúde de Tucuruí. A parte laboratorial do estudo foi realizada no Laboratório de Imunopatologia do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará (UFPA) onde se realizou a detecção e tipagem do vírus HPV, contagem de células T CD4+ e CD8+, avaliação dos questionários epidemiológicos e análises estatísticas.

Foram coletadas amostras cervicais para a realização do citológico e os testes laboratoriais, as mulheres soropositivas todas tinham sua sorologia confirmada para o HIV pelo CTA, através de exames laboratoriais.

Os critérios de inclusão era de mulheres maiores de 18 anos, com vida sexual iniciada, obrigatoriamente soropositiva para o HIV e que fossem pacientes do CTA/Tucuruí.

Foram excluídas do estudo pacientes menores de 18 anos; que não sejam do gênero feminino; sem vida sexual iniciada; soronegativas para HIV e que não estejam cadastradas no CTA/Tucuruí.

A coleta de dados foi feita através de questionário validado (APÊNDICE B), a partir do qual se obtiveram dados das pacientes como idade, álcool, fumo, comportamento sexual, número de parceiros, número de filhos, uso de preservativos e contraceptivos orais para estudo epidemiológico na população analisada. A coleta do colpocitológico foi realizada por profissional de saúde habilitado do CTA/Tucuruí. A parte laboratorial foi realizada no

laboratório de Imunopatologia do Núcleo de Medicina Tropical da UFPA para detecção e tipagem do papilomavírus.

4.3 PROCEDIMENTOS

4.3.1 Coleta da amostra

Os procedimentos da colpocitologia foram realizados com a mulher em posição ginecológica. Introduziu-se em sua vagina o espéculo de Collins para a visualização do colo do útero e do conteúdo vaginal. Nesse momento foram coletadas as amostras cervicais para a colpocitologia e biologia molecular. Os resultados da citologia foram classificados de acordo com o Sistema de Bethesda (2001) adotado pela Nomenclatura Brasileira para Laudos Citopatológicos Cervicais, conforme as categorias de Microbiota vaginal: *Trichomonas vaginalis*; Organismos fúngico morfológicamente consistentes com *Cândida Spp*, Desvio na flora sugestivo de vaginose bacteriana; Bactérias morfológicamente consistente com *Actinomyces spp*; Alterações células consistentes com o vírus herpes simples. E de acordo com as categorias para alterações celulares: Células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASCUS); não é possível excluir uma HSIL (ASC-H), Lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau (LSIL) (abrangendo HPV/displasia leve/NIC 1); Lesão intra-epitelial escamosa de alto grau (HSIL) (abrangendo: displasia moderada e grave, CIS; NIC 2 e NIC 3); com características suspeitas de invasão (se houver suspeita de invasão) e carcinoma de células escamosas.

4.3.2 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. A escova foi mergulhada em um tubo de 15 mL com PBS (solução salina tamponada com fosfato), no qual foi lavada no PBS para que as células ficassem em solução. Em seguida, o tubo foi centrifugado a 2000 rpm para a precipitação das células, que foram lavadas 3 vezes com PBS. Na última lavagem foi deixado 200 mL de PBS sobre o pellet de células e, em seguida, a amostra foi congelada em freezer -20°C.

4.3.3 Extração do DNA

O DNA foi extraído seguindo o protocolo de laboratório e normas de biossegurança, com orientações do kit de extração utilizado da Purelink™ Genomic DNA mini kit (Invitrogen, Carlsbad, EUA).

Em um microtubo de 1,5 ml, foi adicionado 200 µl de esfoliado celular do colo uterino, 20 µl de Proteinase K (20 mg/ml), 20 µl Rnase A (20 mg/ml). Logo em seguida, a suspensão foi agitada no *vortex* e incubado durante 2 minutos. Em cada microtubo, foram adicionados 200 µl de Tampão de Lise, levados ao *vortex* novamente e incubados em banho-maria a 55°C por 10 minutos. A seguir, adicionamos 200 µl de etanol absoluto. A próxima etapa foi a transferência da amostra para a coluna do *kit* acoplada ao tubo coletor. As colunas foram centrifugadas durante 1 minuto a 10.000 rotações por minuto (rpm) em centrífuga (Eppendorf). Após a centrifugação o tubo coletor foi descartado e a coluna foi transferida para novo tubo coletor. Em cada coluna foram adicionados 500 µl de Solução de Lavagem 1 e nova centrifugação a 10.000 rpm durante 1 minuto. O tubo coletor foi descartado com transferência da coluna para outro tubo coletor. Em seguida foram adicionados em cada coluna 500 µl de Solução de Lavagem 2 e mais uma centrifugação a 13.000 rpm por 3 minutos. O tubo coletor foi descartado e a coluna transferida para microtubo de 1,5 µl. Finalmente, foram adicionados 100 µl de água destilada/deionizada em cada coluna para eluição do DNA e centrifugação a 13.000 rpm durante 1 minuto. A coluna foi descartada e o DNA extraído condicionado a -20°C.

4.3.4 PCR globina

Como controle da extração de DNA das amostras foi realizado uma reação de amplificação em cadeia da polimerase ou PCR (do inglês Polimerase Chain Reaction) utilizado um par de oligonucleotídeos iniciadores que amplificaram o gene da globina (a presença da globina atesta a quantidade suficiente de DNA na amostra para a PCR).

Para a realização da técnica de PCR utilizamos o *kit Platinum® Taq DNA* (Invitrogen, Brasil) em uma reação com volume final de 20 µl. Para isso adicionamos 2 µl de solução tampão (10X) a um microtubo de 0,2 ml; 0,8 µl de Cloreto de Magnésio 50 mM; 0,8 µl de

Desoxirribonucleotídio Trifosfato (dNTPs) a 10 mM; 0,8 µl de Oligonucleotídeo Iniciador 5' - GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC - 3' 10 µM e Oligonucleotídeo Iniciador reverso 5' - CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC- 3' 10 µM; 0,15 µl de *Taq Polimerase* 5U/µl ; 14,45 µl de água destilada/deionizada. Logo em seguida, adicionamos um 1 µl de DNA extraído.

As reações ocorreram em termociclador (Eppendorf) onde foram submetidas à seguinte ciclagem: Primeiramente, ocorreu um ciclo de desnaturação inicial a 94°C por 3 minutos. Seguiram-se 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, ciclo de hibridação dos oligonucleotídeos iniciadores a 56°C por 30 segundos, e ciclo de extensão da *Taq polimerase* a 72°C por 30 segundos. Após a ciclagem, realizou-se um ciclo de extensão final a 72°C por 3 minutos e a reação foi estabilizada em 4°C.

Em seguida as amostras foram submetidas a eletroforese conforme protocolo abaixo. As amostras foram consideradas positivas quando o produto da PCR em gel de agarose apresentou uma banda de 269 pb à visualização sob luz ultravioleta e captura fotográfica no Gealiance 200 (Imaging System, PerkinElmer® através do software GeneSnap (Perkin Elmer). Nos casos em que o DNA não foi detectado na amostra, repetiu-se o processo de extração até obter um resultado positivo na PCR.

4.3.4.1 - Eletroforese

Preparo do gel de agarose a 1% p/v

Em um *becker*, foi 1 grama de agarose e adicionado 100 ml de Tris-Borato-EDTA (TBE 1X). Logo em seguida, levado ao forno microondas por 90 segundos até que a agarose dissolvesse completamente no tampão. Quando a solução do gel atingisse 60-70°C e foi adicionado 1 µl de Brometo de Etídio (10mg/ml). A solução de gel foi despejada em uma cuba de acrílico e colocados pentes para a formação de poços. Uma vez geleificado, o gel foi colocado na cuba de eletroforese contendo TBE (1X).

4.3.4.2 - Aplicação da amostra

Em cada poço foi colocado 8 µl de produto da PCR com 2 µl de tampão de aplicação no poço do gel.

4.3.4.3 - Corrida eletroforética

A fonte da cuba de eletroforese foi programada para 100 V, 500 mA para efetuar a eletroforese por 30 minutos. Nesse tempo, o DNA da amostra migrou até o polo positivo da cuba e o brometo de etídeo foi intercalando-se entre as bases do ácido nucleico. Após esta etapa, o gel foi levado para a visualização sob luz ultravioleta no transiluminador Gelliance 200™, Perkin Elmer®, EUA e as bandas de DNA visualizadas através do software GeneSnap.

Uma vez confirmada a presença de DNA nas amostras extraídas, foram realizados as PCRs para detecção do DNA de HPV.

4.3.5 PCR para detecção do HPV

Para detecção do HPV foi utilizada a técnica de biologia molecular conhecida como “Nested-PCR” capaz de detectar a presença de um ácido nucleico desse vírus, mesmo que em quantidades ínfimas. Essa técnica nada mais é do que a reação de polimerase em cadeia (PCR) realizada em duas etapas, o que permitiu amplificação em milhões de vezes de um determinado trecho de DNA.

Nesta técnica, inicialmente realizou-se uma PCR com iniciadores externos que amplificaram um fragmento de 440 pares de bases (pb). Os iniciadores universais MY9 e MY11 foram capazes de detectar os diferentes tipos de HPV devido ao seu anelamento em uma área conservada do genoma viral (L1) e amplificaram na reação de PCR um segmento de 440 pares de bases. Em caso de resultado negativo, utilizou-se um procedimento mais sensível, o nested PCR.

Na primeira reação de PCR utilizou-se 100ng de DNA da amostra extraída em um volume final de reação de 20µL contendo 2,5 ul de tampão 10X (200 mM de Tris-HCL pH 8,6 e 500 mM de KCl) 1,5 ul de Mg Cl₂ a 50 mM , 1 ul de DNTp a 10 mM, 200 nM de iniciadores universais MY9 (5'-CGT CCM ARR GGA WAC TGA TC -3') e MY11 (5'-GCM CAG GGW CAT AAY AAT GG - 3') e 0,25 unidades de Taq DNA 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 consistiu em 94°C por 30 segundos, 52°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% corado com brometo de etídio. O preparo do gel, a aplicação do produto de PCR e a eletroforese foram realizados como explicados anteriormente.

As amostras positivas apresentaram uma banda de 440 pares de bases (pb) à visualização sob luz ultravioleta e captura fotográfica no Gealiance 200 (Imaging System, PerkinElmer® através do software GeneSnap (Perkin Elmer). As amostras negativas nesta PCR foram submetidas a uma segunda PCR.

4.3.6 Nested PCR para detecção do HPV

A segunda PCR utilizando os oligonucleotídeos GP05 e GP06 aumentou a sensibilidade da técnica na detecção do vírus. Para a segunda PCR2 utilizou-se 1 µL do produto amplificado na primeira reação adicionando-se os oligonucleotídeos internos à região amplificada na reação anterior, GP05 (5'- TTT GTT ACT GTG GTA GAT ACT AC- 3') e GP06 (5'- GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT C- 3'). A seguir as reações foram colocadas no termociclador (Eppendorf) e submetidas a ciclagem como descrito no item anterior.

Em seguida, aplicou-se nas amostras gel de agarose e elas foram submetidas à eletroforese (Procedimento similar ao explicado anteriormente).

Consideraram-se positivas as amostras quando o produto da PCR apresentou uma banda de 150 pb à visualização sob luz ultravioleta.

4.3.7 qPCR ou PCR em Tempo Real

As amostras positivas para o HPV foram subtipadas por PCR em tempo real, e foram utilizadas uma sonda PrimeTime (IDT) específicas para cada subtipo (6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 52, 58) e kit Platinum® qPCR SuperMix-UDG (Invitrogen). Para cada amostra foi utilizado 0,1 µg de DNA, 200 nM de cada oligo iniciador, 0,1 µL 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. Os resultados serão analisados pelo StepOnePlus V2 software.

4.4 CITOPATOLOGIA E HISTOPATOLOGIA

A avaliação dos espécimes citológicos de material colhido do colo uterino foi feita através da coloração pelo método de Papanicolaou, útil nos diagnósticos citopatológicos de doenças inflamatórias e neoplásicas benignas e malignas. As amostras foram fixadas em álcool absoluto e posteriormente submetidas à coloração como descrito no Manual do Curso Internacional de Histotecnologia/UnB-Ministério da Saúde. A análise dos espécimes foi feita em microscopia de luz e classificados de acordo com o Sistema Bethesda (National Câncer Institute Workshop). Os espécimes coletados provenientes de biópsias e conização de colo uterino foram armazenados em solução de formalina 10% tamponada. Posteriormente as amostras foram submetidas à avaliação macroscópica e incluídas em parafina. Obteve-se cortes de 5 mm através de microtomia e montados em laminas com o número correspondente e, em seguida, corou-se pelo método da hematoxilina-eosina (HE), desidratadas e montadas com bálsamo e lamínulas. A análise dos espécimes foi feita por médico patologista e os laudos preparados seguiu o modelo do Ministério da Saúde (SISCOLO).

4.5 ANALISE DE DADOS

Os resultados obtidos durante os experimentos foram armazenados em planilhas eletrônicas usando o programa EXCEL, e ACCESS e analisados usando os programas EPI-INFO, SPSS e BIOESTAT 5.3, sendo apresentados sob forma de tabelas. (SPSS, 1989). 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 (Kramer & Feinstein, 1981). Avaliaram-se as hipóteses diagnósticas pelos seguintes testes: qui-quadrado, teste G, exato de Fisher e/ou t de Student de acordo com os valores obtidos (Cochran, 1953; Fisher & Yates, 1948). Utilizou-se também correlação de Spearman, cálculo de razão de chances (OR) com intervalo de confiança a 95% (IC 95%). Os gráficos foram feitos no GRAPH PAD PRISM 5.

4. 6 ASPECTOS ÉTICOS

O presente trabalho seguiu as recomendações do Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) e do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos CEP do Núcleo de Medicina Tropical da UFPA, recebendo aprovação sob o protocolo nº 026/2009 CEP NMT/UFPA (ANEXO A).

O termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Apêndice A), utilizado na pesquisa, foi explicado de forma verbal a cada paciente e aplicado antes da coleta de dados. No TCLE, foram esclarecidos a utilização do material biológico, dados clínicos da avaliação, as características do exame, o sigilo dos dados obtidos e a livre decisão de participação do indivíduo. Todos os participantes da pesquisa autorizaram a sua participação no estudo através da assinatura, para o prosseguimento na coleta dos dados.

Todos os procedimentos técnicos seguiram orientações da resolução 466/12 e 251/97 do Conselho Nacional de Saúde e foram cuidadosamente empregados de forma a garantir os aspectos de biossegurança tanto para examinadores quanto para os sujeitos da pesquisa.

5 RESULTADOS

Do total de 150 mulheres HIV positivas atendidas no CTA da cidade de Tucuruí, 74 tiveram seus dados coletados e DNA extraídos. A idade média destas pacientes foi de 34,5 anos, com mediana de 33 anos, variando de 22 a 62 anos.

Os dados coletados através do questionário mostraram que a maioria das mulheres era casada ou em união estável, sendo que mais da metade delas não completou o ensino médio (Tabela 1).

Tabela1 - Variáveis sócio demográficas das mulheres HIV positivas do CTA/Tucuruí

Variáveis	N	N	Frequência %
Situação conjugal			
Solteira/Separada/Divorciada/Viúva	27	74	36,5
Casada/União estável	47	74	63,5
Nível de escolaridade			
Analfabeta/Fund incompleto	37	74	50
Fund completo/Médio incompleto	25	74	33,88
Médio completo	12	74	16,2

Fonte: Protocolo de pesquisa

A maioria das pacientes afirmou ter utilizado contraceptivos orais em algum momento da vida (60.81%). Já quanto ao uso de preservativo, cerca de 94,59% das pacientes já utilizaram na vida, entretanto, apenas 56,75% utilizam atualmente de forma regular.

Quanto ao número de gestações, 81,08% afirmaram ter engravidado duas ou mais vezes. Apenas cinco (6,75%), das 74 pacientes, nunca engravidaram. A média de idade da primeira gestação foi 17,92 anos, com variação de $\pm 2,69$ anos e mediana de 17 anos (Tabela 2).

Tabela 2: Variáveis contraceptivas e de paridade das mulheres HIV positivas do CTA/Tucuruí

Variáveis	n	N	Freq %	Média ± DP	Mediana
Pílula na vida					
Sim	45	74	60,81		
Não	29	74	39,18		
Pílula atualmente					
Sim	7	74	9,46		
Não	67	74	90,54		
Uso de camisinha na vida					
Sim	70	74	94,59		
Não	4	74	5,40		
Frequência de uso da camisinha					
Sempre	42	74	56,75		
Às vezes	28	74	37,83		
Nunca/Não se aplica	4	74	5,40		
Gravidez					
Idade na 1ª gravidez				17,92 ± 2,69	17
Nenhuma	5		6,75		
1 gestação	9		12,16		
≥ 2 gestações	60		81,08		

Fonte: Protocolo de pesquisa

A tabela 3 mostra que a idade de início da atividade sexual ocorreu, em sua maioria, após os 14 anos (73%), sendo que a mediana foi de 16 anos. Em relação ao número de parceiros sexuais na vida, 8,1%, tiveram um parceiro, 82,4% tiveram dois ou mais parceiros e 7 pacientes não informaram. Outro dado foi o número de parceiros sexuais no último ano, o qual revelou que 89,2% não tiveram ou tiveram apenas um, e 6,8% tiveram dois ou mais parceiros.

Tabela 3: Variáveis comportamentais sexuais das mulheres HIV positivas do CTA/Tucuruí

Variáveis	n	N	Freq %	Média ±DP	Mediana
Idade da coitarca					
≤14 anos	18	74	24,3	13 ± 1,188	13
> 14 anos	54	74	73	16,7 ± 1,722	16
Parceiros sexuais na vida					
1 parceiro	6	74	8,1	1 ± 0	1
≥ 2 parceiros	61	74	82,4	24,1 ± 69,29	6
Parceiros sexuais no último ano					
≥2 parceiros	5	74	6,8		3
≤1 parceiro	66	74	89,2	0,75 ± 0,431	1
Parceiros sexuais novos no último ano					
≥1 parceiro	55	74	77	2 ± 3,162	1
Nenhum	11	74	13,5	0 ± 0	0

Fonte: Protocolo de pesquisa

Ao analisar o exame citopatológico, 81,08% apresentaram citologia normal/inflamatória e 4,05% apresentaram LIE de baixo grau e 4,05% LIE de alto grau. A microbiota vaginal era composta na maioria das pacientes por cocos/bacilos (97,2%), 22,97% apresentaram lactobacilos, 22/72 pacientes (29,73%) apresentaram *Gardnerella vaginalis* e 6,76% apresentaram *Candida sp* (Tabela 4). Duas amostras foram consideradas insatisfatórias para o exame.

Tabela 4: Resultados das citologias das mulheres HIV positivas do CTA/Tucuruí

Variáveis	N	N	Frequência %
Citologia			
Normal (inflamatório/atrofia)	66	74	89
Alterada	8	74	11
Citologia descritiva			
Inflamatória	60	74	81,08
Atrofia/inflamatória	6	74	8,11
LIE de baixo grau	3	74	4,05
LIE de alto grau	3	74	4,05
Microbiologia vaginal			
<i>Lactobacilus</i>	17	74	22,97
<i>Tricomonas</i>	0	74	00
<i>Cocos/bacilos</i>	72	74	97,30
<i>Gardenerella vaginalis</i>	22	74	29,73
<i>Candida sp.</i>	5	74	6,76

Fonte: Protocolo de pesquisa

A prevalência da infecção pelo HPV nesta população foi de 68%.

Analisando os fatores de risco sociodemográficos da população estudada em relação à infecção pelo HPV, notou-se que as pacientes que se declaram solteira/separada/viúva estão mais expostas ao risco de contrair HPV, revelando a prevalência de 85%, sendo significativa estatisticamente ($p=0,021$). A escolaridade não mostrou significância estatística (Tabela 5).

Tabela 5: Variáveis sócio-demográficos para as mulheres soropositivas para o HIV e com o DNA HPV

Variáveis	N	DNA HPV		OR	p-valor*
		n	Freq%		
Situação conjugal					
Solteira/Separada/Divorciada/Viúva	27	23	85	3,14	0,0210
Casada/União estável	47	28	60		
Nível de escolaridade					
Analfabeta/Fund Incompleto	37	27	73		
Fund Completo/Médio Incompleto	25	13	52	2,49	0,0982
Médio Completo	12	10	83	0,54	

Fonte: Protocolo de pesquisa

*Teste do Qui-quadrado/ Exato de Fisher.

A análise dos fatores de risco sexuais mostrou que as mulheres com início da vida sexual antes dos 14 anos, apresentaram 55,56% (10/18) de positividade para DNA do HPV. Já as mulheres iniciaram atividade sexual após os 14 anos, a positividade foi de 74,07%. Em relação ao número de parceiros sexuais em toda a vida, houve variação entre um e 500 parceiros. A maior positividade para a infecção pelo HPV ocorreu entre as mulheres que tiveram entre dois ou três parceiros (75%). Porém, para este fator não houve diferença estatística significativa. Quanto ao número de parceiros sexuais no último ano e número de parceiros novo no último ano, não houve diferenças entre os grupos positivo ou negativo para DNA do HPV (Tabela 6).

O perfil epidemiológico quanto aos fatores de risco contraceptivos e reprodutivos estão representados na tabela seguinte. Analisando a variável “uso de preservativo”, não houve diferenças na prevalência da detecção do HPV entre as mulheres que usavam às vezes ou nunca em relação às mulheres que relataram usar regularmente. O mesmo ocorreu em relação ao uso de anticoncepcional, observando-se que 33% das pacientes já fizeram uso deste

na vida. Em relação ao número de gestações, não se notou associação entre esta e à infecção pelo HPV. O número de gestações também não foi associado à infecção por HPV (Tabela 6).

Tabela 6 - Variáveis sexuais para as mulheres soropositivas para o HIV e com o DNA HPV

Variáveis	N	DNA HPV		OR	p-valor*
		n	Freq		
Idade da coitarca					
≤14 anos	18	10	55,56	0,73	0,1197
> 14 anos	54	40	74,07		
Parceiros sexuais na vida					
1 parceiro	6	4	66,67		
2 a 3 parceiros	16	12	75,00	0,67	0,2852
≥ 4 parceiros	52	28	53,85	1,71	
Não lembra	7	6	85,71		
Parceiros sexuais no último ano					
≥2 parceiros	8	4	50	0,5	0,3608
≤1 parceiro	66	44	66,67		
Não lembra	2	2	100		
Parceiros sexuais novos no último ano					
1 ou mais parceiros	17	9	52,94	0,65	0,4518
Nenhum	57	36	63,16		
Não lembra	7	5	71,43		
Uso de camisinha na vida					
Sim	32	23	72	0,7043	0,4896
Não	42	27	64		
Frequência de uso da preservativo					
As vezes/Nunca	45	33	73	0,5151	0,1869
Regularmente	29	17	59		
Gravidez					
0 ou 1 gravidez	14	8	57	0,6563	0,4655
2 ou mais	60	42	70		

Fonte: Protocolo de pesquisa

*Teste do Qui-quadrado/ Teste G.

Foi detectado DNA HPV em 66.67% das pacientes com citologia classificada como inflamatória/atrofia, e 83,33% das citologias alteradas. Dentre as alterações, obteve-se LIE de baixo grau 100%; LIE de alto grau 66,6%. Quanto a microbiota analisada, 76,4% das amostras apresentaram *Lactobacilus*; 100% *Trichomonas*; 78,5% cocos/bacilos; 63,64% *Gardnerella* e 80% *Candida sp.* (Tabela 7).

Tabela 7 - Citopatologia para as mulheres soropositivas para o HIV e com o DNA HPV

Variáveis	N	DNA HPV		OR	p-valor*
		n	Freq		
Citologia					
Normal	66	44	66,67		
(inflamatório/atrofia)					0.3702
Alterada	8	5	83,33		
Citologia descritiva					
Inflamatória	60	39	65		
Atrofia/inflamatória	6	5	83,33		
LIE de baixo grau	3	3	100		0.3467
LIE de alto grau	3	2	66,67		
Microbiologia vaginal					
<i>Lactobacilus</i>	17	13	76,47		
<i>Tricomonas</i>	0	0	0		
<i>Cocos/bacilos</i>	72	49	68,06		
<i>Gardenerella vaginalis</i>	22	14	63,64		0.788
<i>Candida sp.</i>	5	5	80		

Fonte: Protocolo de pesquisa

*Teste do Qui-quadrado/ Teste G.

O uso de medicamentos, dentre as amostras coletadas, das pacientes HIV+ negativas para o HPV, eram em sua maioria a Lamivudina (86,49%), este mesmo medicamento era também em menor percentual dentre as pacientes HIV+ coinfectadas pelo HPV com 48,44%. A mulheres que utilizavam Zidovudina apresentaram a maior prevalência da infecção pelo HPV, com 71,93%. O Ritovanir o mesmo utilizado com 33,33% das pacientes fazendo uso deste medicamento (Tabela 8).

Tabela 8: TARV para as mulheres soropositivas para o HIV e com o DNA HPV

Terapias antiretrovirais	N	Freq %	DNA HPV	
			n	Freq %
Zidovudina (AZT)	57	77,03	41	71,93
Lamivudina (3TC)	64	86,49	31	48,44
Lopinavir (LPV)	24	32,43	15	62,50
Ritonavir (RTV)	6	8,11	2	33,33
Tenofovir (TDF)	9	12,16	5	55,56
Efavirenz(EFV)	25	33,78	16	64
Didanosina (DDL)	0	0	0	0
Estavudina (d4T)	1	1,35	1	100
Abacavir (ABC)	0	0	0	0
Nevirapina (NVP)	1	1,35	1	100

Fonte: Protocolo de pesquisa

As terapias anti-retrovirais combinadas mais presente foram Duovir/Efavirenz com (43,24%) e Duovir/Kaletra (25,67%) dentre todo o universo amostral. A maioria das pacientes com DNA HPV também faziam uso dessas combinações, sendo 22 fazendo uso de Duovir/Efavirenz e 14 Duovir/Kaletra. Dentre as amostras, 9 estavam sem fazer uso de nenhuma TARV(Terapia anti-retroviral), 5 estavam positivas para o DNA HPV, e dentre as negativas para o DNA HPV, 2 amostras eram de pacientes que estavam sem TARV a somente 1 ano (Tabela 9).

Tabela 9: TARVs combinadas para as mulheres soropositivas para o HIV e com o DNA HPV

Terapias antirretrovirais	N	Frequência	DNA HPV	
			N	Freq
AZT DUOVIR RTV	2	2,7	1	50
EFZ 3TC AZT	2	2,7	2	100
AZT TDF ETC RTV	1	1,35	1	100
EFZ TDF 3TC	2	2,7	2	100
DUOVIR EFZ	32	43,24	22	68,75
DUOVIR KALETRA	19	25,67	14	73,68
KALETRA 3TC TDF	4	5,4	1	25
KALETRA BTC D4T	1	1,35	1	100
KALETRA TDF 3TC EFZ	1	1,35	0	0
NVP 3TC TDF	1	1,35	1	100
SEM TARV	9	12,16	5	55,5
Total	74		50	

Fonte: Protocolo de pesquisa

Um total de 80% das amostras que estavam positivas para o HPV foram subtipadas entre os 9 subtipos estudados (6,11, 16, 18, 31, 33, 35, 52 e 58). O subtipo mais prevalente foi o HPV 16 com 18,92%, seguido pelo HPV 58 com 10,81% e HPV 35 com 8,11%. Dentre a amostra 7 (14%) pacientes estava co-infectados com 2 subtipos de HPV, sendo estas: 35 e 58, 6 e 16, 18 e 58, 16 e 35, 16 e 58, 31 e 35, 11 e 31. Dentre os 50 positivos para o DNA de HPV, 40 tiveram seus subtipos identificados, 10 amostras foram indetectáveis para os 9 subtipos estudados. LIEAG estavam presentes nos subtipos HPV 16, e HPV 58, que foram os mais prevalentes. LIEBG estavam presentes nos subtipos 16, 35 e 52. A maior parte das amostras apresentavam citologia inflamatória com 39, dentre as 50 (78%) DNA HPV. (Tabela 10)

Tabela 10: Subtipos de HPV e citologia para as mulheres soropositivas para o HIV e com o DNA HPV

Variáveis	N	Frequência	Citologia			
			Inflamatória	Atrofia	LIEBG	LIEAG
HPV	50	67,57%	39	5	3	2
HPV 6	5	6,76%	5			
HPV 11	2	2,70%	2			
HPV16	14	18,92%	10	1	2	1
HPV 18	3	4,05%	3			
HPV 31	5	6,76%	4	1		
HPV 33	1	1,35%	1			
HPV 35	6	8,11%	3	2	1	
HPV 52	3	4,05%	2		1	
HPV 58	8	10,81%	6	1		1
Total de amostras subtipadas	40	80%				

Fonte: Protocolo de pesquisa

Dos 9 subtipos estudados, somente 2 eram de baixo risco para o câncer do colo uterino (6 e 11), sendo que somente 5 amostras (10%) estavam subtipadas neste grupo, dentre essas 5 pacientes, 2 delas que apresentaram o subtipo 6 ou 11, estavam co-infectadas por subtipos de

alto risco. Oitenta e oito por cento das amostras foram subtipadas com 1 ou mais subtipos de alto risco para o câncer do colo uterino, somando aquelas que estavam infectadas com 1 tipo de alto risco, ou que estavam com ambas os riscos, ou seja, tinham subtipos de alto e baixo risco co-infectadas. (Tabela 11).

Tabela 11: Grupos de DNA HPV de alto e baixo risco nas mulheres HIV positivas

DNA HPV	N	N	Freq%
Não tipadas	10	50	20
Baixo Risco (6, 11)	5	50	10
Alto risco (16, 18, 31, 33, 35, 52, 58)	44	50	88
Ambos	2	50	4

Fonte: Protocolo de pesquisa

Analisando a prevalência da infecção pelo HPV de acordo com as contagens de células CD4+, verificou-se que as pacientes com células entre 401 a 600 cel/mm³ apresentaram maior probabilidade de adquirir a infecção (p=0,0054) (Tabela 12).

Já em relação a contagem de células CD8+ e em relação a razão de CD4/CD8 não apresentaram diferenças entre os grupos (Tabela 13 e 14).

Tabela 12: Frequência do DNA HPV de acordo com a contagem de CD4+ nas mulheres soropositivas para o HIV

Contagem das Células	N	DNA HPV		p-valor*
		n	Freq	
00 a 200	8	5	62,5	0,0054
201 a 400	17	13	76,5	
401 a 600	22	20	90,9	
>601	23	10	43,5	
Total de amostras	70			

Fonte: Protocolo de pesquisa

*Teste do Qui-quadrado/ Teste G.

Tabela 13: Frequência do DNA HPV de acordo com a contagem de CD8+ nas mulheres soropositivas para o HIV

Contagem das Células	N	DNA HPV		p-valor*
		n	Freq	
00 a 200	1	0	0	0,3506
201 a 400	3	2	66,6	
401 a 600	15	12	80,0	
>601	51	35	68,6	
Total de amostras	70			

Fonte: Protocolo de pesquisa

*Teste do Qui-quadrado/ Teste G.

Tabela 14: Frequência do DNA HPV de acordo com a razão CD4/CD8 nas mulheres soropositivas para o HIV

Razão CD4/CD8	N	DNA HPV		OR	p-valor*
		N	Freq		
Até 0,99	58	42	72,4		0,4895
$1 \leq$	12	7	58,3		
Total de amostras	70				

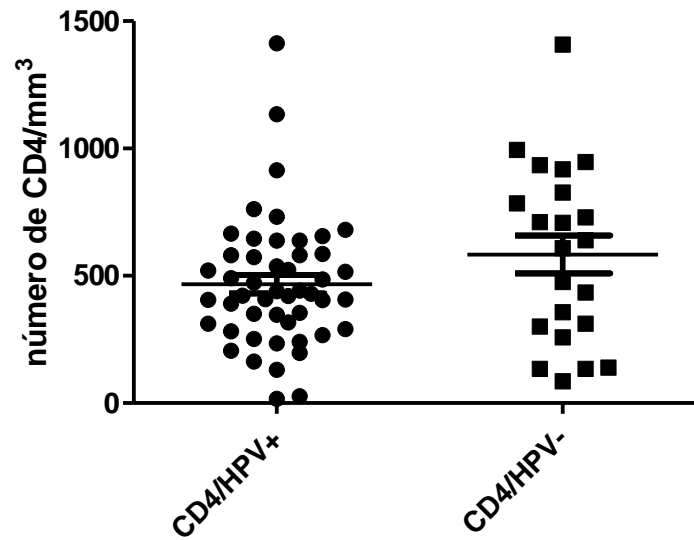
Fonte: Protocolo de pesquisa

*Teste do Qui-quadrado/ Teste G.

Das 6 mulheres que apresentaram contagem de células T CD4+ ou CD8+ abaixo de 200 cel/mm³, 5 estavam sem fazer uso de nenhuma TARV e 1 estava no início do tratamento. Dessas 6 mulheres, 5 estavam com HPV.

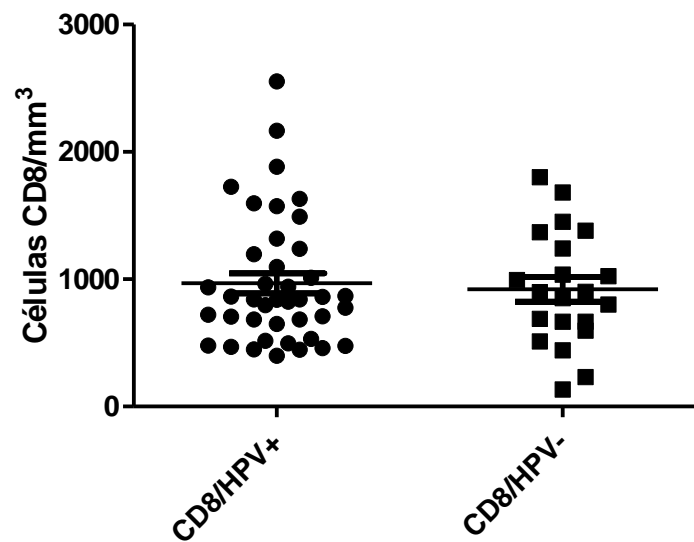
Na contagem de células T CD4 + não houve diferenças significativas entre as amostras positivas para o DNA HPV e as negativas, como se pode observar no gráfico 1 (p=0,1600).

Gráfico 1: Contagem de CD4 em pacientes HPV positivas e negativas atendidas no CTA de Tucuruí.



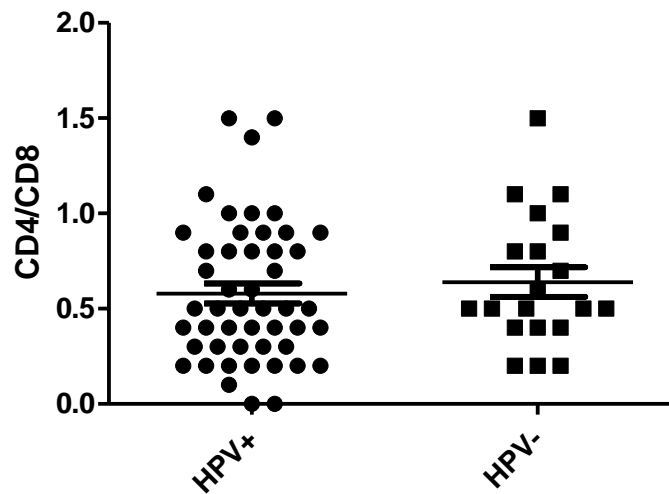
A média da contagem de CD8+ para mulheres HPV positivas foi de 941 cel/mm³ e para mulheres HPV negativas foi de 922 cel/mm³, sendo bem semelhantes ($p=0,7684$) (Gráfico 2).

Gráfico 2: Contagem de CD8+ em pacientes atendidas no CTA de Tucuruí-PA que apresentaram HPV e não apresentaram a infecção.



A comparação entre as razões de CD4+/CD8+ entre mulheres infectadas pelo HPV e não infectadas não demonstrou significância estatística, sendo que as duas populações apresentaram razão média de 0,6 ($p=0,4207$).

Gráfico 3: Razão de CD4/CD8 em pacientes atendidas no CTA de Tucuruí-PA que apresentaram HPV e não apresentaram a infecção.



6 DISCUSSÃO

A infecção genital pelo HPV é a DST mais comum em todo o mundo. Este vírus é considerado o agente etiológico do câncer de colo uterino, porém, apenas uma pequena porcentagem das mulheres infectadas desenvolve este câncer. Isso ocorre por que o HPV não é suficiente, havendo a necessidade da associação de outros fatores de risco, principalmente a persistência da infecção.

Em geral, a infecção pelo HPV é autolimitada, pois é combatida pelo sistema imunológico, sendo eliminada em até 2 anos. Porém, fatores que interfiram na resposta imunológica contra o HPV, podem influenciar em sua persistência, com isso, aumentar as chances do desenvolvimento do câncer. A infecção pelo HIV é um destes fatores que pode modificar o curso desta infecção, mesmo que a mulher não desenvolva AIDS.

O HPV e o HIV compartilham os mesmo fatores de risco para sua aquisição, e com isso a probabilidade da ocorrência de co-infecção é grande. Trabalhos realizados na época pré- TARV mostraram aumento de prevalência de infecção tanto na região cervico-uterina como na anal (SUN et al , 1995; MAIMAN et al., 1997; MASSAD et al., 1999.; DUERR et al., 2001). Entretanto, muitos trabalhos realizados após a introdução de TARV ainda mostram altas prevalências em mulheres ou homens HIV positivos. (FRISCH et al . , 2000; MELLIN et al., 2000; DE VUYST et al., 2008; VELDHUIJZEN et al., 2012; MOSCICKI et al, 2001; MBULAWA et al., 2010; LUCHTERS et al., 2010).

Estudos mostram que, apesar da prevalência da infecção genital pelo HPV aumentar em relação a queda dos níveis de células CD4+ em mulheres HIV, quando se analisa a progressão de lesões de alto grau para câncer, esta não está relacionada com esses níveis de CD4+. Isso indica que a imunossupressão é importante nos eventos iniciais, principalmente para persistência da infecção pelo HPV (GOEDERT et al., 1998, FRISCH et al., 2000).

Outro ponto importante é que muitos estudos mostraram que o uso de TARV não influencia na prevalência da infecção genital pelo HPV, mas sim na regressão de lesões de alto grau (HEARD et al . , 2004; PIKETTY et al, 2004 ; PALEFSKY et al., 2005; WILKIN et al., 2004).

Este trabalho se dedicou a analisar a prevalência da infecção genital pelo HPV em mulheres soropositivas para o HIV no município de Tucuruí-PA e seus fatores de risco associados.

A prevalência da infecção genital pelo HPV nesta população foi de 68%. Outros trabalhos também mostram uma alta prevalência desta infecção em mulheres HIV positivas, como o realizado por Coelho Lima (2009) que encontrou em Vitória a prevalência de 46,8 % na população de mulheres HIV positivas. Melo et al (2003) analisou a infecção pelo HPV em 300 mulheres soropositivas obtendo como resultado a prevalência de 81,7% nesta população. O trabalho de Correa et al (2008) também encontrou o DNA-HPV em 78,8% de suas pacientes soropositivas. Muitos outros estudos ratificam o aumento da prevalência da infecção genital pelo HPV em homens e mulheres, ou casais soropositivos para o HIV no mundo (DE VUYST et al., 2008; VELDHUIJZEN et al., 2012; MOSCICKI et al, 2001; MBULAWA et al., 2010; LUCHTERS et al., 2010).

Ao comparar os resultados obtidos em mulheres HIV- positivas neste trabalho com o estudo realizado por Pinto et al (2011) na mesma cidade, porém em mulheres HIV negativas, verificou-se que a prevalência da infecção genital pelo HPV foi maior em mulheres HIV-positivas. As mulheres HIV negativas apresentaram a prevalência da infecção genital pelo HPV de 14,2%, muito inferior ao encontrado neste estudo que foi de 68%.

Outros estudos compararam população HIV positivas e HIV negativas em relação à infecção genital pelo HPV, também confirmando esta alta prevalência. Estudo de Palefsky et al. (1999) realizado em 6 cidades dos Estados Unidos ratificam a maior prevalência do HPV em mulheres HIV positivas que em mulheres negativas, com 63,4% de prevalência em HIV positivas e 29,8% em HIV negativas. No Brasil, Entiauspe et al. (2010), realizou um estudo no Rio Grande do Sul, no qual a prevalência do DNA HPV em pacientes soropositivas para o HIV foi de 76,4%, enquanto que nas pacientes HIV negativas tiveram prevalência menor, de 60%. Campos et al (2005) também realizaram um estudo comparativo entre pacientes HIVs positivas e negativas (casuística de 79 e 38 pacientes respectivamente), com diferença estatisticamente significativa e com risco de 8,79 vezes mais de se encontrar a infecção por HPV em soropositivas, sendo encontrada a prevalência do HPV de 73,2% em mulheres positivas para o HIV e 23,8% em mulheres HIV-negativas.

Tais achados corroboram com os resultados obtidos neste trabalho, mostrando que há claramente uma maior prevalência da infecção pelo HPV em mulheres portadoras do HIV.

Outros estudos também confirmam que a infecção pelo HPV de alto risco é significativamente mais comum entre as mulheres HIV positivas quando comparados com as mulheres HIV negativas (SUN et al., 1995, VERMUND et al., 1991, SUN., 1997).

Neste estudo foram analisados a associação de vários fatores de risco para a aquisição da infecção, como socio-demográficos, comportamentais e sexuais. A análise desses fatores demonstrou poucas diferenças entre pacientes HPV positivas e negativas nesta população HIV-positiva. Esse resultado pode decorrer do fato de que as duas infecções, por HPV e por HIV, partilham os mesmos fatores de risco.

Entretanto vale ressaltar alguns pontos desta análise. Das mulheres solteiras, separadas ou viúvas, 85% eram HPV positivas, enquanto das mulheres casadas ou em união estável, 60% eram HPV positivas, com isso as mulheres solteiras, separadas ou viúvas apresentaram um risco de 3,14 vezes maior de contrair o HPV em relação às mulheres casadas ou união estável, sendo estatisticamente significativa ($p=0,021$). Este dado corrobora com o encontrado por Pinto et al (2011) na mesma região, porém para mulheres HIV-negativas, onde a prevalência da infecção pelo HPV em mulheres solteiras, separadas e viúvas foi 4,3 maior do que a encontrada em mulheres casadas (PINTO; FUZII; QUARESMA, 2011).

Trabalhos mostram que o início precoce da vida sexual e o número de parceiro influenciam na aquisição da infecção pelo HPV (STEBEN e FRANCO, 2007). Segundo Trottier e Franco (2006), observa-se uma prevalência do HPV entre as mulheres que possuíram mais de um parceiro na vida e que iniciaram sua vida sexual muito jovem (menores de 15 anos). Segundo Galvão (2004), a idade precoce da primeira relação sexual (coitarca) e a multiplicidade de parceiros como fatores de risco para o aparecimento de câncer ginecológico nas mulheres. A elevação do número de parceiros confere uma situação de risco para a aquisição de DST, bem como desenvolve a possibilidade de reinfecção pelo HIV. Entretanto, neste estudo, não houve associação com estes fatores de risco.

Em relação ao uso de preservativo e anticoncepcional, este estudo não apresentou associação entre estas duas variáveis e a infecção pelo HPV. Os mesmos resultados foram encontrados por Pinto et al (2011) na mesma cidade. Entretanto, Bezerra et al (2005) descreveram que o uso de preservativo ainda um método viável para evitar a infecção pelo

HPV e que mulheres que apresentavam carcinoma in situ faziam uso de contraceptivos orais e que o risco para câncer de colo uterino aumentou em quatro vezes.

Corrêa et al. (2011) pesquisou em mulheres HIV positivas os fatores de risco para a infecção pelo HPV em Minas Gerais e encontrou o uso do preservativo de forma consistente com o alto percentual de 60,81%, porém quando analisou os dados quanto a constância do uso, encontrou que dessas mulheres somente 42,7% usavam preservativo em todas as suas relações. É importante ressaltar que o uso de preservativo na vida, pode significar o contato com o mesmo em pelo menos uma relação, ou seja, a relevância maior é na consistência do uso do mesmo, e no caso como se trata de mulheres HIV positivas, o uso do preservativo pós diagnóstico do imunocomprometimento pelo HIV é obrigatório para a vida sexual das mesmas.

A prevalência do HPV genital em mulheres HIV-positivas, como descrito anteriormente, não sofre influência da introdução da TARV, porém, a progressão da infecção genital assintomática para lesões de alto grau ou câncer pode ser modificada pela terapia. Com isso, analisou-se os resultados de citologia destas mulheres.

Neste estudo obteve-se 89,19% de citologias normal/inflamatório, 4,05% de LIE de baixo grau e 4,05% de LIE de alto grau nas pacientes avaliadas. A prevalência da infecção pelo HPV nas amostras com citologia normal/inflamatória foi de 66,67%, já para citologia alterada foi de 83,33%. Em contrapartida, 100% das amostras com LIE de baixo grau foram positivas e 66,7% das amostras com HSIL foram positivas para HPV. Alguns trabalhos sugerem a interferência da infecção pelo HIV na relação entre o HPV e o hospedeiro, principalmente levando ao desenvolvimento de lesões intraepiteliais, através do aumento da persistência do HPV (THOMISON et al., 2008; LEHTORVIRTA et al., 2008, LUQUE et al., 2006; MUÑOZ et al., 2006).

Em outro estudo também realizado no município de Tucuruí, porém com a população em geral, os achados citológicos foram discordantes, pois este encontrou prevalência de 13% de HPV em pacientes com citologia normal/inflamatória e de 50% para as amostras com LIE de baixo grau (PINTO, 2011).

As divergências entre os resultados pode estar associado ao uso da medicação anti-retroviral, especialmente a de alta potência, que é responsável por impedir a progressão das neoplasias cervicais (MONINI et al., 2004). Neste estudo somente 12% das amostras não

faziam uso de nenhuma terapia, sendo que algumas estavam sem o uso a pouco tempo, cerca de 1 ano ou 6 meses, e dentre estas, 42% estavam com alteração citológica de baixo grau ou alto grau. Um estudo envolvendo 485 pacientes soropositivas para o HIV verificou que a TARV reduziu o risco de neoplasia por restaurar a imunidade. Neste estudo, 80,5% das pacientes faziam uso desta medicação (PIKETTY; KAZATCHKINE, 2005).

Quanto à microbiologia, neste estudo as mulheres apresentaram 97,2% de cocos/bacilos das pacientes 22,97% de lactobacilos, 29,73% de *Gardnerella vaginalis* e 6,76% de *Candida sp*, resultados semelhantes aos do estudo de Melo et al. (2003), com a presença de Cândia, Gardnerella e Trichomonas, excetuando-se o último patógeno, que não esteve presente em nas pacientes deste estudo. Outros agentes microbiológicos que fazem parte da flora vaginal, porém não caracterizam infecções e assim, não necessitam de tratamento foram relatados por Freitas (2010), com a presença de cocos, bacilos e lactobacilos na maior parte das pacientes, corroborando os achados deste estudo.

A implementação da terapia antirretroviral não tem a finalidade de eliminar a infecção pelo HIV, porém é capaz de reduzir sua morbidade e mortalidade, proporcionando aos pacientes melhora na qualidade e expectativa de vida (BRASIL, 2013).

Os pacientes que, após o início da TARV, têm reconstituição imunológica, com $CD4+ > 500 \text{ c\acute{e}l/mm}^3$ e mantêm carga viral indetectável, podem ter perspectiva de vida semelhante à população em geral. Ressalta-se que quanto mais precoce o início da medicação, maiores as chances da reconstituição da imunidade do paciente e conseqüentemente mais elevados são os níveis de $CD4+$ (BRASIL, 2013).

O Ministério da Saúde (2013) preconiza como terapia inicial uma combinação de três antirretrovirais, sendo dois inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleosídeos e nucleotídeos (ITRN/ITRNt); inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos (ITRNN); e inibidores de protease reforçados com Ritonavir (IP/r), sendo este o mesmo esquema utilizado pelas pacientes do CTA de Tucuruí. Exceto as alternativas prevista nas diretrizes de manejo clínico, o esquema terapêutico mais utilizado é a associação da Zidovudina ou Lopinavir, Lamivudina e Efavirenz ou Nevirapina, selecionados de acordo com as características individuais de cada paciente.

Os linfócitos $CD4+$ são as células-alvo do HIV e seu número diminui com a evolução da doença.

A resposta imunológica tem grande importância nas taxas de cura, recorrência e progressão das LIE. Mulheres em TARV com CD4+ alto tiveram, em alguns estudos, uma tendência à regressão que não era observada anteriormente à terapia (GOEDERT et al., 1998, FRISCH et al., 2000). Portadoras do HIV com CD4+ < 200 cel /mm³ apresentaram um aumento de 12,5% na progressão e persistência das lesões. Em um estudo realizado no sul do país por Kreitchmann (2008), o HPV foi 1,9 vezes maior para as que tinham CD4+ inferior a 200 cél/mm³ quando comparadas às pacientes com CD4+ >500 cél/mm³. Entretanto neste estudo, mulheres que apresentaram contagem de CD4+ entre 400 e 600 cél/mm³ apresentaram maior risco de infecção pelo HPV.

A infecção pelo HIV promove um defeito local na imunorregulação caracterizado por um progressivo declínio da contagem de células CD4⁺ e inversão da relação CD4⁺/CD8⁺, com "aumento" relativo das células CD8⁺ (MIZIARA et al., 2005). Neste trabalho a razão média para as pacientes HIV positivas que estavam com DNA HPV foi de 0,6, e para aquelas que estavam negativas para HPV também foi de 0,6. Porém, analisando as mulheres infectadas e não infectadas pelo HPV, dividindo em 2 grupos de acordo com a razão CD4/CD8, verificou que não houve diferenças entre as mulheres com razão inferior a 1 ou maior ou igual a 1 em relação a aquisição da infecção pelo HPV.

É possível que a alta frequência de pacientes em uso de terapia anti-retroviral, esteja associada a estes resultados, já que as pacientes que estavam sem fazer uso da terapia estavam em sua maioria infectadas. A resposta imunológica é reforçada pelo uso dos medicamentos, já que a terapia antirretroviral aumenta os níveis de linfócitos T CD4+ e impedindo a progressão das neoplasias cervicais (BRASIL, 2013).

Neste estudo verificou-se que o subtipo mais prevalente foi o HPV 16 (18,92%), seguido por HPV 58 (10,81%) e por HPV 35 e 6 (6,76%). Na análise combinada de Clifford et al 2005, o HPV 16 foi de longe o subtipo de HPV oncogênico mais prevalente em todo o mundo. Outra análise combinada, envolvendo América do Norte, África, Ásia, Europa e América do Sul e Central, os tipos de HPV de alto risco mais comuns foram 16 (4,5%), 58 (3,6%), 18 (3,1%), 52 (2,8%), 31 (2,0%) e 33 (2,0%) (CLIFFORD et al, 2006). Sahasrabuddhe et al, 2007, encontrou 90,3% das amostras positivas para o HPV em mulheres HIV + na Zâmbia entre eles os subtipos de alto risco oncogênico.

Na meta-análise de Lissouba, Perre e Auvert (2013) o HPV está associado ao HIV, e essa associação foi significativa em subtipos de HPV de alto risco e limítrofe em subtipos de baixo risco. Neste trabalho, das amostras subtipadas, 88% das amostras foram subtipos de alto risco de HPV.

O estudo encontrou também a co-infecção de subtipos em 14% das amostras DNA HPV, assim como nos estudos de Moscicki et al, 2004; Bollen et al, 2006, Didelot, Rousseau et al, 2006; Hawes et al, 2006; Luque et al., 2006 em que de 12 a 79 % dos participantes desses estudos estavam contaminados com múltiplos subtipos de HPV. O estudo de Moscicki et al, 2004 refere que a infecção por múltiplos subtipos de HPV pode ser resultado de uma regulação positiva induzida pelo HIV à persistência do HPV.

Este estudo mostrou a alta prevalência da infecção genital pelo HPV em mulheres HIV positivas, o que é visto na literatura. Estas duas infecções HPV e HIV apresentam os mesmos fatores de risco, o que pode minimizar as diferenças entre as populações. Apesar disso, foram encontradas diferenças significativas quanto ao estado civil, sendo as solteiras/separadas/viúvas mais susceptíveis a infecção pelo HPV, além das mulheres com contagem de células CD4+ entre 400 a 600 células/mm³. Com tudo, como discutido anteriormente, o HIV não interfere na aquisição do HPV e sim na progressão da infecção e, conseqüentemente, na evolução das lesões intraepiteliais do colo uterino. Porém, isso estaria mais relacionado a persistência da infecção pelo HPV e sua integração no DNA do hospedeiro. As mulheres estudadas faziam, em sua maior parte uso de TARV, porém verificou-se que a razão de CD4/CD8 ainda está inferior a 1. Com isso, há risco de maior persistência da infecção e possível integração do HPV. O acompanhamento destas pacientes e traçar estratégias para o melhor rastreio do câncer de colo uterino, aumentando a possibilidade de diagnosticar lesões precursoras e melhor as chances de cura e sobrevida da paciente.

7 CONCLUSÕES

- A prevalência da infecção genital pelo HPV em citologia normal/inflamatório foi de 66,67% e em citologia alterada foi de 83,33%
- O subtipo mais prevalente foi o HPV 16, e a maior parte das amostras subtipadas foram detectáveis para subtipos de alto risco oncogênico.
- A prevalência da infecção genital em mulheres HIV positiva no município de Tucuruí foi de 68%.
- O fator de risco associado a infecção pelo HPV para esta população foi o fato de estar solteira/separada/viúva e contagem de CD4+ entre 400 e 600 células/mm³.
- As mulheres estudadas são em sua maioria casadas ou em situação estável (63,5%), com baixo nível escolar (50% sendo analfabetas ou com o fundamental incompleto).
- A maioria das mulheres utilizou anticoncepcional na vida (60,81%), e também utilizou preservativo (94,59%), porém o uso de preservativo foi irregular.
- A coitarca desta população ocorreu principalmente após 14 anos, e a maioria das mulheres tiveram mais de 2 parceiros na vida.

8 REFERÊNCIAS

- AGGARWAL, B.B. et al. Inflammation and cancer: how hot is the link? **Biochemical pharmacology**, v. 72, n. 11, p. 1605-1621, 2006.
- ANGULO M, CARVAJAL-RODRIGUEZ A. Evidence of recombination within human alpha-papillomavirus. **Virology**. 4:33,2007
- AZEVEDO, V.N.G.; DIAS Junior, L.B.; DEMACHKI, S.; LIMA, F.A.S. Frequência das neoplasias intra-epiteliais cervicais em mulheres portadoras do vírus imunodeficiência humana adquirida. **Rev Para Med**. v. 20 n. 2 p.35-9, 2006. Disponível em: http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010159072006000200007 &lng=es Acesso em: 29 set 2012.
- BACCAGLINI, L. et al. Management of oral lesions in HIV-positive patients. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**. v. 103, p. S50.e1-S50. e23, 2007. Disponível em: <http://www.journals.elsevierhealth.com/periodicals/ymoe/article/S1079-2104%2806%2900861-4/abstract>. Acesso em: 10 janei 2014.
- BAUER H. M., Ting Y, Greer C.E., Chambers J. C. Tashiro C. J., Chimera J., Reingold A., Manos M.M. Genital human papillomavirus infection in female university students as determined by PCR-based method. **JAMA**. 265:472-7, 1991.
- BERNARD, H. U., R. D. BURK, Z. CHEN, K. van Doorslaer, H. Hausen e E. M. de Villiers. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 HPV types and proposal of taxonomic amendments. **Virology**. 401(1): 70-79, 2010.
- BEZERRA, S.J.S. et al. Perfil de mulheres portadoras de lesões cervicais por HPV quanto aos fatores de risco para câncer de colo uterino. DST – **J bras Doenças Sex Transm**. V. 17 n.2 p. 143-148, 2005. Disponível em: <http://www.dst.uff.br//revista17-2-2005/10-perfil%20de%20mulheres.pdf> Acesso em:20 mar 2013.
- BOLLEN, L. J. M. et al. Human papillomavirus (HPV) detection among human immunodeficiency virus-infected pregnant thai women: implications for future HPV immunization. **Sex Transm Dis**, [S.1], v. 33, n. 4, p. 259-64, abr. 2006.
- BOSCH FX, de SANJOSE S. Human papillomavirus and cervical cancer – burden and assessment of causality. **J Natl Cancer Inst Monogr** 55:244-65, 2003.
- BOULET G, HORVATH C, VANDEN BROECK D, SAHEBALI S, BOGERS J. Biol. Human papillomavirus: E6 and E7 oncogenes. **Int J Biochem Cell**. 39(11):2006-11. 2007.
- BRASIL, Ministério de Saúde. **Manual de Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis**. Manual Técnico Profissionais de Saúde. Brasília, 2006.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Brasília: MS 2013. Disponível

em:<http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2013/52934/_p_vers_atil de_o_preliminar_do_protocolo_cl_iacute_26118.pdf>. Acesso em: 20 ago 2013.

BRAVO, I.M.et al. Prevalence of oral lesions in HIV patients related to CD4 cell count and viral load in a Venezuelan population. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, v. 11, n. 1, p. 33-9, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf>;. Acesso em: 29 set 2012.

BRITO, D. M. S. de; GALVAO, M. T. G.; PEREIRA, M. L. D. Markers of vulnerability for cervical cancer in HIV-infected women. **Rev. Latino-Am. Enfermagem**, Ribeirão Preto, v. 19, n. 3, June 2011. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010411692011000300008&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 19 Set. 2013.

BRITO, D.M.S.; GALVÃO, M.T.G. Fatores de risco para câncer de colo uterino em mulheres com HIV. **Rev Renev**.11 n.1p.191-9, jan/mar 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/>;. Acesso em: 29 set 2012.

BRITO, N.M.B. et al. Fatores de risco em mulheres jovens portadoras de lesões pré-neoplásicas de colo uterino atendidas em Hospital de Referência.**Rev. Par de Medicina**. V. 22, n. 4, out.-dez. 2008. Disponível em: <http://files.bvs.br/upload/S/0101-5907/2008/v22n4/a2238.pdf> . Acesso em: 28 set. 2012.

BRITO, E.B., SILVA, I.D., STÁVALE, J.N., TAROMARU, E., MENEZESS, R.C., MARTINS, S.J. Amerindian women of the Brazilian Amazon and STD. **Eur J Gynaecol Oncol**, 27(3):279-81, 2006.

CALORE, E.E. Nadal, SR ; Manzione, CR ; Cavaliere, MJ ; de Almeida, LV; Villa, L.L. Expression of Ki-67 can assist in predicting recurrences of low-grade anal intraepithelial neoplasia in AIDS. **Diseases of the colon & rectum** [0012-3706]. 44 :4 534 -537. 2001.

CAMPOS, R. R. et al. Prevalência do papilomavírus humano e seus genótipos em mulheres portadoras e não portadoras do vírus da imunodeficiência humana. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, v. 27, n. 5, p. 248-256, jan./maio 2005.

CONLEY, L.J., ELLERBROCK, T.V., BUSH, T.J., CHIASSON, M.A., SAWO, D., WRIGHT, T.C. HIV-1 infection and risk of vulvovaginal and perianal condylomata acuminata and intraepithelial neoplasia: a prospective cohort study. **Lancet** 359:108-13, 2002.

CONTI, M., AGAROSSO, A., PARAZZINI, F., MUGGIASCA, M.L., BOSCHINI, A., NEGRI, E., et al. HPV, HIV infection, and risk of cervical intraepithelial neoplasia in former intravenous drug abusers. **Gynecol Oncol** 49:344-8, 1993.

CARDILLO, M.; HAGAN, R.; ABADI, J.; ABADI, M. A. CD4 T-cell count, viral load, and squamous intraepithelial lesions in women infected with the human immunodeficiency virus. **Cancer**, New York, v.93, n.2, p.111-114, 2001.

CARTER, J. R., DING, Z. and ROSE, B. R. HPV infection and cervical disease: A review. **Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology**, 51: 103–108. 2011.

CASTELLSAGUE X, Bosch F. X., MUNOZ N.. Environmental co-factors in HPV carcinogenesis. **Virus Res**. 89:191-199, 2002.

CASTELLSAGUE, X.; MUNOZ, N. Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis---role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking. **J Natl Cancer Inst Monogr**, v. 31, p.20—8.,2003. Disponível em: <http://intl-jncimonographs.oxfordjournals.org/content/2003/31/20.ful>. Acesso em: 28 set. 2012.

CASTELLSAGUÉ,X.; BOSCH, F. X. Vacunas frente al vírus del papiloma humano. **Pediatr. aten. prim**; v. 9(supl. 3): s21-s42, out. 2007. Disponível em: <http://bvsalud.org/portal/resource/pt/ibc-64260>;.Acesso em: 28 set.. 2012

CASTRO, T. M. P. P. G. et al. Detecção de HPV na mucosa oral e genital pela técnica PCR em mulheres com diagnóstico histopatológico para HPV genital. **Rev Bras Otorrinolaringol**, v. 75, n. 2, p. 167-71, 2009. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S003472992009000200002&script=sci_abstract∓tlng=pt; Acesso em: 20 ago 2013.

CERQUEIRA, D.M. et al. Caracterização molecular do Papilomavírus Humano em mulheres infectadas com o vírus da imunodeficiência humana do tipo 1 no Distrito Federal e Entorno. **Com Ciências Saúde**, v.18, p.267-78, 2007. Disponível em <http://www.scielo.br> > Acesso em: 20 ago 2013.

CERQUEIRA, D.M. Prevalência, Frequência de Genótipos e de Variantes de Papilomavírus Humanos em Mulheres Co-infectadas com o Vírus da Imunodeficiência Humana Tipo 1 no Distrito Federal e Entorno. **Repositório Institucional: Universidade de Brasília**; 2007.Disponível em : http://bdtd.bce.unb.br/tesesimplificado/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=2750> Acesso em: 20 ago 2013.

CHARUA-GUINDIC L., ESQUIVEL-OCAMPO E., VILLANUEVA-HERRERO J., JIMENEZ-BOBADILLA B., MUNOZ-CORTES S., LEAL-TAMEZ M., et al. Anal intraepithelial neoplasia (NIA) and infection with human papillomavirus (HPV) in anoreceptive patients. **Rev Gastroenterol Mex** 74: 195–201, 2009.

CHATURVEDI,A. K. Engels, E. A. PFEIFFER, R. M.. HERNANDEZ, B. Y et al, Human Papillomavirus and Rising Oropharyngeal Cancer Incidence in the United States. **J Clin Oncol**. November 10; 29(32): 4294–4301, 2011.

CHEN, Z., DESALLE, R. SCHIFFMAN, M. HERRERO, R., BURK. R. D. Evolutionary Dynamics of Variant Genomes of Human Papillomavirus Types 18, 45, and 97. **J Virol**. February; 83(3): 1443–1455, 2009.

CLARK LR, Myers E.R., HUH W, et al. Clinical trial experience with prophylactic human papillomavirus 6/11/16/18 vaccine in young black women. **J Adolesc Health** 52:322-9, 2013.

CLIFFORD G.M., GALLUS S., HERRERO R., MUÑOZ N, SNIJDERS P.J.F., VACCARELLA S, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis **Lancet**. 366(9490):991-8, 2005.

COBUCCI, R.N.; SACONATO, H.; LIMA, P.H.; RODRIGUES, H.M.; PRUDENCIO, T.L.; JUNIOR, J.E.; GIRALDO, P.C.; GONCALVES, A.K. Comparative incidence of cancer in HIV-AIDS patients and transplant recipients. **Cancer Epidemiol**. 2012

COELHO LIMA, B.M. ; GOLUB, J.E. ; TONANI MATTOS, A. ; BUENO De FREITAS, L.; CRUZ SPANO, L. ; ESPINOSA MIRANDA, A. Human papillomavirus in women with and without HIV-1 infection attending an STI clinic in Vitoria, Brazil. **Journal of the International Association of Physicians in AIDS Care**, September Vol.8(5), pp.286-290. 2009.

COELHO, R.A.et al. Relação entre diagnóstico citopatológico de neoplasia intraepitelial cervical e índices de células CD4+ e de carga viral em pacientes HIV-soropositivas.RevBras.Ginecol. **Obstet.** 2004;v.26, n.2 p. 97-102. Disponível em: <www.scielo.com.br>. Acesso em: 29 set. 2012.

CORRÊA, C. M. Prevalência e multiplicidade do papilomavírus humano (HPV) na cérvix uterina de mulheres infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) Prevalence and multiplicity of human papillomavirus in cervix uterine of women infected with human immunodeficiency virus (HIV). **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, 2008, Vol.30(2), p.101

CORRÊA, CM; TEIXEIRA, NCP; ARAUJO, ANL de; CARVALHO, NO et al. Prevalence and multiplicity of HPV in HIV women in Minas Gerais, Brazil. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v.57, n. 4, p.425-430, 2011.

CRITCHLOW, C W ; HAWES, S E ; KUYPERS, J M ; GOLDBAUM, G M; HOLMES, K K; SURAWICZ, C M ; KIVIAT, N B. Effect of HIV infection on the natural history of anal human papillomavirus infection. **AIDS** (London, England), Vol.12(10), pp.1177-84. 1998.

CROW, J. HPV: The global burden. **Nature** [0028-0836] vol:488 iss:7413 pg:S2, 2012.

CRUZ, F.J.; MELO, V.H. Fatores associados à persistência da infecção pelo HPV na cérvix uterina. **Rev. Femina**, v.38, n. 8, ago. 2010. Disponível em: <http://files.bvs.br/upload/S/0100-7254/2010/v38n8/a1586.pdf> . Acesso em: 29 set. 2012.

D'SOUZA et al, 2011. The role of HPV in head and neck cancer and review of the HPV vaccine. **Prev Med.** Oct;53 Suppl 1:S5-S11, 2011.

DARTELL M, RASCH V., KAHESA C., et al. Human papillomavirus prevalence and type distribution in 3603 HIV-positive and HIV-negative women in the general population of Tanzania: the Protect study. **Sexually Transmitted Diseases** 39(3): 201-08, 2012.

De FREITAS et al. Susceptibility to cervical cancer: an overview. **Gynecol Oncol.** Aug;126(2):304-11, 2012.

DE LIMA SOARES, V. et al. Sexually transmitted infections in a female population in rural north-east Brazil: prevalence, morbidity and risk factors. **Trop Med Int Health**, [S.1], v. 8, n. 7, p. 595-603, jul. 2003.

de VILLIERS E. M., Faluquet C., Broker T.R., Bernard H. U., Zur Hansen H., Classification of papillomaviruses. **Virology**, 324:17-27, 2004.

De VUYST H, LILLO F, BROUET N, et al. HIV, human papillomavirus, and cervical neoplasia and cancer in the era of highly active antiretroviral therapy. **Eur J Cancer Prev**; 17:545–554, 2008.

DIDELOT-ROUSSEAU M.N., NAGOT N, COSTES-MARTINEAU V, VALLÈS X, OUEDRAOGO A, KONATE I, WEISS HA, VAN DE PERRE P, MAYAUD P, SEGONDY M; YERELON STUDY GROUP. Human papillomavirus genotype distribution and cervical squamous intraepithelial lesions among high-risk women with and without HIV-1 infection in Burkina Faso. **Br J Cancer**. Aug 7;95(3):355-62. 2006.

DiSTEFANO A.S., HUI B, BARRERA N.G. A., QUITUGUA L.F., PETERS R, DIMACULANGAN J., VUNILEVA I., TUFONE V, TAKAHASHI L.M., TANJASIRI S.P. Contextualization of HIV and HPV risk and prevention among Pacific Islander young adults in Southern California. **Soc Sci Med**. Aug;75(4):699-708. 2012.

DOORBAR, J. The papillomavirus life cycle. **J. Clin Virol**. 32 Suppl 1:S7-15, 2005.

DUERR, A.; KIEKE, B.; WARREN, D.; SHAH, K.; BURK, R.; PEIPERT, J. F. ; SCHUMAN, P.; KLEIN, R. S. Human papillomavirus-associated cervical cytologic abnormalities among women with or at risk of infection with human immunodeficiency virus. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Vol.184(4), pp.584-590, 2001.

DUNNE, E. F.; MARKOWITZ, L. E. Genital human papillomavirus infection. *Clinical infectious diseases*, v. 43, n. 5, p. 624-629, 2006. Disponível em: <http://cid.oxfordjournals.org/content/43/5/624.long>. Acesso em: 29 out. 2012.

EGAWA, K. Do human papillomaviruses target epidermal stem cells? **Dermatology**. 207(3):251-4, 2003.

ENTIAUSPE, L.G. et al. Papilomavírus humano: prevalência e genótipos encontrados em mulheres HIV positivas e negativas, em um centro de referência no extremo Sul do Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 43, n. 3, p. 260-263, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo>>. Acesso em: 20 Set. 2013.

FERNANDES, A. P. M. et al. Influência do HPV-16 sobre a produção intralésional de IL-10 em mulheres imunogeneticamente responsivas e portadoras do HIV-1. **DST - Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v. 16, n. 3, p. 67-72, 2004

FONSECA-MOUTINHO JA. Vulvar intraepithelial neoplasia: a current problem. **Rev Bras Ginecol Obstet**. Aug;30(8):420-6, 2008.

FRANCO E.L., DE SANJOSÉ S., BROKER T.R., STANLEY M.A., CHEVARIE-DAVIS M., ISIDEAN SD, SCHIFFMAN M. Human papillomavirus and cancer prevention: gaps in knowledge and prospects for research, policy, and advocacy. *Vaccine*. 2012 Nov 20;30 Suppl 5:F175-82. doi: 10.1016/j.Vaccine. 06.092, 2012.

FRANCO, E., VILLA, L., ROHAN, T., FERENCZY, A., PETZL-ERLER, M. & MATLASHEWSKI, G. Design and methods of the Ludwig-McGill longitudinal study of the natural history of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in Brazil. Ludwig-McGill study group. **Rev Panam Salud Publ** 6, 223_233, 1999.

FREITAS, J.G.; GALVÃO, M.T.G.; COSTA, E. Mulheres com HIV: características individuais e da prevenção de câncer cervical. 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo>; Acesso em: 20 Set. 2013.

FRISCH M., BIGGAR R.J., GOEDERT J. J. Human papillomavirus-associated cancers in patients with human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome. **J Natl Cancer Inst.** 92:1500-10, 2000.

FRISCH, L.E.; PARMAR, H.; BUCKLEY, L.D.; CHALEM, S. A. Colposcopy of patients with cytologic inflammatory epithelial changes. **Acta Cytol.** Mar-Apr;34(2):133-5, 1990.

GALVÃO, T.M. Prevalência do papilomavirus humano (HPV) na cavidade oral e na orofaringe. Tese (mestrado). São Paulo: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo; 2004.

GARCÍA-ESPINOSA, B.; NIETO-BONA, M.P.; RUEDA, S.; SILVA-SÁNCHEZ L.F.; PIERNAS-MORALES M.C.; CARRO-CAMPOS, P.; CORTÉS-LAMBEA, L.; MORO-RODRÍGUEZ, E. Genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with cervical lesions in Bioko, Equatorial Guinea. **Diagn Pathol.** Sep 9;4:31. doi: 10.1186/1746-1596-4-31, 2009.

GARLAND, S.M., HERNANDEZ-AVILA, M., WHEELER, C.M., PEREZ, G., HARPER D.M., LEODOLTER, S., TANG, G.W., FERRIS, D.G., STEBEN, M., BRYAN, J., TADDEO, F.J.; RAILKAR, R., ESSER, M.T., SINGS, H.L., NELSON, M., BOSLEGO, J., SATTLER, C., BARR, E., KOUTSKY, L.A. Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent anogenital diseases. **N Engl J Med.** May 10;356(19):1928-43, 2007.

GARUTI G, BOSELLI F, GENAZZANI AR, SILVESTRI S, RATTI G. Detection and typing of human papillomavirus in histologic specimens by in situ hybridization with biotinylated DNA probes. **Am J Clin Pathol.** Nov; 92(5):604-12, 1989.

GHAZAL-ASWAD, S. et al. Cervical smear abnormalities in the United Arab Emirates: a pilot study in the Arabian Gulf. **Acta Cytol**, [S.1], v. 50, n. 1, p. 41-7, jan.-fev. 2006.

GOEDERT, J.J.; COTÉ, T.R.; VIRGO, P.; SCOPPA, S.M.; KINGMA, D.W.; GAIL, M.H.; JAFFE, E.S.; BIGGAR, R. J. Spectrum of AIDS-associated malignant disorders. **Lancet.** Jun 20;351(9119):1833-9, 1998.

GUIMARÃES M.V.M.B., et al. Resposta imune ao HPV e as neoplasias intra-epiteliais cervicais em mulheres infectadas e não infectadas pelo HIV: perfil de citocinas. **Rev Femina.** V. 39, n. 5, p. 275-280. Disponível em: http://www.febrasgo.org.br/arquivos/femina/Femina2011/maio/Feminav39n5_275-280.pdf. Acesso em: 14 fev. 2014.

GUIMARÃES, M.C.D. Estudo temporal das doenças associadas a AIDS no Brasil, 1980-1999. Caderno de Saúde Pública, v.16, supl.1, 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo>. Acesso em: 12 dez 2013.

HAWES, S.E., CRITCHLOW, C.W., SOW, P.S., TOURÉ, P., N'DOYE, I., DIOP, A., KUYPERS, J.M., KASSE, A.A., KIVIAT, N.B. Incident high-grade squamous

intraepithelial lesions in Senegalese women with and without human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and HIV-2. **J Natl Cancer Inst.** Jan 18;98(2):100-9, 2006.

HEARD, I., PALEFSKY, J.M., KAZATCHKINE, M.D. The impact of HIV antiviral therapy on human papillomavirus (HPV) infections and HPV-related diseases. **Antivir Ther.** Feb;9(1):13-22, 2004. Review.

HENG, B., GLENN, W.K., YE, Y., TRAN, D., DELPRADO, W., LUTZE-MANN, L., WHITAKER, N.J., LAWSON, J.S. Human papilloma virus is associated with breast cancer. **Br J Cancer.** 101:1345–1350, 2009.

HO, G. Y., BIERMAN, R., BEARDSLEY, L., CHANG, C. J. & BURK, R. D. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. **N Engl J Med** 338, 423-428., 1998.

INCA. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva Estimativa 2012: incidência de câncer no Brasil. (Coordenação de Prevenção e Vigilância). Rio de Janeiro. Inca. 2011. ISBN 978-85-7318-194-4.

INCA, Instituto Nacional do Câncer. Programa Nacional de Controle do Câncer do Colo do Útero e de Mama – Viva Mulher. Prevenção e Detecção. Disponível em: <http://www.inca.org.br>>. Acesso em: 28 set. 2013.

INCA, Instituto Nacional do Câncer. Incidência de Câncer no Brasil. Estimativa 2014. 2014. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/>. Acesso em mar de 2014.

JASTREBOFF, A.M., CYMET, T. Role of the human papilloma virus in the development of cervical intraepithelial neoplasia and malignancy. **Postgrad Med J** 78(918): 225-228. 2002.

JUNG, W. W., CHUN, T., SUL, D., HWANG, K. W., KANG, H. S., LEE, D. J., HAN, I. K. Strategies against human papillomavirus infection and cervical cancer. **J. Microbiol**, 42; 255-266, 2004.

KAASILA, M., KOSKELA, P., KIRNBAUER, R., PUKKALA, E., SURCEL, H.M., LEHTINEN, M. Population dynamics of serologically identified coinfections with human papillomavirus types 11, 16, 18 and 31 in fertile-aged Finnish women. **Int J Cancer** 125:2166-72, 2009.

KAHN, J.A, XU J., KAPOGIANNIS, B.G., RUDY, B., GONIN, R., LIU, N., WILSON, C.M., WORRELL, C., SQUIRES, K.E. Immunogenicity and safety of the human papillomavirus 6, 11, 16, 18 vaccine in HIV-infected young women. **Clin Infect Dis.** Sep;57(5):735-44, 2013.

KOBAYASHI, A., GREENBLATT, R.M., ANASTOS, K., MINKOFF, H., MASSAD, L.S., YOUNG, M., LEVINE, A.M., DARRAGH, T.M., WEINBERG, V., SMITH-MCCUNE, K.K. Functional attributes of mucosal immunity in cervical intraepithelial neoplasia and effects of HIV infection. **Cancer Res.** Sep 15;64(18):6766-74, 2004.

KOBLIN, B.A., TORIAN, L., XU, G., GUILIN, V., MAKKI, H., MACKELLAR, D., VALLEROY, L. Violence and HIV-related risk among young men who have sex with men. **AIDS Care.** Nov;18(8):961-7, 2006.

KOJIC, E. M.; CU-UVIN, S. Update: human papillomavirus infection remains highly prevalent and persistent among HIV-infected individuals. **Curr Opin Oncol**. Sep;19(5):464-9, 2007.

KOJIC, E.M., KANG, M., CESPEDES, M.S., UMBLEJA, T., GODFREY, C., ALLEN, R.T., FIRNHABER, C., GRINSZTEJN, B., PALEFSKY, J.M., WEBSTER-CYRIAQUE, J.Y., SAAH, A., ABERG, J.A., CU-UVIN, S. Immunogenicity and Safety of a Quadrivalent Human Papillomavirus Vaccine in HIV-1-Infected Women. **Clin Infect Dis**. Apr 9, 2014.

KOSS, L.G. Cytologic and histologic manifestations of human papillomavirus infection of the female genital tract and their clinical significance. **Cancer**. Oct 15;60(8 Suppl):1942-50, 1987.

KOUTSKY, L. et al. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. **Am J Med**, [S.1], v. 102, n. 5A. , p. 3-8, maio 1997.

KREITCHMANN, R. Prevalência, Incidência, Progressão e Regressão das Lesões Intra-epiteliais do colo uterino de mulheres portadoras do HIV. Porto Alegre, 2008. Tese de Doutorado- Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências médicas, Porto Alegre, BR-RS, 2008.

LEAVER, D., & LABONTE, G. HPV and cervical cancer. 2010. **Radiation Therapist**, 19(1), 27-45. Risk Factors.

LEHTORVITA, P.;PAAVONEN, J., HEIKINHEISMO, O. Risks factors, diagnosis and prognosis of cervical intraepithelial neoplasia among HIV-infected women, *Int J. STD AIDS*, v.19, p.37-41, 2008.

LEVI G, FELDMAN J, HOLMAN S et al. Relationship between HIV viral load and Langerhans cells of the cervical epithelium. **J Obstet Gynaecol Res**. 31:178-84, 2005.

LEVI, J.E. et al. High prevalence of human papillomavirus (HPV) infections and high frequency of multiple HPV genotypes in human immunodeficiency virus-infected women in Brazil. **Journal of clinical microbiology**, v. 40, n. 9, p. 3341-3345, 2002a. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo>>. Acesso em: 20 ago. 2013.

LEVI, J.E. et al. Human papillomavirus prevalence, viral load and cervical intraepithelial neoplasia in HIV-infected women. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 6, n. 3, p. 129-134, 2002b. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo>>. Acesso em: 20 ago. 2013.

LI, B., DOU, Q.P. Bax degradation by the ubiquitin/proteasome-dependent pathway: involvement in tumor survival and progression. **Proc Natl Acad Sci** 97:3850-5, 2000.

LISSOUBA P, VAN DE PERRE P, AUVERT B. **Sex Transm Infect** 89: 350-356, 2013.

LOPES, F. et al. HIV, HPV, and syphilis prevalence in a women's penitentiary in the city of Sao Paulo, 1997-1998. **Cad Saude Publica**, [S.1], v. 17, n. 6, p. 1473- 80, nov.-dez. 2001.

LUCHTERS SM, VANDEN BROECK D, CHERSICH MF, et al. Association of HIV infection with distribution and viral load of HPV types in Kenya: A survey with 820 female sex workers. **BMC Infect Dis** 10:18, 2010.

LUQUE, AE et al. Prevalence of human papillomavirus genotypes and related abnormalities of cervical cytological results among HIV-1-Infected Women in Rochester, New York. **Journal of Infectious Diseases**, v. 194, n. 1, p. 428-34, 2006.

MADISON, K.C. Barrier function of the skin: “la raison d’etre” of the epidermis. **J Invest Dermatol** 121:231–41, 2003.

MAIMAN M, FRUCHER R, GUY L, ET AL. Cervical cancer as an AIDS-defining illness. **Obstet Gynecol** 89:76-80, 1997.

MANZIONE, C. R., NADAL, S. R., CALORE, E. E. Human papillomavirus oncogenicity and grade of anal intraepithelial neoplasia in HIV positive patients]. **Rev Assoc Med Bras**. Jul-Sep;50(3):282-5. Epub 2004 Oct 21, 2004.

MASSAD, L. S., RIESTER, K. A., ANASTOS, K. M., FRUCHTER, R. G., PALEFSKY, J. M. & LURK, R. D. Prevalence and predictors of squamous cell abnormalities in Papanicolaou smears from women infected with HIV-1. **J Acquir Immune Def Syndr Hum Retrovirol**. 21, 22-41, 1999.

MBULAWA Z.Z., MARAIS D.J., JOHNSON L.F., et al. Influence of human immunodeficiency virus and CD4 count on the prevalence of human papillomavirus in heterosexual couples. **J Gen Virol** 91(Pt 12):3023–3031, 2010.

MELLIN, H., FRIESLAND, S., LEWENSOHN, R., DALIANIS, T., MUNCK-WIKLAND, E. Human papillomavirus (HPV) DNA in tonsillar cancer: clinical correlates, risk of relapse, and survival. **Int J Cancer**. Mai 20;89(3):300-4, 2000.

MELO, V. H.; ARAÚJO, A. C. L.; RIO S. M. P.; CASTRO, L. P. F.; AZEVEDO, A. A.; CASTRO, M. M. Problemas ginecológicos mais frequentes em mulheres soropositivas para o HIV. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 9, p. 661-6, 2003.

MENICONI, M. C. G. DE A. **Avaliação da imunoglobulina A, células TCD4+ e TCD8+ na mucosa vaginal relacionadas à infecção pelo papilomavírus humano e à síndrome da imunodeficiência humana**. 2007. Dissertação (Mestrado em Doenças Infecciosas e Parasitárias) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5134/tde-20092010-183126/>. Acesso em: 26 de abril de 2014.

MIZIARA, I. D.; ARAUJO FILHO, B. C.; WEBER, R. Aids e estomatite aftóide recidivante. **Rev. Bras. Otorrinolaringol.**, São Paulo, v. 71, n. 4, Aug. 2005. Acesso em 05 Março 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-2992005000400020>.

MONINI, P., SGADAI, C., TOSCHI, E., BARILLARI, G., ENSOLI, B. Antitumor effects of antiretroviral therapy. **Nature Rev Cancer**. 4(11): 861-75, 2004.

MOODY, C.A., LAIMINS, L.A. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. **Nat Rev Cancer**. Aug;10(8):550-60, 2010.

MOSCICKI AB, HILLS N, SHIBOSKI S, et al. Risks for incident human papillomavirus infection and low-grade squamous intraepithelial lesion development in young females. **JAMA**; 285:2995–3002, 2001.

MOSCICKI, A.B., SHIBOSKI, S., HILLS, N.K., POWELL, K.J., JAY, N., HANSON, E.N., MILLER, S., CANJURA-CLAYTON, K.L., FARHAT, S., BROERING, J.M., DARRAGH, T.M. Regression of low-grade squamous intra-epithelial lesions in young women. **Lancet**. Nov 6-12; 364(9446):1678-83, 2004.

MOTOYAMA S, LADINES-LLAVE CA, LUIS VILLANUEVA S, MARUO T. The role of human papilloma virus in the molecular biology of cervical carcinogenesis. **Kobe J Med Sci**. Jan;50(1-2):9-19. Review, 2004.

MUNGER K, BASILE JR, DUENSING S, EICHTEN A, GONZALEZ SL, GRACE M, et al. Biological activities and molecular targets of the human papillomavirus E7 oncoprotein. **Oncogene** 20:7888–98, 2001.

MUÑOZ N, CASTELLSAGUÉ X, DE GONZALÉZ AB, GISSMAN L. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. **Vaccine**, v.24, n.S3, p.S3/1-S3/10, 2006.

NAYAR, R.; SOLOMON, D. Second edition; The Bethesda System for reporting cervical cytology; - Atlas, website, and Bethesda interobserver reproducibility project **CytoJournal**, Vol.1(1), p.4, 2004.

NCI BETHESDA SYSTEM. Bethesda system for reporting results of cervico-vaginal cytologic disease. 2001; Disponível em: <http://www.bethesda2001.cancer.gov>. Acessado em 10 de fevereiro de 2014

NONNENMACHER, B. et al. Genital human papillomavirus infection identification by molecular biology among asymptomatic women. **Rev Saúde Pública**, São Paulo, v. 36, n. 1, p. 95-100, fev. 2002.

OGILVIE GS, PATRICK DM, SCHULZER M, et al. Diagnostic accuracy of self collected vaginal specimens for human papillomavirus compared to clinician collected human papillomavirus specimens: a meta-analysis. **Sex Transm Infect**.81:207-212, 2005.

OLIVEIRA, C.M.; LEVI, J.E. HPV de Alto e Baixo Risco para Câncer: Toda Regra Tem sua Exceção. DST - **J bras Doenças Sex Transm**; v.23 n. 4 p. 171-3, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo>. Acesso em: 20 ago. 2013.

OLIVEIRA, L. H. S. et al. Human papillomavirus status and cervical abnormalities in women from public and private health care in Rio de Janeiro state, Brazil. **Rev Inst Med Trop S Paulo**, São Paulo, v. 48, n. 5, p. 279-85, set.-out. 2006.

ORDONEZ C., MARCONI V. Understanding HIV risk behavior from a sociocultural perspective. **J AIDS Clin Res** 3: 108. 2012.

OVERTON, E.T., et al. Safety and tolerability of sequential pegylated chronic hepatitis b in HIV-infected patients (EPIB 2005 study). **AIDS** 21;1323, 2007.

PALEFSKY J. Human papillomavirus related disease in people with HIV. **Curr Opin HIV AIDS**, 4:52-6, 2009.

PALEFSKY J.M., HOLLY E.A., EFIRDC J.T., DA COSTA M., JAY N., BERRY J.M., DARRAGH T.M. Anal intra-epithelial neoplasia in the highly active antiretroviral therapy era among HIV-positive men who have sex with men. **AIDS**.19:1407-14. 2005.

PALEFSKY JM, MINKOFF H, KALISH LA, LEVINE A, SACKS HS, GARCIA P, et al. Cervicovaginal human papillomavirus infection in human immunodeficiency virus-1 (HIV)-positive and high-risk HIVnegative women. **J Natl Cancer Inst** 91:226-236, 1999.

PALEFSKY, J. Biology of HPV in HIV infection. **Advances in dental research**, v. 19, n. 1, p. 99-105, 2006.. Acesso em: 20 ago. 2013.

PALEFSKY, J. Human papillomavirus infection in HIV-infected persons. Topics in HIV medicine: a publication of the International AIDS Society. **USA**. v. 15, n. 4, p. 130, 2007. Disponível em [<http://www.scielo.br/scielo>]. Acesso em: 20 ago. 2013.

PASSOS, M. R. L.; ALMEIDA, G.; GIRALDO, P. C. et al. Papilomavírose humana em Genital. DST. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v. 20, p. 112-128, 2008.

PATEL, A. S., KARAGAS, M. R., PAWLITA, M., WATERBOER, T. AND NELSON, H. H. Cutaneous human papillomavirus infection, the *EVER2* gene and incidence of squamous cell carcinoma: A case-control study. **Int. J. Cancer**, 122: 2377–2379, 2008.

PIKETTY, C. AND KAZATCHKINE M.D. Human papillomavirus-related cervical and anal disease in HIV-infected individuals in the era of highly active antiretroviral therapy. **Curr HIV/AIDS Rep** 2: 140-145, 2005.

PIKETTY, C., DARRAGH, T.M., HEARD, I. et al. High prevalence of anal squamous intraepithelial lesions in HIV-positive men despite the use of highly active antiretroviral therapy. **Sex. Transm. Dis.** 31(2), 96–99. 2004.

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, Mar. 2002 . Acesso em: 20 ago. 2013.

PINTO, D.S.; FUZII, H.T.; QUARESMA, JAS. 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. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102311X2011000400016 &lng=en&nrm=iso">. Acesso em: 30 janeiro 2014.

PIQUÉ, X. C.; JOSÉ, F. X. Vacunas frente al vírus del papiloma humano. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, Barcelona, v. 26, n. 1, p. 65-77, 2008. Disponível em : <http://www.scielo.br/scielo>;. Acesso em: 20 ago. 2013.

PSYRRI, A & DIMAIO, D. Human papillomavirus in cervical and head-and-neck cancer. **Nature Clinical Practice. Oncology**, Vol.5, N°.1, (January 2008), pp.24-31, ISSN 1743-4254 (Print) 1743-4262 (Electronic) 1743-4254. 2008.

RAYCHAUDHURI, S., MANDAL, S. Socio-demographic and behavioural risk factors for cervical cancer and knowledge, attitude and practice in rural and urban areas of North Bengal, **India. Asian Pac J Cancer Prev**, 13, 1093-6. 2012.

RICHARDSON, H.; KELSALL, G.; TELLIER, P.; VOYER, H.; ABRAHAMOWICZ, M.; FERENCZY, A.; et al. The natural history of type-specific human papillomavirus infections in female university students. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**;12(6):485–90, 2003.

ROSA, M.I. et al. Papilomavírus humano e neoplasia cervical. **Cad. Saúde Pública.**;v.25, n.5 p.:953-964.<http://www.scielo.br/scielo>, 2009. Acesso em: 20 ago. 2013.

SAHASRABUDDHE, V. V., MWANAHAMUNTU, M. H., VERMUND, S. H., HUH, W. K., LYON, M. D., STRINGER, J. S. A. & PARHAM, G. P. Prevalence and distribution of HPV genotypes among HIV-infected women in Zambia. *Br J Cancer* 96:1480-1483, 2007.

SANCLEMENTE, G. e GILL, D. K. Human papillomavirus molecular biology and pathogenesis. **J Eur Acad Dermatol Venereol**, v. 16, n.3, May, p. 231-40. 2002

SANTANA, J. J. R. A., ZANIN, C. R. MANIGLIA, J. V. Pacientes com câncer: enfrentamento, rede social e apoio social . **Paidéia**, 18(40), 371-384, 2008. Disponível em www.scielo.br/paideia, Acesso em 21 de abril de 2014.

SCHEIDT, J. H. G. et al. Characteristics of oral squamous cell carcinoma in users or non users of tobacco and alcohol. **Rev. odonto ciênc.** [online]. vol.27, n.1 ISSN 1980-6523, 2006.

SCHIFFMAN M, CASTLE PE, JERONIMO J, RODRIGUEZ AC, WACHOLDER S. Human papillomavirus and cervical cancer. **Lancet.** 370(9590):890-907. DOI:10.1016/S0140-6736(07)61416-0, 2007.

SCHIFFMAN M. Recent progress in defining the epidemiology of human papillomavirus infection and cervical neoplasia. **J. Natl Cancer Inst.**, 84, 394-398, 1992.

SCHNEIDER ET AL., 1991C. SCHNEIDER, S. GUSTINCICH, G. DEL SAL. The complexity of cell proliferation control in mammalian cells. **Curr. Opin. Cell Biol.**, 3, pp. 276–281, 1991.

SONCINI, E.; CONDEMI, V. Intraepithelial cervical carcinoma and HIV. Prevalence, risk factors and prevention strategies. *Minerva Ginecol.* 55(1): 51-5, 2003.

SOPRACORDEVOLE F, CAMPAGNUTTA E, PARIN A, VACCHER E, VOLPE R, SCARABELLI C. Squamous intraepithelial cervical lesions in human immunodeficiency virus-seropositive women.**J Reprod Med.** Aug;41(8):586-90, 1996.

SOUTO, R. S.; FALHARI, J. P. B.; CRUZ, A. D. Papilomavírus Humano: um fator relacionado com a formação de neoplasias. **Rev. Bras. Cancerol.**, v. 51, n. 2, p. 155-160, 2005.

SOUZA,N.S.T.;MELO, V.H.; CASTRO, L.P.F. Diagnóstico da infecção pelo HPV em lesões do colo do útero em mulheres HIV positivas: acuidade da histopatologia. **Rev. Bras Ginecol Obstet.** 23(6): 355-61, 2001.

STEBEN, M.; DUARTE-FRANCO, E. Human papillomavirus infection: epidemiology and pathophysiology. **Gynecologic Oncology**, v. 107, n. 2, p. S2-S5, 2007.

SUN XW, ELLERBROCK TV, LUNGU O, CHIASSON MA, BUSH TJ, WRIGHT TC JR. Human papillomavirus infection in human immunodeficiency virus-seropositive women. **Obstet Gynecol**;85(5 Pt 1):680-6, 1995.

SUN XW, KUHN L, ELLERBROCK TV, CHIASSON MA, BUSH TJ, WRIGHT TC JR. Human papillomavirus infection in women infected with the human immunodeficiency virus. **N Engl J Med**;337:1343-9, 1997.

SWYGART C. Human papillomavirus: disease and laboratory diagnosis. **Br J Biomed Sci**. Dec; 54(4):299-303, 1997.

SYRJÄNEN, K.; SYRJÄNEN, S. Prevalence of genital human papillomavirus infections in a mass-screened Finnish female population aged 20-65 years. **Int J STD AIDS**, [S.1], v. 1, n. 6, p. 410-5, nov. 1990.

THOMISON III, J.; THOMAS, L.K.; SHROYER, K.R. Human papillomavirus: molecular and cytologic/histologic aspects related to cervical intraepithelial neoplasia and carcinoma. **Human Pathology**, February 39(2):154-166, 2008.

TROTTIER, H.; FRANCO, E.L. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine*, v. 24, S4-S15, 2006.

VAN REGENMORTEL, M.H.V.; FAUQUET, C.M.; BISHOP, D.H.L.; CARTENS, E.B.; ESTES, M.K.; LEMON, S.M.; MANILOFF, J.; MAYO, M.A.; MCGEOCH, D.J.; PRONGLE, C.R. & WICKNER, R.B. (org.). *Virus Taxonomy: The Classification and Nomenclature of Viruses. The Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego. Academic Press, 1176 p, 2000.

VELDHUIJZEN, N. J., DHONT, N. M. D, VYANKANDONDERA, J.; GASARABWE, A.; BUSASA, R.; CRUCITTI, T., VAN DE WIJGERT, J. H. H. M. Sexually transmitted diseases [0148-5717] **Veldhuijzen**, 39: (2) 128 -135, 2012.

VERMUND S.H., KELLEY K.F., KLEIN R.S., FEINGOLD A.R., SCHREIBER K., MUNK G., BURK R.D. High risk of human papillomavirus infection and cervical squamous intraepithelial lesions among women with symptomatic human immunodeficiency virus infection. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, 165 (2) , pp. 392-400, 1991.

VINOKUROVA S., WENTZENSEN N., EINENKEL J., KLAES R., ZIEGERT C., MELSHEIMER P., SARTOR H., et al. Clonal history of papillomavirus-induced dysplasia in the female lower genital tract. **Journal of the National Cancer Institute**, 97 (24) , pp. 1816-1821, 2005.

WALBOOMERS J.M.M., JACOBS M.V., MANOS M.M., BOSCH F.X., KUMMER J.A., SHAH K.V., SNIJDERS P.J.F., PETO J., MEIJER C.J.L.M., and MUÑOZ N. **J. Pathol.** Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. 189:12-19. 1999.

WEINBERG, A.; GONA, P.; NACHMAN, S. A.; DEFECHEREUX, P.; YOGEV, R.; HUGHES, W.; WARA, D.; SPECTOR, S. A.; READ, J.; ELGIE, C.; COOPER, M.; DANKNER, W. Antibody responses to hepatitis A virus vaccine in HIV-infected children with evidence of immunologic reconstitution while receiving highly active antiretroviral therapy. **The Journal of infectious diseases**, Vol.193(2).302-11, 2006.

WHO, World Health Organization. Human papillomavirus (HPV) and cervical cancer. N° 380 Sept 2013.

WHO, World Health Organization. Safety of human papillomavirus vaccine. **Weekly Epidemiological Record**. 2007a.

WHO, World Health Organization. Cervical cancer, human papillomavirus (HPV), and HPV vaccines. Key points for policy-makers and health professionals. Geneva: **World Health Organization**. 2007b.

WHO. Human Papillomavirus and Related Cancers in Americas. Summary Report 2010.

WHO/ICO Information Centre on HPV and Cervical Cancer (HPV Information Centre). [acesso em [01/07/2012]]. Disponível em: www.who.int/hpvcentre.

WILKIN T, L. J, PALEFSKY J, et al. Safety and immunogenicity of the quadrivalent human papillomavirus vaccine in HIV-1-infected men. **The Journal Of Infectious Diseases** [serial online]. October 15, 202(8):1246-1253, 2010.

WILKIN T, PALMER S, BRUDNEY K, CHIASSON M, WRIGHT T. Anal intraepithelial neoplasia in heterosexual and homosexual HIV-positive men with access to antiretroviral therapy. **The Journal Of Infectious Diseases** [serial online]. November 1, 190(9):1685-1691, 2004.

WILSON, V. G., M. WEST, K. WOYTEK e D. RANGASAMY. Papillomavirus E1 proteins: form, function, and features. **Virus Genes**. 24(3): 275-290, 2002.

WINER, R. L. ; KIVIAT, N. B. ; HUGHES, J. P. ; LEE, S - K. ; KOUTSKY, L. A. Development and duration of squamous intraepithelial lesions (SIL) from time of first human papillomavirus (HPV) infection.(Brief Article) **American Journal of Epidemiology**, June 1, Vol.157(11), p.S99(1), 2003.

WOODMAN, C. B., COLLINS, S., WINTER, H., BAILEY, A., ELLIS, J., PRIOR, P., YATES, M., ROLLASON, T. P. & YOUNG, L. S. Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study. **Lancet** 357, 1831_1836, 2001.

WOODMAN, C. B., S. I. Collins e L. S. Young. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. **Nat Rev Cancer**. 7(1): 11-22, 2007.

WRIGHT, T.C., SCHIFFMAN, M. Adding a test for Human papillomavirus DNA to cervical-cancer screening. **New Engl. J of Medicine**, 348:489-490, 2003.

ZIMMERMMANN, J.B., et al. A multiplicidade do Papilomavírus Humano na cérvix uterina de pacientes portadoras do vírus da imunodeficiência humana e sua interação na neoplasia intra-epitelial cervical. **HU Revista Juiz de Fora**.v. 34, n. 3, p. 161-166, jul./set. 2008.

Disponível em: <http://www.seer.ufjf.br/index.php/hurevista/article/view/302/148>. Acesso em: 30 set. 2012.

ZIMMERMMANN, J.B.; MELO V.H.; ZIMMERMMANN, S. Resposta imune local nas lesões do colo uterino induzidas pelo HPV em mulheres soropositivas para o HIV. **Rev Bras Ginec Obstet**.Dezembro,vol 35,nº 12, 2007.

Zur HAUSEN, H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. **Nat Rev Cancer**. 2(5): 342-350, 2002.

APÊNDICES

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS
Análise Clínica e Epidemiológica da Infecção por HPV em Mulheres Infectadas por HIV no Município de Tucuruí

O HPV é considerado um dos agentes causadores do câncer cervical. Em cerca de 95% dos casos de câncer cervical, ele está presente. Em cerca de 95% dos casos de câncer cervical, o vírus é encontrado. Quando a mulher está infectada por HIV e HPV aumenta a possibilidade de desenvolver o câncer. Cerca de 55% de mulheres infectadas por HIV que apresentam câncer de colo uterino. Com isso, este projeto se dedica a avaliar a presença do HPV em mulheres infectadas por HIV na população do município de Tucuruí. Esta região apresenta grande desenvolvimento principalmente pelos grandes empreendimentos na região, se torna de grande importância este tipo de estudo para que se possam fazer programas regionalizados para prevenção dessa doença. Para isso, utilizaremos as amostras colhidas da região vaginal para pesquisa do HPV. Sem a necessidade de qualquer outra intervenção.

Se você tiver qualquer pergunta sobre este estudo ou riscos, você pode entrar em contato com a Dra. Hellen Thaís Fuzii, telefone 91-8191-0031. Se você tiver dúvidas sobre seus direitos ou com relação aos aspectos éticos do trabalho, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (CEP) do Núcleo de Medicina Tropical - UFPA – Av. Generalíssimo Deodoro, 92, Umarizal, Belém – PA; Telefone 3241-0032.

É garantida a liberdade de retirar o consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na instituição. As informações serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente. Não há nenhuma despesa pessoal adicional ao participante neste estudo. Também não haverá compensação financeira relacionada à sua participação. Você pode se negar a participar deste estudo sem que haja qualquer prejuízo ao seu tratamento neste Serviço. Os dados obtidos por sua participação serão apenas utilizados para este estudo.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “Análise Clínica e Epidemiológica da Infecção por HPV em Mulheres Infectadas por HIV no Município de Tucuruí”.

Eu discuti com a Dra. Hellen Thaís Fuzii sobre a minha decisão em participar neste estudo. Ficaram claros para mim, quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia de acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço

Belém __/__/20__

Participante

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente para a participação neste estudo.

Belém __/__/20__

Pesquisador

APÊNDICE B - 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 Resultado da Citologia

 Normal/Inflamatório Atrofia ASCUS ASGUS LSIL HSIL Carcinoma

7 Uso de TARV

Sem fazer uso a _____ (Meses/Anos)

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/ NL8.3 Número de parceiros sexuais **na****vida:** _____/ NL8.4 Número de parceiros sexuais **no último****ano:** _____ ou NL8.5 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 Sim9.4 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

ANEXOS

ANEXO A – PARECER DE ÉTICA DE PROJETO DE PESQUISA ENVOLVENDO
SERES HUMANOS



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

PARECER DE ÉTICA DE PROJETO DE PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

1. **Protocolo:** Nº 026/2009-CEP-NMT/UFPA
2. **Projeto de Pesquisa:** ANÁLISE CLÍNICA E EPIDEMIOLÓGICA DA INFECÇÃO POR HPV EM MULHERES INFECTADAS POR HIV NO MUNICÍPIO DE TUCURUÍ.
3. **Pesquisador Responsável:** Profa. Dra. Hellen Thais Fuzii
4. **Instituição / Unidade:** NMT/ UFPA
5. **Data de Entrada:** 28/04/2009
6. **Data do Parecer:** 07/12/2010

PARECER

O Comitê de Ética em Pesquisa do NMT/UFPA apreciou o protocolo em tela e, verificou que foram atendidas todas as exigências da Resolução 196/96-CNS/MS. Portanto, manifesta-se pela sua aprovação.

Parecer: **APROVADO.**

Belém, 16 de fevereiro de 2011.


Profa. Dra. Hellen Thais Fuzii.
Coordenadora do CEP-NMT/UFPA.

Hellen Thais Fuzii
Coordenadora do Comitê de Ética

Neuber de A. 23/09/2011