

UNIVERSIDADE PAULISTA
CENTRO DE CONSULTORIA EDUCACIONAL

GEORGE MACIEL CAVALCANTI

**AVALIAÇÃO DO HPV DE ALTO RISCO ONCOGÊNICO E DOS
SEUS FATORES DE RISCO NAS LESÕES INTRA-EPITELIAIS
ESCAMOSAS DE BAIXO GRAU DO COLO UTERINO**

RECIFE
2011

GEORGE MACIEL CAVALCANTI

AVALIAÇÃO DO HPV DE ALTO RISCO ONCOGÊNICO E DOS SEUS FATORES DE RISCO NAS LESÕES INTRA-EPITELIAIS ESCAMOSAS DE BAIXO GRAU DO COLO UTERINO

Monografia apresentada à Universidade Paulista e CCE – Centro de Consultoria Educacional, para obtenção de título de especialista em Citologia Clínica.

Orientador: MSc. Gustavo Santiago Dimech

**RECIFE
2011**

C376a Cavalcanti, George Maciel, 1978-

Avaliação do HPV de alto risco oncogênico e dos seus fatores de risco nas lesões Intra-epiteliais escamosas de baixo grau do colo uterino / George Maciel Cavalcanti. – Recife : Ed. do Autor, 2011. 50f. : il.

Orientador: MSc. Gustavo Santiago Dimech.
Dissertação (Especialização em Citologia Clínica) – Universidade Paulista. Centro de Consultoria Educacional.
Resumo em português e inglês.
Inclui referências.
Inclui anexos.
Inclui apêndice.

1. DOENÇAS POR PAPILOMAVIRUS – PACIENTES – PESQUISA. 2. DOENÇAS POR PAPILOMAVIRUS – DIAGNÓSTICO. 3. DOENÇAS POR PAPILOMAVIRUS – TRATAMENTO. 4. APARELHO GENITAL – DOENÇAS – EXAMES. 5. COLO UTERINO – CÂNCER – PREVENÇÃO. 6. COLO UTERINO – CÂNCER – FATORES DE RISCO. I. Dimech, Gustavo Santiago. II. Título.

CDU 616-006.52
CDD 616.925

GEORGE MACIEL CAVALCANTI

**AVALIAÇÃO DO HPV DE ALTO RISCO ONCOGÊNICO E DOS
SEUS FATORES DE RISCO NAS LESÕES INTRA-EPITELIAIS
ESCAMOSAS DE BAIXO GRAU DO COLO UTERINO**

Monografia apresentada à Universidade
Paulista e CCE – Centro de Consultoria
Educativa para obtenção do título de
Especialista em Citologia Clínica.

Aprovado em:

BANCA EXAMINADORA:

Nome: _____
Titulação: _____

PARECER FINAL:

AGRADECIMENTOS

- A Deus e Jesus Cristo pelo meu aprendizado e evolução neste plano.
- Aos meus pais Edson e Célia (*in memoriam*), minha eterna gratidão pelo apoio, incentivo e amor, fundamentais para que eu pudesse chegar até aqui, e principalmente pela vida.
- A minha noiva (Débora Delicato), pelo apoio irrevogável dado ao longo deste trabalho.
- Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo de Queiroz Lima, meus sinceros agradecimentos, pelo interesse, dedicação, paciência e acima de tudo, pelos seus ensinamentos.
- A todos que compõem o Centro de Consultoria Educacional-CCE, pela amizade que foi construída neste período, e que levarei para sempre.
- Aos colegas da Pós-Graduação, pela convivência e companheirismo.
- A todos aqueles que direta ou indiretamente tiveram uma parcela de participação, colaborando no desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

O câncer invasor cervical é precedido por lesões precursoras ou pré-malignas, representadas por lesões intra-epitelial escamosa. (LIE), que foram divididas em lesões de baixo e alto grau segundo seu menor ou maior risco de progressão para o carcinoma invasor. Atualmente, está bem estabelecido que o Papilomavírus humano (HPV) é o fator causal do câncer de colo uterino e de suas lesões precursoras, as neoplasias intra-epiteliais cervicais. Os nossos objetivos são determinar a prevalência do papilomavírus humano (HPV) de alto risco oncogênico em mulheres com resultado histológico de lesão intra-epitelial de baixo grau (LIEBG) do colo uterino e verificar se existe associação entre a presença do vírus e alguns fatores de risco. Trata-se de um estudo transversal, de caráter descritivo. Foram avaliadas 55 pacientes com diagnóstico histopatológico de LIEBG. Todas foram submetidas ao teste de DNA-HPV previamente. Das 55 mulheres analisadas, 25 (45,5%) apresentaram HPV de alto risco positivo. A infecção pelo vírus foi associada às pacientes com maior escolaridade, ao tabagismo e à história de doença sexualmente transmissível. Outros fatores de risco, como a idade, o número de parceiros sexuais, a faixa etária em que ocorreu a coitarca o uso de anticoncepcionais hormonais e o estado de imunossupressão, não mostraram relação com a infecção pelo HPV. A prevalência do HPV de alto risco oncogênico nas mulheres com diagnóstico histológico de LIEBG foi de 45,5%. A detecção do vírus foi associada ao tabagismo, à história de doença sexualmente transmissível e a um grau maior de escolaridade.

Palavras chaves: Lesões intra-epiteliais escamosas, HPV e Fatores de risco.

ABSTRACT

Invasive cervical cancer is preceded by precursor lesions or pre-malignant lesions, represented by squamous intraepithelial lesions. (LIE), which were divided in lesions of low and high grade according to their greater or lesser risk of progression to invasive carcinoma. Currently, it is well established that human papillomavirus (HPV) is the causative factor of cervical cancer and precursor lesions, the cervical intraepithelial neoplasia. Our objectives are determine the prevalence of oncogenic high-risk human papillomavirus (HPV) in women with low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) of uterine cervix and verify if there is association between the presence of the virus and some risk factors. This is a cross-sectional study and a descriptive. We evaluated 55 patients with histological diagnosis of LSIL. All of them were previously submitted to HPV-DNA testing. Of the 55 women surveyed, 25 (45.5%) had high risk HPV positive. The virus infection was related to patients with higher level of education, with smoking and with history of sexually transmitted diseases. Other risk factors like age, number of sexual partners, age at first sexual intercourse, use of hormonal contraceptives, and immunosuppression condition, did not show a relation to the high-risk HPV infection. The prevalence of oncogenic high-risk HPV in women with histological diagnosis of LSIL was 45,5%. HPV-DNA detection was associated with smoking, history of sexually transmitted diseases, and higher level of education.

Key words: Squamous intraepithelial lesions, HPV and Risk factors.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1 TIPOS DE HPV	10
2.2 TRANSMISSÃO	11
2.3 PROGNÓSTICO	12
2.4 FISIOPATOLOGIA	12
2.4.1 Inoculação (fase O)	13
2.4.2 Período de Incubação (fase I)	13
2.4.3 Fase Precoce (fase II)	14
2.4.4 Fase Tardia (fase III)	14
2.5 FATORES DE RISCO	15
2.6 DIAGNÓSTICO	18
3 OBJETIVOS	21
3.1 Objetivo geral	21
3.2 Objetivos específicos	21
4 METODOLOGIA	22
4.1 Delineamento do estudo	22
4.2 Casuística	22
4.3 Procedimentos	23
4.4 Análise Estatística	24
4.5 Aspectos Éticos	24
5 RESULTADOS	25
6 DISCUSSÃO	31
7 CONCLUSÕES	37
REFERÊNCIAS	38
ANEXOS	47
APÊNDICE	49

1 INTRODUÇÃO

O câncer invasor cervical é precedido por lesões precursoras ou pré-malignas, representadas por atipias celulares do epitélio cervical. Estas alterações já foram denominadas no passado de displasias e posteriormente, neoplasias intra-epiteliais cervicais (NIC). Porém, recentemente, com a introdução da classificação citológica de Bethesda, tem sido utilizada a terminologia *lesão intra-epitelial escamosa (LIE)*, que foram divididas em lesões de baixo e alto grau (correspondendo a NIC I e NIC II/III, respectivamente) segundo seu menor ou maior risco de progressão para o carcinoma invasor (ORDI J *et al.*, 2003). A infecção pelo HPV é comum, sobretudo em mulheres jovens, e sua prevalência está relacionada, principalmente, ao comportamento sexual (ADAM E *et al.*, 2000) (MEIJER CJ *et al.*, 2000). A infecção sozinha não é suficiente para causar a neoplasia cervical. Fatores associados ao hospedeiro tais como: genéticos, imunológicos ou ambientais (tabagismo, anticoncepcional oral de alta dosagem, dieta pobre em vitaminas e oligoelementos, atividade sexual, gestações, entre outros) também contribuem para a progressão de uma lesão HPV induzida ao carcinoma (STANLEY MA, 2001). O câncer de colo uterino é a segunda neoplasia maligna mais comum na população feminina mundial com cerca de 500 mil novos casos por ano, desses quase 80% ocorrem em países em desenvolvimento onde, em algumas regiões, passa a ser a neoplasia mais frequente. Já no Brasil, estima-se que o câncer cervical seja a terceira neoplasia maligna mais frequente entre as mulheres, sendo superada apenas pelo câncer de pele (não-melanoma) e pelo câncer de mama, sendo a quarta causa de morte por câncer em mulheres (INCA, 2010).

A estimativa de incidência para Pernambuco no ano de 2010 é de 1020 novos casos (26,44/100.000 mulheres) e para Caruaru é de 60 casos (29,5/100.000 mulheres) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Atualmente, está bem estabelecido que o Papilomavírus humano (HPV) é o fator causal do câncer de colo uterino e de suas lesões precursoras, as neoplasias intra-epiteliais cervicais de alto grau (NIC II/III) (MUNOZ N, 2008). Existem mais de 45 genótipos destes vírus que infectam a área anogenital, tanto em homens quanto em mulheres e que se associam a lesões benignas e cânceres invasivos (ZUR HAUSEN H, 1996). Os vírus que infectam a área genital podem ser classificados em HPV de baixo ou alto risco oncogênico. Os de baixo risco estão associados principalmente às lesões intra-epiteliais escamosas de baixo grau e a verrugas genitais (lesões benignas) e os de alto risco com as lesões intra-epiteliais escamosas de alto grau e ao câncer cervical invasivo. Dos genótipos de HPV o 6 e 11 são os mais freqüentemente encontrados nas lesões verrucosas (90% dos casos de condiloma acuminado)

e o 16 e 18 mais frequentemente nos casos de câncer (70% das vezes)(MUNOZ N *et al.*, 2003).

Vale ainda ressaltar, que uma fase obrigatória no desenvolvimento deste câncer é a integração do DNA viral ao DNA das células hospedeiras. Essa integração promove a degradação do gene E2 do HPV e leva a um aumento descontrolado das proteínas E6 e E7, que inativará os produtos dos genes supressores de tumor p53 e prb, propiciando a divisão celular desordenada e o aparecimento do tumor (OLIVEIRA LH *et al.*, 2002).

O diagnóstico dessa doença é determinado pela presença de atipias celulares do epitélio cervical, que são geralmente observadas ao exame citopatológico ou Papanicolaou. Este tem sido o método de rastreamento de escolha desde 1950, provando ser um ótimo *screening* de massa para o diagnóstico precoce destas lesões. Entretanto, este exame tem algumas desvantagens, como uma baixa sensibilidade para a detecção de lesões pré-cancerosas (60-75%) e resultados de interpretação subjetiva levando a ocorrência de muitos diagnósticos de câncer cervical falsos positivos (20-30%) e falsos negativos (10-20%) (CARVALHO MO, 2003).

Uma vez que o carcinoma cervical é precedido por lesões pré-invasivas, o diagnóstico e tratamento das lesões que irão progredir é a melhor forma de prevenção. Não há dúvida de que todos os casos de lesões de alto grau devam ser tratados, pois a maioria irá evoluir para a forma invasiva (DALSTEIN V *et al.*,2003). No entanto, as lesões de baixo grau apresentam um percentual importante de regressão espontânea (cerca de 80%) (COX JT, 2001) e não há um consenso universal se estas lesões devam ser tratadas ou apenas acompanhadas (DALSTEIN V *et al.*,2003). As lesões que apresentam risco de progressão são justamente aquelas associadas aos HPV de alto risco oncogênico (COX JT *et al.*,2003). O conhecimento de quais lesões estão relacionadas a estes vírus pode ser um dos fatores determinantes para a decisão de tratar ou não tais lesões.

Quanto à história natural do câncer cervical, sabe-se que as lesões intra-epiteliais cervicais de alto ou baixo grau que irão levar ao desenvolvimento do carcinoma são aquelas associadas aos vírus de alto risco oncogênico (CAVALCANTI SM *et al.*,2000). A persistência da infecção com certos tipos específicos de HPV, em particular o 16 e 18, são os fatores responsáveis pelo desenvolvimento, manutenção e progressão de uma neoplasia intra-epitelial cervical para o câncer invasor (HEMANDEZ-HEMANDEZ DM *et al.*,2003).

Assim, o objetivo deste estudo é avaliar a prevalência do HPV de alto risco oncogênico nas lesões intra-epiteliais cervicais de baixo grau, relacionando-as com possíveis fatores associados à progressão dessas lesões em pacientes atendidas no ambulatório de

Oncologia Genital do Centro de Oncologia do Agreste – Caruaru -PE, no período de outubro de 2009 a setembro de 2010.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 TIPOS DE HPV

Os papilomavírus são vírus sem envelope, com cerca de 55nm de diâmetro, com um capsídeo icosaédrico com 72 capsômeros, constituídos de DNA dupla fita, circular, que contém cerca de 8.000 pares de bases. Anteriormente classificados como pertencentes à família *Papovaviridae* e subfamília *Papillomavirus*, nos últimos anos foram reconhecidos como uma família própria: a *Papillomaviridae*. O genoma do HPV divide-se em três regiões: região precoce (E), região tardia (L) e região reguladora (URR). A região precoce contém 7 a 8 genes (E1,E2, E3,E4, E5, E6, E7 e E8) e a região tardia 2 genes (L1 e L2). A primeira contém o DNA para a replicação viral (E1, E2), regulação da expressão (E2), montagem e liberação do vírus (E4) e imortalização e transformação celular (E5, E6 e E7). E3 e E8 não têm ação conhecida, estando presentes em apenas uma minoria dos HPVs. Os genes L1 e L2 codificam para duas proteínas do capsídeo. A região regulatória que separa estes conjuntos de genes é constituída por 1.000 pb e contém elementos reguladores da expressão e replicação gênicas e do empacotamento de partículas virais (BRANCA M *et al.*, 2004).

Há mais de 200 papilomavírus reconhecidos, classificados em tipos, subtipos e variantes com base em homologia de DNA. Um novo genótipo é definido se possuir menos de 90% de homologia com a sequência nucleotídica de L1, após o sequenciamento completo do genoma. Os subtipos são definidos quando apresentam entre 2 a 10% de divergência com a sequência nucleotídica de L1, enquanto as variantes apresentam menos de 2% de divergência (BRANCA M *et al.*, 2004).

Filogeneticamente os tipos que infectam a área genital pertencem ao gênero alfa e os associados com epidermodisplasia verrucosiforme cutânea, ao gênero beta. Os diferentes tipos têm tropismo por infectar diferentes tecidos, por exemplo, tipos epidérmicos (HPV 1-4, 10, 26-29, 37, 38, 46, 47, 49, 50, 57), e tipos genitais (HPV 6, 11, 16, 18, vários 30s, 40s, 50s, 60s, 70s). Aproximadamente 40 tipos infectam a área genital. Destes, alguns têm potencial oncogênico, particularmente os HPVs 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 54, 56, 58, 59, 60 e 66 (ADAM E, *et al.*, 2000). Os tipos oncogênicos prevalentes mundialmente são: 16, 18, 45, 31, 33, 58, 52 e 35 (SMITH *et al.*, 2007). Os tipos genitais de HPV podem ser classificados segundo o risco que conferem ao desenvolvimento de lesões neoplásicas do colo uterino em:

- Tipos de baixo risco (LR): HPVs tipos 6, 11, 40, 42, 43 e 44), causadores de verrugas genitais externas (condiloma acuminado) e lesões benignas do colo uterino (MUNOZ *et al.*, 2003).
- Tipos de alto risco (HR): HPVs tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, e 68 encontrados em lesões de alto grau e carcinoma invasor (MUNOZ *et al.*, 2003).
- Tipos de risco indeterminado: (26, 34, 53, 54, 55, 61, 62, 66, 73, 82, 83 entre outros) (MUNOZ *et al.*, 2003).

2.2 TRANSMISSÃO

Este vírus é transmitido por contato direto com a pele infectada. Os HPV genitais são transmitidos por meio das relações sexuais, podendo causar lesões na vagina, colo do útero, pênis e ânus. Também existem estudos que demonstram a presença rara dos vírus na pele, na laringe (cordas vocais) e no esôfago. Já as infecções subclínicas são encontradas no colo do útero. O desenvolvimento de qualquer tipo de lesão clínica ou subclínica em outras regiões do corpo é bastante raro. A maioria dos casos de infecção por HPV é assintomática, no entanto as lesões podem surgir em um período de três semanas até oito meses após a infecção, sendo a média de três meses após a infecção (HALBE H.W, 2000).

O HPV invade o local o qual irá infectar no corpo humano através de pequenos traumatismos (lesões) e vai para as camadas mais internas da pele ou das mucosas onde penetra no DNA de nossa célula (da pele ou mucosa) (HALBE H.W, 2000).

Ao penetrar nesta célula ele irá utilizar-se da mesma para futuramente se reproduzir. Esta fase de "hospedagem" na célula alvo é considerada fase latente da infecção, ou seja, temos o vírus mas não temos a doença. Após o contato com o HPV e sua entrada no organismo, haverá uma fase de incubação que pode variar de semanas a meses (HALBE H.W, 2000).

De acordo com Halbe 2000, O HPV estimula a proliferação celular, infectando as células metaplásicas cervicais, desencadeando hiperplasia das células basais, podendo iniciar sua oncogenicidade quando seu DNA se integra ao DNA celular (HALBE H.W, 2000).

Na maioria das vezes, este vírus é detectado por nosso sistema imunológico e assim destruído. Porém, algumas vezes, por razões não totalmente esclarecidas, podendo uma delas ser alguma falha de vigilância do nosso sistema de defesa ou ainda pela capacidade infectiva do vírus, ele utiliza-se desta célula a qual ele se "hospedou" para se reproduzir e produzir

novas células virais que irão ocasionar a doença, em sua forma clínica ou subclínica (HALBE H.W, 2000).

Os HPVs podem causar verrugas ou papilomas que são tumores benignos. Os que ocorrem nas áreas genitais masculinas ou femininas e na região anal são denominados condiloma acuminado e são causados em sua maioria pelos HPVs 6 e 11. Estes raramente são relacionados a neoplasias invasivas e são classificados como tipos LR-HPV. Outros tipos podem causar verrugas em outras áreas do organismo, como mãos, pés, língua e lábios (HALBE H.W, 2000).

2.3 PROGNÓSTICO

A infecção por HPV tem um padrão transitório. A maioria das mulheres infectadas por tipos de HPV causadores de neoplasias invasoras não desenvolve a doença (70 a 90%). Geralmente a infecção desaparece sem nenhum tratamento e o vírus é eliminado devido à ação do sistema imune, em um período de 12 a 24 meses após o diagnóstico inicial (HO GY, *et al.*, 1998). A persistência do HPV em 10 a 30% dos casos é mais comum com os tipos oncogênicos e está associada ao desenvolvimento de lesão escamosa intra-epitelial (SIL). HO *et al.* (1998), em um estudo com 608 mulheres, determinaram que a duração média das novas infecções por HPV foi de oito meses. A persistência da infecção por seis meses ou mais estava associada à idade, tipos de HPV associados com neoplasia invasora e infecção por múltiplos tipos de HPV. O risco de alterações citológicas (Papanicolaou alterado) estava associado com tipos de HPV conhecidos como de alto risco. Por razões desconhecidas, a infecção cervical pelo HPV tende a causar lesões em uma área conhecida como junção escamo-colunar ou zona de transformação, área onde o epitélio estratificado escamoso não queratinizado da ectocérvix contacta e gradualmente substitui o epitélio colunar da endocérvix, em um processo conhecido como metaplasia.

2.4 FISIOPATOLOGIA

No ciclo de infecção do HPV o DNA viral é constituído por 2 partes, um dos chamados genes precoces, a outra genes tardios (FERNANDES,A.P.M, 2004).

Os primeiros genes expressam proteínas virais, que, em essência, são fatores que interagem com a regulação celular fatores que alteram o equilíbrio da célula hospedeira (FERNANDES,A.P.M, 2004).

Após a infecção das células da lâmina basal do epitélio escamoso no início da ação das proteínas, há uma intensa e primitiva replicação do DNA viral, o que aumenta a partir de uma de várias dezenas ou centenas de cópias por célula e uma replicação síncrona do DNA viral na divisão celular (FERNANDES,A.P.M, 2004).

O vírus HPV DNA é incorporado no genoma da célula alvo, exercendo seus efeitos através da ativação de oncogenes e supressão da resposta imunológica das células-alvo. Proteínas impedem o reparo do DNA do HPV, que conduz à instabilidade e crescimento celular descontrolado (FERNANDES,A.P.M, 2004).

Durante a maturação epitelial (mudando de camadas superiores do epitélio), à tarde os genes são expressos em forma capsidial virions proteínas a partir dos quais são, então, liberados durante a descamação (FERNANDES,A.P.M, 2004).

Este ciclo é tipicamente encontrado em condilomas para os tipos 6 e 11, mas outros fenômenos são observados durante a infecção por tipos 16 e 18 (FERNANDES,A.P.M, 2004).

De acordo com Oyakawa – 2010, a evolução do HPV passa por III fases:

2.4.1 Inoculação (fase O)

O vírus penetra no novo hospedeiro através de microtraumatismos. Os vírus progridem até a camada basal, atravessando a membrana citoplasmática.

O genoma viral é transportado para o núcleo, onde é traduzido e transcrito. Duas classes de proteínas são codificadas: proteínas transformadoras, que induzem funções na célula hospedeira, e proteínas reguladoras, que controlam a expressão dos genes virais.

2.4.2 Período de Incubação (fase I)

O período de incubação do condiloma acuminado varia de 2-3 semanas a 8 meses e parece estar relacionado com a competência imunológica individual. A infectividade decresce com o tempo de duração das verrugas e com o grau de queratinização. O grau de infectividade pode estar relacionado com o tipo de lesão (carga viral).

As lesões subclínicas também podem infectar. A progressão da fase de incubação para a de expressão ativa depende de três fatores: da permissividade celular, do tipo de vírus e do estado imunológico do hospedeiro.

2.4.3 Fase Precoce (fase II)

Uma resposta imune adquirida que pode conter a infecção (regressão) ou ser insuficiente para eliminá-la (fase de expressão ativa), ocorre três meses após o surgimento das primeiras lesões.

Durante o estágio de contenção, os condilomas externos regredem espontaneamente em número significativo de indivíduos. Entretanto, na maioria dos casos, as lesões focais persistem, embora o surgimento de novos papilomas possa ser interrompido ou parcialmente bloqueado.

2.4.4 Fase Tardia (fase III)

Ainda de acordo com Oyakawa – 2010, em torno de nove meses após o aparecimento das primeiras lesões, pode surgir:

1. As que continuarão em remissão (potencialmente infectantes para seus parceiros sexuais);
2. as que recidivarão, expressando doença ativa;
3. progressão para lesões displásicas e câncer.

A infecção pelo HPV não é acompanhada por inflamação, não havendo citólise ou efeito citopático letal, como consequência da replicação, empacotamento e liberação das partículas virais. Desta forma, o sistema imune não é sinalizado quanto à presença do vírus no organismo e isto pode resultar em cronicidade e persistência da infecção. O período entre a infecção e o aparecimento das lesões é altamente variável, de semanas a meses, sugerindo que o vírus pode desenvolver mecanismos efetivos de evasão do sistema imune (KUPPER e FULBRIDGE, 2004).

Teoricamente, o vírus deveria ser detectado pela célula apresentadora de antígenos (APC) do epitélio escamoso, a Célula de Langerhans (LC). A LC ativada deveria migrar para um linfonodo, processando os antígenos e apresentando-os à célula T imatura. A célula T

diferenciada em T efetora migraria para o sítio da infecção e destruiria o queratinócito infectado (KUPPER e FULBRIDGE, 2004).

Há várias razões para isto não ocorrer. O ciclo de infecção do HPV é por si próprio, um mecanismo de evasão do sistema imune inibindo a detecção do vírus pelo hospedeiro, sendo que para a maioria das infecções há pouca ou nenhuma liberação de citocinas pró-inflamatórias, importantes para a ativação das células dendríticas e os sinais essenciais para a resposta imune no epitélio escamoso estão ausentes (KUPPER e FULBRIDGE, 2004).

2.5 FATORES DE RISCO

Fatores tais como: relacionamento sexual precoce, casamento em idade muito jovem, idade jovem na primeira gravidez, parceiros sexuais múltiplos e múltiplos casamentos são - em nossa opinião - as maneiras que um agente venéreo, provavelmente o HPV, poderia entrar em contato com a mucosa cervical. E evidente, também, que todos estes fatores estão muito correlacionados e, assim, é necessária uma atenção especial para avaliar-se o papel dos fatores de confusão (CRAMER, 1982)

Harris, *et al.*, (2000), por exemplo, reportaram que o número de parceiros sexuais distingue-se como um fator independente da idade da primeira relação sexual. O risco relativo encontrado para jovens antes dos 17 anos foi de 1,55 se tivesse apenas um parceiro, crescendo para 7,53, se tivesse 6 ou mais parceiros. Os mesmos autores também relataram que os fatores de risco identificados para lesão intra-epitelial de baixo e alto grau como carcinoma "in situ" foram similares para aqueles identificados para o câncer invasivo.

Os mesmos achados relativos à idade ao primeiro coito e número de parceiros sexuais, foram encontrados por Rawls, *et al.*, (2001). Estes autores apoiam a idéia de que a parceria sexual múltipla aumentaria a probabilidade de exposição a um agente transmitido sexualmente, enquanto que a idade precoce ao primeiro coito poderia significar a presença de um epitélio cervical puberal mais susceptível à agressão oncogênica. Estes autores também relataram um risco relativo de 1,45 em mulheres com 2 ou mais casamentos e de 1,38 para mulheres que tiveram o primeiro casamento ou gravidez antes dos 20 anos de idade.

Brinton, (1986) publicou estudo tipo caso-controle sobre o câncer invasivo do colo uterino, em 5 áreas geográficas dos Estados Unidos e usando modelos logísticos multivariados - obteve os fatores de risco após controlar os fatores de confusão. Em relação à exposição sexual, ela encontrou um risco linearmente crescente com o número de parceiros sexuais, chegando a uma razão de risco ajustado de 2,51 para mulheres com 5 ou mais

parceiros, comparadas com aquelas que relataram apenas um parceiro sexual. Apesar da idade na primeira relação ter sido parcialmente confundida com o número de parceiros sexuais, permaneceu um efeito residual deste fator, com uma razão de risco ajustada de 2,27.

A hipótese que a infecção peniana pelo HPV é importante na exposição das mulheres ao risco do câncer cervical, vem crescendo gradualmente. Clarkson, *et al.*, (2002) encontraram que, de 25 mulheres parceiras de homens com condiloma acuminado no pênis, 9 (36%) tiveram diagnósticos como tendo neoplasia intraepitelial cervical, comparadas com nenhuma das 20 mulheres do grupo de controle.

Villa e Lopes (1996) observaram que as taxas de câncer peniano em Recife aparecem como uma das incidências mais altas do mundo (6,8/100.000 habitantes), concordando com a alta incidência de câncer cervical na mesma cidade. Os mesmos autores relataram que o HPV tipos 16 e 18 mostram uma forte associação com os tumores malignos do pênis.

O baixo nível sócio-econômico também tem sido relacionado como um fator de risco para a lesão intraepitelial de baixo grau - LSIL. Muitas mulheres com baixo nível sócio-econômico não têm acesso adequado aos serviços de saúde. Tais mulheres também podem apresentar subnutrição o que também poderia aumentar o risco. Mulheres com dieta pobre em vitamina A e C podem ter um risco maior de desenvolver LSIL, assim como as mulheres obesas (HILDESHEIN *et al.*, 2001; MUNOZ *et al.*, 2002; CASTELLSAGUE e MUNOZ, 2003).

Mulheres que tiveram múltiplas gestações a termo também têm um risco maior de desenvolver LSIL, conforme alguns estudos. O maior risco de LSIL em mulheres com elevado número de gestações poderia estar relacionado com a manutenção prolongada da zona de transformação na ectocérvix ou a alterações hormonais como níveis aumentados de estrogênio e progesterona (HILDESHEIN *et al.*, 2001; MUNOZ *et al.*, 2002; CASTELLSAGUE e MUNOZ, 2003).

Um importante aspecto no estudo das possíveis influências do tabagismo no câncer cervical é a avaliação de vários fatores de confusão, especialmente comportamento sexual e classe social (CLARKE, *et al.*, 2002).

Clarke, *et al.*, (2002) relataram um risco relativo de 2,3 para o câncer cervical invasivo em fumantes e de 1,7 para ex-fumantes, controlando para classe social e para idade ao primeiro coito. O número de parceiros sexuais não foi controlado.

Brinton, *et al.*, (1986), conduziram um estudo caso-controle em 480 mulheres com câncer cervical tipo epidermóide e 797 controles. Após um ajustamento para idade ao primeiro coito e número de parceiros sexuais, foi observado uma razão de risco de 1,5 com a

história de tabagismo. Além do mais, os autores verificaram uma relação linear significativa entre o número de cigarros fumados por dia e anos de tabagismo, com o câncer do colo uterino.

Numa extensa revisão, Vessey (2006) relata que o tabagismo aumenta o risco do câncer cervical, independente de outros fatores.

Brinton, *et al.*, (1986) sugere duas principais hipóteses para possíveis mecanismos biológicos que poderiam estar relacionados com o fumo e o câncer cervical: um seria o efeito carcinogênico de substâncias provindas do cigarro e excretadas no muco cervical, e o outro seria possíveis efeitos imunossupressivos.

Hellberg, *et al.*, (1998) analisaram os níveis de nicotina e cotinina no sangue e compararam com os níveis no muco cervical de pacientes com neoplasia intraepitelial cervical e concluíram que a cotinina, e especialmente a nicotina, apresentavam-se em níveis muito mais alto no muco cervical do que no plasma sanguíneo.

McArdle e Muller (1999) sugeriram que haveria uma diminuição da vigilância imunitária local, baseada na densidade das células de Langerhan encontradas nos condilomas viróticos e na neoplasia intraepitelial cervical.

Barton, *et al.*, (2003) também relataram que o tabagismo está associado com um decréscimo significativo na população de células de Langerhan, tanto no epitélio normal quanto em lesões neoplásicas intraepiteliais cervicais.

Um dos primeiros estudos sobre contracepção hormonal foi efetuado por Harris, *et al.*, (1980), os quais observaram um risco relativo de 2,1 para carcinoma "in situ" e displasia, em pacientes usando pílulas por 10 anos ou mais, controlando pelos fatores: idade à primeira relação e número de parceiros sexuais. O relatório da WHO (1985) foi outro a mostrar que o uso de pílula, por tempo prolongado, pode aumentar o risco de câncer invasivo, também controlando pelos fatores sexuais.

Brinton (1986), relatou uma inclinação linear significativa do risco, com relação à duração do uso da pílula. Entre usuárias por tempo prolongado (10 anos ou mais), o risco relativo encontrado foi de 1,84.

O mecanismo sugerido pelo estudo da WHO para explicar o risco aumentado - é que o efeito progestacional da pílula poderia suprimir o processo de maturação normal do epitélio cervical, o qual poderia tornar-se mais susceptível a agentes sexualmente transmissíveis, que poderiam causar lesões intra-epiteliais de baixo grau levando posteriormente ao desenvolvimento do câncer do colo uterino.

Outros fatores, especialmente a dieta, educação, higiene e infecções genitais inespecíficas, têm sido menos estudados do que os fatores previamente revisados. Entretanto, Cramer (1982) declarou - com muita propriedade - sua crença de que nenhum agente poderia ser considerado fator causativo único do câncer cervical.

LaVecchia, *et al.*, (1984) encontrou uma relação inversa do câncer cervical com o Beta Caroteno da dieta. O risco relativo encontrado foi de 6,1 para aquelas pessoas enquadradas como de baixa ingestão, comparadas com aquelas com mais alta ingestão.

Brinton, (1986) relatou que o nível educacional persiste como fator de risco - depois de controlado os outros fatores. As mulheres com educação equivalente ao segundo grau (secundário) mostraram um risco relativo de 0,5, comparado com aquelas com apenas educação primária. Também foi observado um risco relativo de 2,1, para mulheres com história de infecções genitais inespecíficas, após o controle para variáveis de confusão.

2.6 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da infecção por HPV leva em consideração o histórico do paciente, exame físico e exames complementares com a análise direta do vírus ou indiretamente através das modificações geradas pela infecção nas células e no tecido. Dentre as técnicas utilizadas para o diagnóstico, recomenda-se (FBSGO, 2002):

O Papanicolaou que é o exame preventivo mais comum. Ele não detecta o vírus, mas sim as alterações que ele pode causar nas células. Indicado na rotina de “screening” para o câncer cervical ou na presença, nos genitais, de lesão HPV induzida no sentido de diagnóstico de neoplasia intra-epitelial ou câncer invasor associado. Recomendando-se sua repetição após seis meses (NICOLAU, S.M, 1997).

Colposcopia e Peniscopia um exame realizado por um aparelho chamado colposcópico, que tem o poder de aumentar a visão do médico, permitindo observar melhor as lesões na vulva, vagina, colo do útero e pênis. A importância da colposcopia é demonstrada por vários estudos. Entre eles, pode-se destacar um estudo que mostrou que uma alta porcentagem dos casos de neoplasia intra-epitelial cervical (NIC) de alto grau (NIC 2 e 3) e lesões microinvasoras passariam sem diagnóstico não fosse o uso deste método (CEZARINO, E.R, 1996).

O procedimento através de biópsia trata-se da retirada de um pequeno pedaço para análise. A sua indicação baseia-se no aspecto e localização que é verificado através de uma

colposcopia por ser um exame mais preciso, pois ela localiza a lesão e permite identificar com precisão o local e a extensão da doença. Se a atípia apresentada na colposcopia é maior, a lesão é plana e está localizada no colo uterino, fica claro que deve-se realizar a biópsia para ter o correto diagnóstico histológico para dirigir a conduta (CEZARINO, E.R, 1996).

Lesões verrugosas, localizadas na vagina ou vulva, que pelo aspecto leva-se ao diagnóstico clínico de infecção viral, no geral não precisam ser biopsiadas (CEZARINO, E.R, 1996).

Existindo vários outros procedimentos para realização do diagnóstico do HPV, mas não podendo deixar de citar o teste de hibridização molecular que é, sem dúvida, a técnica mais sensível de detecção da infecção pelo Papilomavírus Humano. O uso desta tecnologia no reconhecimento da presença do HPV oncogênico pode reduzir consideravelmente o número de citologias falso-negativas (NICOLLAU, S.M, 2004).

Mas o exame mais moderno para fazer diagnóstico do HPV é a Captura híbrida. Apesar de existirem diferentes técnicas de biologia molecular, este é o único teste aprovado pela ANVISA e FDA para o diagnóstico laboratorial da infecção por HPV na clínica do dia-a-dia. Detecta com alta sensibilidade e especificidade o DNA/HPV em amostra de escovado ou biópsia do trato genital inferior, grupo (de baixo ou alto risco) e a carga viral (NICOLLAU, S.M, 2004).



Fig. 6: Sistema Captura Híbrida

Fonte: <http://www.histeroscopia.med.br/index/?q=node/57>

Atualmente, os agentes etiológicos pesquisados pela metodologia de Captura Híbrida são: Papilomavírus humano (HPV) e clamídia/gonococos (CT/GC) (NICOLLAU, S.M, 2004).

O sistema de Captura Híbrida em microplaca é uma solução hibridizadora que utiliza anticorpos na captura com amplificação de sinal, sendo detectado pela quimioluminescência. Espécimes contendo DNA hibridizam-se com o coquetel de sondas específico de RNA-HPV (NICOLLAU, S.M, 2004).

O resultado dos híbridos RNA: DNA são capturados sobre a superfície da microplaca recobertos com anticorpos específicos para os híbridos RNA:DNA. A seguir faz-se a reação destes híbridos imobilizados com conjugados de anticorpos específicos para híbridos de RNA-DNA e fosfatase alcalina e, são detectados por um substrato quimioluminescente. Várias moléculas de fosfatase alcalina são conjugadas para cada anticorpo. Múltiplos anticorpos conjugados se ligam em cada híbrido capturado. A luz emitida é medida como unidade de luz relativa (RLU) no luminômetro. A intensidade de luz emitida denota a presença ou ausência do DNA alvo nos espécimes (NICOLLAU, S.M, 2004).

A medida RLU igual ou acima que o Valor do Cut off indica a presença da sequência específica de DNA-HPV no espécime. RLU menor que o valor do Cut off indica a ausência de DNA-HPV específico ou os níveis de DNA HPV estão abaixo do limite de detecção do ensaio. A duração de todo o teste é de seis horas (NICOLLAU, S.M, 2004).

Dentro da mesma plataforma de exame, trocando apenas as sondas, todos os agentes podem ser detectados até 1 pg/ml = 0,1 cópia de DNA por célula (em Microplaca). Todos os testes de Captura Híbrida são, ao mesmo tempo, Qualitativos e Quantitativos (NICOLLAU, S.M, 2004).

Diferentemente das outras técnicas que se utilizam da amplificação gênica, com a Captura Híbrida não se observa a existência de falso positivo por contaminação. Além disso, sua reprodutibilidade interlaboratorial é de 98% (NICOLLAU, S.M, 2004).

O teste de Captura Híbrida para HPV representa uma nova forma de rastreamento do câncer cervical e seus precursores. A utilização desta nova metodologia permite maior acurácia no diagnóstico, complementando os resultados obtidos através de exames citológicos e histopatológicos que apresentam resultados falso-positivos e falso-negativos (NICOLLAU, S.M, 2004).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a prevalência do Papilomavírus humano de alto risco oncogênico nas lesões intra-epiteliais escamosas de baixo grau do colo uterino, realizado no ambulatório de Oncologia Genital do Centro de Oncologia de Caruaru-PE, no período de outubro de 2009 a setembro de 2010.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a possível relação entre o HPV e os casos citohistológicos de lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau.
- Correlacionar os fatores de risco descritos na literatura com os achados neste estudo, como a idade, a escolaridade, o tabagismo, o uso de anticoncepcionais hormonais (ACO), o número de parceiros sexuais, a idade em que ocorreu a coitarca, a associação com outras doenças sexualmente transmissíveis (DST) e o estado de imunossupressão induzido pela infecção do HIV.

4 METODOLOGIA

4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo retrospectivo, descritivo e transversal, realizado com prontuários do ambulatório de Oncologia Genital do Centro de Oncologia de Caruaru-PE, do período de outubro de 2009 a setembro de 2010.

4.2 CASUÍSTICA

Foram avaliados 55 prontuários de mulheres com resultado histopatológico de lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau do colo uterino e com pesquisa do DNA do HPV de alto risco oncogênico pelo método de Captura Híbrida II(Digene & Co.). A idade das pacientes foi estratificada em \leq ou $>$ 30 anos, visto que, de acordo com vários estudos, a presença do HPV de alto risco oncogênico persistente nas mulheres acima dos 30 anos representa um fator de risco para o desenvolvimento do carcinoma cervical (ADAM E *et al.*, 2000; SCHLECHT NF, *et al.*, 2001).

Quanto ao grau de escolaridade, estratificou-se em ensino Fundamental, ensino Médio e ensino Superior. Não houve discriminação em relação ao estudo ser completo ou incompleto.

O número de parceiros sexuais que as pacientes afirmavam ter tido durante a vida foi subdividido em < 3 ou ≥ 3 parceiros, uma vez que, vários estudos demonstraram que quanto maior o número de parceiros sexuais, maior é a prevalência do HPV de alto risco oncogênico (SCHLECHT NF, *et al.*, 2001; MEIJER CJ, *et al.*, 2000).

Também foram avaliadas outras variáveis consideradas fatores de risco para a infecção pelos HPV de alto risco como a paridade, a idade da coitarca e história atual ou prévia de DST (MEIJER CJ, *et al.*, 2000)

Ao analisar a variável tabagismo, foram consideradas tabagistas as mulheres que fumam ou que já fumaram no passado. Da mesma forma, consideraram usuárias de anticoncepcional hormonal as mulheres que usam ou que já usaram este método anteriormente.

Quanto ao estado de imunossupressão, foi considerada apenas a presença ou não da infecção pelo HIV, visto que, não houve outros casos diagnosticados de imunossupressão nestas mulheres.

Os resultados da colpocitologia oncótica foram baseados na Classificação Citológica de Bethesda 2001 (SOLOMON D, *et al.*, 2002). O resultado da avaliação colposcópica foi dividido de acordo com as recomendações da Federação Internacional de Patologia Cervical e Colposcopia, aprovadas no 11º Congresso Mundial em Barcelona em 2002 que classifica a zona de Transformação atípica (ZTA) em alterações cervicais maiores ou menores, dependendo das imagens observadas (WALKER P, *et al.*, 2003).

4.3 PROCEDIMENTOS

Os dados necessários para a realização deste estudo foram obtidos através de informações registradas nos prontuários das pacientes (referentes ao período de outubro de 2009 a setembro de 2010), que se submeteram a alguma forma de acompanhamento ou tratamento das lesões intra-epiteliais cervicais de baixo grau no ambulatório de Oncologia Genital do Centro de Oncologia de Caruaru-PE. A coleta dos dados foi realizada no período de outubro e novembro de 2010, posteriormente a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos e baseada em um protocolo de pesquisa semi-estruturado (ver Apêndice 01). Foram analisados os prontuários das pacientes, onde constavam os dados clínicos, os resultados das colposcopias, das biópsias cervicais, bem como, os exames de biologia molecular para a detecção do DNA-HPV, através do método de Captura Híbrida II da Digene & Co.

Os exames de colposcopia e biópsia cervical foram realizados no Serviço de Ginecologia e os exames histopatológicos no Serviço de Anatomia Patológica do Centro de Oncologia de Caruaru-PE. O teste de detecção do DNA HPV de alto-risco oncogênico foi realizado no Laboratório Hermes Pardini, em Belo Horizonte-MG. Este exame detecta os tipos de HPV de baixo-risco (6, 11, 42, 43 e 44) e de alto-risco oncogênico (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 e 68). O teste foi considerado positivo quando a razão de RLU (Unidades de Luz Relativa) do teste sobre dois controles positivos equivale a 1 pg/ml de DNA-HPV ou mais. De acordo com estudos recentes, esse valor de ponto de corte é o que agrega maior sensibilidade e especificidade ao exame (SCHIFFMAN M, *et al.*, 2000; SARIAN L, *et al.*, 2003; SANTOS AL, *et al.*, 2003; HALL S, *et al.*, 1996; HOWARD M, *et al.*, 2002).

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise dos dados foi realizada pelo programa Epiinfo 6,0. Para verificar as possíveis associações entre o diagnóstico da presença do HPV oncogênico e as variáveis, foi aplicado o teste do qui-quadrado (X^2). O resultado foi considerado significativo quando a probabilidade de erro foi $\leq 5\%$ ($p < 0,05$). Quando o valor de p não mostrar significância, foi apresentado $p = \text{NS}$.

4.5 ASPECTOS ÉTICOS

A coleta de dados foi realizada após aprovação do CEP (Comitê de Ética na Pesquisa). Foi desenvolvido conforme os códigos de ética e leis vigentes, baseadas na resolução 196/96 do CNS, que aprova as diretrizes e normas reguladoras da pesquisa com seres humanos é considerado de risco mínimo para a amostra, pois, à direção do Centro de Oncologia de Caruaru-PE foi garantido o anonimato e o compromisso ético do pesquisador em manter sigilo e segurança nas informações.

5 RESULTADOS

O HPV de alto risco oncogênico (HPV-AR) foi detectado em 25 (45,5%) mulheres com diagnóstico histológico de LIEBG.

A idade das 55 mulheres variou de 14 a 45 anos. Ao correlacionar a idade e a presença de DNA-HPV de alto risco, observamos que não houve diferença estatisticamente significativa quanto a presença do vírus entre as pacientes com idade \leq ou $>$ 30 anos. Entretanto, ao analisar somente as mulheres com HPV-AR positivo, observou-se uma maior prevalência (60%) do vírus nas mais jovens, com trinta anos ou menos (Tabela 1).

Tabela 1 - Prevalência de positividade do HPV de alto risco oncogênico de acordo com idade.

IDADE	HPV DE ALTO RISCO ONCOGÊNICO					
	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%
\leq 30 anos	15	50,0	15	50,0	30	54,5
$>$ 30 anos	10	40,0	15	60,0	25	45,5
TOTAL	25	45,5	30	54,5	55	100,0

FONTE: CEOC, 2010
 $X^2=0,55$ $p=NS$

Quanto ao grau de escolaridade, houve uma prevalência duas vezes maior (68,4%) entre as pacientes com mais anos de estudo (ensino médio até superior) que entre as de menor escolaridade (33,3%), obtendo significância estatística, com $p=0,012$ (Tabela 2).

Tabela 2 - Prevalência de positividade do HPV de alto risco oncogênico de acordo com o grau de escolaridade.

ENSINO	HPV DE ALTO RISCO ONCOGÊNICO					
	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%
Fundamental	12	33,3	24	66,7	36	65,5
Médio/Superior	13	68,4	6	31,6	19	34,5
TOTAL	25	45,5	30	54,5	55	100,0

FONTE: CEOC, 2010
 $X^2=6,18$ $p<0,05$

O comportamento sexual foi avaliado através da idade da coitarca e do número de parceiros. Em relação à coitarca, a prevalência do vírus foi 1,7 vezes maior nas mulheres que

iniciaram atividade sexual mais tarde, entretanto, o valor estatístico não foi significativo (Tabela 3).

Tabela 3 - Prevalência de positividade do HPV de alto risco oncogênico de acordo com a idade da coitarca.

COITARCA (ANOS)	HPV DE ALTO RISCO ONCOGÊNICO					
	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%
≤ 18	14	36,8	24	63,2	38	69,0
> 18	11	64,7	6	35,3	17	31,0
TOTAL	25	45,5	30	54,5	55	100,0

FONTE: CEOC, 2010
 $X^2=3,68$ p=NS

Quanto ao número de parceiros, apesar de não ter atingido um valor estatístico, observou-se uma maior prevalência de DNA-HPV positivo entre as mulheres com maior número de parceiros que entre as mulheres com menos de três parceiros sexuais (Tabela 4).

Tabela 4 - Prevalência de positividade do HPV de alto risco oncogênico de acordo com o número de parceiros.

NÚMERO DE PARCEIROS	HPV DE ALTO RISCO ONCOGÊNICO					
	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%
< 3	15	39,5	23	60,5	38	69,0
≥ 3	10	58,8	7	41,2	17	31,0
TOTAL	25	45,5	30	54,5	55	100,0

FONTE: CEOC, 2010
 $X^2=1,77$ p=NS

Na tabela 5, ao contrário do esperado, foi encontrada uma maior detecção de HPV de alto risco nas mulheres com duas gestações ou menos (50%). Esta infecção esteve presente em 36,8% das pacientes com mais de duas gestações. Todavia, essa diferença não foi comprovada estatisticamente.

Tabela 5 - Prevalência de positividade do HPV de alto risco oncogênico de acordo com o número de gestações.

GESTAÇÕES	HPV DE ALTO RISCO ONCOGÊNICO					
	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%
≤ 2	18	50,0	18	50,0	36	65,5
> 2	7	36,8	12	63,2	19	34,5
TOTAL	25	45,5	30	54,5	55	100,0

FONTE: CEOC, 2010
 $X^2=0,87$ $p=NS$

Em relação ao hábito de fumar, as mulheres tabagistas apresentaram praticamente o dobro da prevalência (63,6%) de HPV de alto risco em relação às não tabagistas (33,3%). Essa diferença foi estatisticamente significativa, com $p= 0,027$ (Tabela 6).

Tabela 6 - Prevalência de positividade do HPV de alto risco oncogênico de acordo com o hábito de fumar.

TABAGISMO	HPV DE ALTO RISCO ONCOGÊNICO					
	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%
SIM	14	63,6	8	36,4	22	40,0
NÃO	11	33,3	22	66,7	33	60,0
TOTAL	25	45,5	30	54,5	55	100,0

FONTE: CEOC, 2010
 $X^2=4,89$ $p<0,05$

Quanto ao uso de anticoncepcional oral (ACO), verificou-se que mais da metade dos casos positivos para o HPV de alto risco eram entre as mulheres usuárias de ACO. Contudo, essa diferença não pôde ser confirmada pela falta de poder estatístico (Tabela 7).

Tabela 7 - Prevalência de positividade do HPV de alto risco oncogênico de acordo com o uso de anticoncepcional oral.

USO ACO	HPV DE ALTO RISCO ONCOGÊNICO					
	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%
SIM	19	51,4	18	48,6	37	67,3
NÃO	6	33,3	12	66,7	18	32,7
TOTAL	25	45,5	30	54,5	55	100,0

FONTE: CEOC, 2010
 $X^2=1,59$ $p=NS$

Das 55 pacientes, apenas 8 tinham história de DST, destas, sete apresentaram HPV de alto risco oncogênico. Sendo que, foram encontrados diferentes tipos de DST, por exemplo: sífilis, HPV anogenital, Chlamydia e Ureaplasma. Quando foi analisada a relação da presença do HPV-AR com DST, observou-se uma significância estatística importante, com $p=0,0097$. (Tabela 8).

Tabela 8 - Prevalência de positividade do HPV de alto risco oncogênico de acordo com história de doença sexualmente transmissível prévia ou atual.

DST	HPV DE ALTO RISCO ONCOGÊNICO					
	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%
NÃO	18	38,3	29	61,7	47	85,5
SIM	7	87,5	1	12,5	8	14,5
TOTAL	25	45,5	30	54,5	55	100,0

FONTE: CEOC, 2010
 $X^2=6,68$ $p<0,05$

Ao avaliar a presença de imunossupressão, só foram encontrados dois casos de infecção pelo HIV, os quais eram DNA-HPV positivos. Porém, a relação do HPV de alto risco oncogênico com o vírus HIV não se mostrou estatisticamente significativa, talvez pelo tamanho reduzido da amostra e dos poucos casos desta infecção (Tabela 9).

Tabela 9 - Prevalência de positividade do HPV de alto risco oncogênico de acordo com a presença da infecção pelo HIV.

HIV	HPV DE ALTO RISCO ONCOGÊNICO					
	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%
SIM	2	100,0	-	-	2	3,6
NÃO	23	43,4	30	56,6	53	96,4
TOTAL	25	45,5	30	54,5	55	100,0

FONTE: CEOC, 2010
 $X^2=2,49$ p=NS

No que se refere ao exame colpocitológico prévio das mulheres com diagnóstico histológico de LIEBG, apenas 16 mulheres (29,1%) tiveram o mesmo diagnóstico. Observamos também um subdiagnóstico em 58,2% das pacientes e um superdiagnóstico (LIEAG) de 12,7%. Como houve uma distribuição de poucos casos para cada resultado, esses dados não foram submetidos ao cálculo estatístico (Tabela 10).

Tabela 10 - Prevalência de positividade do HPV de alto risco oncogênico de acordo com o resultado da colpocitologia oncótica.

CP	HPV DE ALTO RISCO ONCOGÊNICO					
	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%
Negativo	3	17,6	14	82,4	17	30,9
Inflamatório	7	53,8	6	46,2	13	23,6
ASCUS	2	100,0	-	-	2	3,7
LIE de baixo grau	9	56,3	7	43,7	16	29,1
LIE de alto grau	4	57,1	3	42,9	7	12,7
TOTAL	25	45,5	30	54,5	55	100,0

FONTE: CEOC, 2010

Ao observar a tabela 11, podemos verificar uma correlação grande entre o resultado colposcópico de ZTA com alterações menores e o resultado histológico de LIEBG (87,3%).

Tabela 11 - Prevalência de positividade do HPV de alto risco oncogênico de acordo com os achados colposcópicos.

COLPOSCOPIA	HPV DE ALTO RISCO ONCOGÊNICO				TOTAL	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	n	%	n	%	n	%
Alterações menores	21	43,8	27	56,2	48	87,3
Alterações maiores	4	57,1	3	42,9	7	12,7
TOTAL	25	45,5	30	54,5	55	100,0

FONTE: CEOC, 2010
 $X^2=0,44$ p=NS

A maioria das LIEBG foi classificada como NIC I (87,3%). Não houve diferença estatística na prevalência do HPV entre NIC I (43,8%) e apenas alteração pelo HPV (57,1%) (Tabela 12).

Tabela 12 - Prevalência de positividade do HPV de alto risco oncogênico de acordo com o resultado anatomopatológico da biópsia.

HISTOLOGIA	HPV DE ALTO RISCO ONCOGÊNICO				TOTAL	
	POSITIVO		NEGATIVO			
	n	%	n	%	n	%
NIC I	21	43,8	27	56,2	48	87,3
HPV	4	57,1	3	42,9	7	12,7
TOTAL	25	45,5	30	54,5	55	100,0

FONTE: CEOC, 2010
 $X^2=0,44$ p=NS

6 DISCUSSÃO

A relação entre HPV e câncer cervical já está bem definida (CARVALHO MO, 2003; MUNOZ N, 2008; ZUR HAUSEN H, 1996; FRANCO EL, 1995). Porém, há uma variação considerável na literatura quanto à frequência de detecção do DNA-HPV entre mulheres com graus similares de NIC. Tal fato pode ser explicado pelas diferenças das populações avaliadas e pelos tipos de estudos, os quais possuem delineamentos variados, além da diferença da sensibilidade e especificidade dos testes adotados⁹. Dessa forma, observa-se uma grande variabilidade na prevalência do HPV-AR nas LIEBG com resultado histológico. Ordi *et al.*, 2003 encontraram 86%, Adam *et al.*, 2000 57,8%, Sanches *et al.*, 2002 encontraram 79%, semelhante aos resultados de Hernandez *et al.*, 2003 (79,4%). Borges *et al.*, 2004, por sua vez, observaram o vírus oncogênico em todos os dez casos estudados de LIEBG. Em nosso trabalho foi encontrada uma prevalência de 45,5 %, similar ao encontrado por Santos *et al.*, 2003, que foi de 41%. Gomes *et al.*, 2002, que também realizaram um estudo com diagnóstico histológico de LIEBG, no HU/UFSC, em 2002, obtiveram uma prevalência de 47%. Já, Cavalcanti *et al.*, 2000, encontraram uma taxa menor, com 16,9% de prevalência para esse tipo de vírus.

Diversos estudos demonstram que as lesões de baixo grau são mais prevalentes nas pacientes jovens (CARVALHO MO, 2003; ADAM E, *et al.*, 2000; HEMANDEZ-HEMANDEZ DM, *et al.*, 2003). Ao relacionar a infecção pelo HPV-AR com a idade, vários autores mostram uma prevalência maior do vírus em mulheres mais jovens, em geral, com menos de trinta anos (CARVALHO MO, 2003; DALSTEIN V, *et al.*, 2003; BEBY-DEFAUX A, *et al.*, 2004; CAVALCANTI SM, *et al.*, 2000; WOODMAN CBJ, *et al.*, 2001; CALLAGHAN J, *et al.*, 2001). Entretanto, com o avançar da mesma, apesar de haver um declínio dessa prevalência, as infecções pelo HPV tornam-se mais persistentes (ADAM E, *et al.*, 2000; DALSTEIN V, *et al.*, 2003; BEBY-DEFAUX A, *et al.*, 2004; SMITH EM, *et al.*, 2007; SHERMAN ME, 2002). Em nosso estudo, houve uma positividade de 50% para o HPV-AR nas mulheres mais jovens (≤ 30), enquanto que as pacientes na faixa etária acima de trinta anos, 40% delas tinham a infecção.

Estudos de coorte indicam que a maioria das infecções por HPV oncogênico é transitória e que a menor prevalência em idade mais avançada possa ser devido a uma imunidade adquirida ao vírus através de exposições anteriores³⁴. Dalstain *et al.*, 2003, sugerem que essa maior incidência de HPV-AR nas jovens se deve principalmente a novas aquisições do vírus através das relações sexuais ou a reativações de infecções pré-existentes.

E ainda, como foram encontradas algumas mulheres HPV negativas com citologia alterada, defendem a hipótese de que pode se tratar de infecções flutuantes, falsos negativos ou baixas concentrações do vírus que não foram detectadas. Woodman *et al.*, 2001, também confirmam essas hipóteses e acrescentam que não é possível distinguir entre essas alternativas.

Como o nosso estudo foi uma observação retrospectiva e transversal, em que apenas uma única amostra foi usada para caracterizar as mulheres com HPV-AR, isto pode significar apenas infecções transitórias, de curta duração, ou reativação de infecções latentes. E ainda, pode ter ocorrido falsos negativos devido a uma amostra inadequada, com baixos níveis do vírus, os quais foram indetectáveis ao teste de Captura Híbrida II.

Vários fatores sócio-demográficos e comportamentais são classicamente descritos como fatores de risco para o câncer de colo uterino. A maioria dos autores mostra significância ao comparar dados relativos à educação, demonstrando que o risco para lesões cervicais aumenta em mulheres com menor escolaridade (HEMANDEZ-HEMANDEZ DM, *et al.*, 2003; LEAL EAS, *et al.*, 2003; KHAN MJ, *et al.*, 2005). Leal *et al.*, 2003, sugerem que essa relação pode ser justificada pela falta de conhecimento quanto ao exame de Papanicolaou e seus benefícios, além de outros fatores de riscos associados ao baixo nível sócio-econômico. Todavia, Adam *et al.*, 2000, não encontraram associação entre o nível de educação e a infecção pelo HPV. Nós, no entanto, observamos que as mulheres com maior escolaridade tiveram uma prevalência maior de HPV-AR, que foi estatisticamente significativa (68,4% vs 33,3%). Contudo, este achado pode revelar a dificuldade de se analisar um dado isolado, uma vez que, poderia existir associação com outros fatores de risco.

Segundo Henandez *et al.*, 2003, o início precoce de atividade sexual está associado a infecções pelo HPV e lesões precursoras do câncer de colo. Brito *et al.*, 2000, acrescentam que o início precoce da atividade sexual pode aumentar a sensibilidade da cérvix aos efeitos de um agente sexualmente transmissível. Na nossa casuística, não foi observada diferença estatística quando comparamos a coitarca com idade \leq ou >18 anos.

A relação entre o número de parceiros sexuais e o risco de infecção pelo HPV para o desenvolvimento de lesões precursoras foi constatada por diversos autores (HEMANDEZ-HEMANDEZ DM, *et al.*, 2003; HO GY, *et al.*, 1998; LEAL EAS, *et al.*, 2003; BRITO NMB, 2000; FERRECCIO C, *et al.*, 2004). Ho *et al.*, 1998, demonstraram que as mulheres que tiveram quatro ou mais parceiros, num período de seis meses, apresentaram um risco quase 4 vezes maior de adquirir o vírus oncogênico quando comparadas às mulheres com três parceiros ou menos. Leal *et al.*, 2003, observaram maiores alterações do epitélio cervical em mulheres com oito ou mais parceiros sexuais, com uma prevalência 1,6 vezes maior quando

comparadas às mulheres com um só parceiro. Em nosso estudo, observamos uma taxa maior de HPV-AR naquelas mulheres que tiveram três ou mais parceiros na vida, porém, essa relação não foi estatisticamente significativa.

Grande parte da literatura mostra também forte associação entre múltiplas gestações e risco de infecções pelo HPV-AR, assim como, risco para câncer invasor do colo uterino (ADAM E, *et al.*, 2000; HEMANDEZ-HEMANDEZ DM, *et al.*, 2003; BEBY-DEFAUX A, *et al.*, 2004; STANLEY MA, 2001; SKEGG DC, 2002). Adam *et al.*, 2000, demonstraram que mulheres com três ou mais gestações foram consideradas como um fator de risco independente para a infecção pelo HPV. Henandez *et al.*, 2003, encontraram também resultados semelhantes, demonstrando que o número de gestações (três ou mais gestações prévias) foi o co-fator mais importante para a infecção pelo HPV e o desenvolvimento de NIC. Entretanto, Defaux *et al.*, 2004, encontraram uma significativa diminuição da prevalência de HPV-DNA nas mulheres com mais gestações prévias. Embora sem significado estatístico, este dado também foi observado em nossa amostra, em que mulheres com duas gestações ou menos apresentaram maior taxa do vírus, talvez em função da idade.

Como esperado, observamos uma maior prevalência significativa de HPV-AR (praticamente o dobro) entre as mulheres fumantes e ex-fumantes. O tabagismo é um dos mais importantes fatores de risco para o câncer cervical (BOCH FX, *et al.*, 2002; ADAM E, *et al.*, 2000; BEBY-DEFAUX A, *et al.*, 2004; LEAL EAS, *et al.*, 2003; MOORE TO, *et al.*, 2001). Moore *et al.*, 2001, sugerem que os componentes do cigarro, ao serem secretados pelo muco cervical, provocam uma ação imunossupressora local e/ou efeito carcinogênico direto na cérvix uterina. Defaux *et al.*, 2004, mostraram importante associação entre o uso do cigarro e a infecção pelo HPV, uma vez que, as mulheres fumantes tiveram uma prevalência de HPV quatro vezes maior que as não fumantes. Contudo, alguns dos autores não demonstraram relevância para o tabagismo como fator de risco para a doença (HEMANDEZ-HEMANDEZ DM, *et al.*, 2003; CAVALCANTI SM, 2000). Ao contrário, Ho *et al.*, 1998, consideraram como um fator de proteção contra infecções persistentes.

A relação entre o uso de contraceptivos orais (ACO) e o câncer de colo uterino não é consenso ainda. A maioria dos autores considera que o fator hormonal desempenha um papel de co-fator tanto para a infecção pelo HPV como para a progressão das lesões relacionadas ao vírus (CARVALHO MO, 2003; BEBY-DEFAUX A, *et al.*, 2004). Pesquisas mais recentes demonstram que o risco para essas lesões aumenta significativamente em usuárias de ACO por mais de cinco anos (SKEGG DC, 2002; MORENO V, *et al.*, 2002). Todavia, alguns autores descreveram que não houve correlação entre o uso de ACO com infecção pelo HPV e

suas manifestações (HEMANDEZ-HEMANDEZ DM, *et al.*, 2003; CAVALCANTI SM, *et al.*, 2000). No presente estudo, a prevalência do HPV-AR também não mostrou associação com o uso de ACO, apesar de uma maior taxa do vírus (51.4%) estar presente entre as usuárias de hormônio. Embora o HPV possua receptores estrogênicos é bem provável que a relação dos ACO com esta infecção e lesões cervicais esteja associada à concentração hormonal.

História de DST tem sido descrita como um grande fator de risco para lesões cervicais causadas pelo HPV 35. Cavalcanti *et al.*, 2000, ao estudarem prospectivamente mulheres brasileiras, relataram importante contribuição das DST na progressão dessas lesões, sugerindo que poderiam atuar como co-fatores na ativação dos mecanismos de transformação celular ou na diminuição da imunidade local do trato genital. E ainda, ao analisar diferentes doenças sexuais, constataram que *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* mostraram maior associação. Em nosso trabalho, foi observado também uma maior prevalência de HPV-AR nas pacientes com história de DST, com um importante valor estatístico. Defaux *et al.*, 2004, entretanto, não encontraram relação significativa entre HPV-AR e DST.

Pacientes com imunodeficiência, como as HIV positivas, têm taxas elevadas de infecção pelo HPV e são mais susceptíveis a desenvolver lesões cervicais de alto grau, visto que, há uma maior tendência em manter o DNA do HPV de forma persistente (CAVALCANTI SM, *et al.*, 2000; BRANCA M, *et al.*, 2004; KIRBY TO, *et al.*, 2004; STRICKLER HD, *et al.*, 2005). Branca *et al.*, 2004, sugerem que o risco aumentado para lesões de alto grau entre as mulheres com HIV é devido aos diferentes fatores de risco que essas mulheres estão expostas, aos efeitos diretos do HIV ou a interações moleculares entre o HIV e o HPV. Em nossa casuística, encontramos apenas duas pacientes infectadas pelo HIV, sendo que, as duas se apresentaram infectadas pelo HPV de alto risco oncogênico.

A evolução favorável das lesões de baixo grau depende de um manejo adequado. Para isto, é importante que métodos investigativos sejam confiáveis, a fim de diagnosticá-las em fases iniciais. Contudo, o exame citopatológico não é um método de rastreamento perfeito. Agorastos *et al.*, 2005, citam alguns dos problemas envolvidos, tais como limitações na cobertura da população, além de limitações técnicas em relação à amostra e erros laboratoriais no exame e na interpretação. Ainda acrescentam que muitos exames de citologia falsos positivos levam a procedimentos invasivos frequentes e desnecessários, já, resultados falsos negativos poderiam causar sérios danos para as mulheres. Em nosso estudo, observamos uma alta taxa de falsos negativos (sem ASCUS ou LIE) compreendendo 54,5% dos casos. Na colposcopia, no entanto, não houve falsos negativos, pois a maioria dos achados correspondia

à zona de alteração atípica com lesões menores. Deste modo, é importante enfatizar que o rastreamento citológico é somente uma parte da abordagem para o controle do câncer de colo uterino, devendo-se realizar, no mínimo, um bom exame especular associado ao uso de ácido acético e solução de lugol ou idealmente, ao colposcópico.

O manejo ideal das lesões intra-epiteliais de baixo grau ainda não é consenso, já que, grande parte delas regride sem tratamento, porém, uma outra parte pode persistir ou até progredir (COX JT, 2001; MEIJER CJ, *et al.*, 2000; MELNIKOW J, *et al.*, 1998; CUSCHIERI KS, e CUBIE HA, 2005), sendo que, a maioria desses estudos mostra que 80% dessas lesões irão regredir espontaneamente e 20% persistirão. Por isso, é essencial identificar quais são as lesões persistentes, uma vez que, são as de maior risco de progressão para uma lesão de alto grau (DALSTEIN V, *et al.*, 2003; SCHLECHT NF, *et al.*, 2001). Dessa forma, a utilização de técnicas para a detecção do DNA-HPV vem sendo proposta por diversos autores (CALLAGHAN J, *et al.*, 2001; SNIJDERS PJ, *et al.*, 2003; CUZICK J, *et al.*, 2003), visto que, esse teste tem mostrado elevada sensibilidade para detectar lesões de alto grau com alto valor preditivo negativo (ORDI J, *et al.*, 2003; SCHIFFMAN M, *et al.*, 2000; SARIAN L, *et al.*, 2003). Assim, o que se argumenta é que esse exame teria um papel importante nas populações com baixa prevalência de HPV e com baixo risco de câncer cervical, podendo ser associado ao exame citopatológico, ou mesmo, ser realizado sozinho (HALL S, *et al.*, 1996; AGORASTOS T, *et al.*, 2005).

Sherman *et al.*, 2003, mostraram que quando o resultado do teste combinado (citologia e HPV DNA) for negativo, o intervalo dos exames citopatológicos entre essas mulheres poderia ser mais longo. Ao passo que, se o teste combinado der positivo, este identificaria um pequeno grupo que precisaria de exame complementar com a colposcopia.

Diante destas evidências, seria útil associar o teste de DNA-HPV aos exames de rastreamento. Apesar de haver um aumento no custo, poderia resultar em melhoria da detecção das lesões cervicais, com consequente diminuição da incidência e mortalidade pelo câncer de colo uterino. Lembrando que, uma melhor orientação das mulheres por programas de educação sexual poderia potencialmente prevenir infecções pelo HPV e suas conseqüências.

Dessa forma, não há dúvidas que as LIEAG, sabidamente causadas pelo HPV-AR, devem ser tratadas. O grande dilema dos ginecologistas é se devem ou não tratar as LIEBG, já que regredem (80%), na grande maioria das vezes, num período de um ano. As lesões de baixo grau que irão evoluir para alto grau e câncer são as causadas pelo HPV-AR. Os resultados

deste trabalho mostram que os casos com possível risco de progressão não chegam a 50% e estes talvez sejam os que devam realmente ser tratados.

7 CONCLUSÕES

A prevalência do papilomavírus humano (HPV) de alto-risco oncogênico nas mulheres com lesões intra-epiteliais escamosas de baixo grau do colo uterino foi de 45,5%.

A detecção desse vírus oncogênico foi associada ao maior grau de escolaridade, ao tabagismo e à história de doença sexualmente transmissível.

Variáveis como a idade, a faixa etária em que ocorreu a coitarca, o número de parceiros, o número de gestações, o uso de anticoncepcionais orais e o estado de imunossupressão não mostraram relação com infecção pelo HPV de alto risco oncogênico.

REFERÊNCIAS

ADAM E, BERKOVA Z, DAXNEROVA Z, ICENOGLE J, REEVES WC, KAUFMAN RH. Papillomavirus detection: demographic and behavioral characteristics influencing the identification of cervical disease. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182(2):257-64.

AGORASTOS T, DINAS K, LLOVERAS B, DE SANJOSE S, KORNEGAY JR, BONTI H, *et al.*. Human papillomavirus testing for primary screening in women at low risk of developing cervical cancer. The Greek experience. *Gynecol Oncol* 2005;96(3):714-20.

BARTON, S.E.;MADDOX, P.H.; JENKINS, D.; EDWARDS, R.; CUZIK, J.; SINGER, A. Effect of cigarette smoking on cervical epithelial immunity: a mechanism for neoplastic change? *Lancet*, 2: 652-4, 2003.

BEBY-DEFAUX A, BOURGOIN A, RAGOT S, BATTANDIER D, LEMASSON JM, RENAUD O, *et al.*. Human papillomavirus infection of the cervix uteri in women attending a Health Examination Center of the French social security. *J Med Virol* 2004;73(2):262-8.

BORGES SCV, MELO VH, JUNIOR GM, ABRANCHES A, NETO JBL, TRIGUEIRO MC. Taxa de detecção do papilomavírus humano pela captura híbrida II, em mulheres com neoplasia intra-epitelial cervical. *RBGO* 2004;26(2):105-10.

BOSCH FX, LORINCZ A, MUNOZ N, MEIJER CJ, SHAH KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002;55(4):244-65.

BRANCA M, COSTA S, MARIANI L, SESTI F, AGAROSSO A, DI CARLO A, *et al.*. Assessment of risk factors and human papillomavirus (HPV) related pathogenetic mechanisms of CIN in HIV-positive and HIV-negative women. Study design and baseline data of the HPVPathogenISS study. *Eur J Gynaecol Oncol* 2004;25(6):689-98.

BRINTON, L.A. Current epidemiological studies-emerging hypotheses. In: Peto, R. & Hausen, H.Z. *Viral etiology of Cancer*. Cold Spring Harbor, N.Y., Cold Spring Harbor Laboratory, 1986.

BRITO NMB, MOREIRA SFS, FERREIRA MA, LOPES RV, BASTOS AAC. Aspectos epidemiológicos das neoplasias cervicais identificadas por colpocitologia oncótica. *Ver Para Med* 2000;14(1):42-6.

CALLAGHAN J, KARIM S, MORTLOCK S, WINTERT M, WOODWARD N. Hybrid capture as a means of detecting human papillomavirus DNA from liquid-based cytology specimens: a preliminary evaluation. *Br J Biomed Sci* 2001;58(3):184-9.

CARVALHO MO, ALMEIDA RW, LEITE FM, FELLOWS IB, TEIXEIRA MH, OLIVEIRA LH, *et al.*. Detection of human papillomavirus DNA by the hybrid capture assay. *Braz J Infect Dis* 2003;7(2):121-5.

CASTELLSAGUE, X.; MUNOZ, N. Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis- role of parity, oral contraceptives and tobacco smoking. *J Natl Cancer Inst Monog*, Bethesda, v. 31, p. 20-8, 2003.

CAVALCANTI SM, ZARDO LG, PASSOS MR, OLIVEIRA LH. Epidemiological aspects of human papillomavirus infection and cervical cancer in Brazil. *J Infect* 2000;40(1):80-7.

CEZARINO, E.R. Estudo colposcópico, histológico e histoquímico de lesões vaginais causadas pelo 5- Fluorouracil. Tese de Mestrado. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina, 1996.

CLARKE, E.A.; MORGAN, R.W.; NEWMAN, A.M. Smoking as a risk factor in cancer of the cervix: additional evidence from a case control study. *Amer. J. Epi-dem.*, 115: 59-62,2002.

CLARKSON, P.K.; CAMPION, M.J.; SINGER, A. Increased risk of cervical neoplasia in consorts of men with penile condyloma acuminata. *Lancet*, 1: 943-6,2002.

COX JT, SCHIFFMAN M, SOLOMON D. Prospective follow-up suggests similar risk of subsequent cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 among women with cervical

intraepithelial neoplasia grade 1 or negative colposcopy and directed biopsy. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188(6):1406-12.

COX JT. Management of atypical squamous cells of undetermined significance and lowgrade squamous intra-epithelial lesion by human papillomavirus testing. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2001;15(5):715-41.

CRAMER, D.W. Uterine cervix. In: Schottenfeld, D. & Fraumeni, J.F. *Cancer epidemiology and prevention*. Philadelphia, Saunders, 1982.

CUSCHIERI KS, CUBIE HA. The role of human papillomavirus testing in cervical screening. *J Clin Virol* 2005;32 Suppl 1:S34-42.

CUZICK J, SZAREWSKI A, CUBIE H, HULMAN G, KITCHENER H, LUESLEY D, *et al.*. Management of women who test positive for high-risk types of human papillomavirus: the HART study. *Lancet* 2003;362(9399):1871-6.

DALSTEIN V, RIETHMULLER D, PRETET JL, LE BAIL CARVAL K, SAUTIERE JL, CARBILLET JP, *et al.*. Persistence and load of high-risk HPV are predictors for development of high-grade cervical lesions: a longitudinal French cohort study. *Int J Cancer* 2003;106(3):396-403.

FEDERAÇÃO BRASILEIRA DAS SOCIEDADES DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA. Papilomavírus Humano (HPV): Diagnóstico e Tratamento. Artigo publicado em 11/09/2002. Disponível em: http://www.projetodiretrizes.org.br/projeto_diretrizes/079.pdf. Acessado em: 14/06/2010.

FERNANDES, A.P.M. Polimorfismo e níveis intralesionais de citocinas em lesões cervicais associadas à infecção pelo papilomavírus humano em mulheres com ou sem a infecção pelo HIV-1. [Tese]. Ribeirão Preto (SP): Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP; 2004.

FERRECCIO C, PRADO RB, LUZORO AV, AMPUERO SL, SNIJDERS PJ, MEIJER CJ, *et al.*. Population-based prevalence and age distribution of human papillomavirus among women in Santiago, Chile. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13(12):2271-6.

FRANCO EL. Cancer causes revisited: human papillomavirus and cervical neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 1995;87(11):779-80.

HALBE. H.W. Tratado de Ginecologia. 3 ed. São Paulo: Rocca, 2000, vol. 3.

HALL S, LORINCZ A, SHAH F, SHERMAN ME, ABBAS F, PAULL G, *et al.*. Human papillomavirus DNA detection in cervical specimens by hybrid capture: correlation with cytologic and histologic diagnoses of squamous intraepithelial lesions of the cervix. *Gynecol Oncol* 1996;62(3):353-9.

HARRIS, R.W.C. *et al.* Characteristics of women with dysplasia or carcinoma in situ of the cervix uteri. *Brit. J. Cancer*, 42: 359-69, 2000.

HELLBERG, D.; NILSSOM, S.; HALEY, N.J.; HOFFMAN, D.; WYNDER, E. Smoking and cervical intraepithelial neoplasia: nicotine and cotinine in serum and cervical mucus in smokers and nonsmokers. *Amer. J. Obstet. Gynec.*, 158: 910-3, 1998.

HENANDEZ-HENANDEZ DM, ORNELAS-BERNAL L, GUIDO-JIMENEZ M, APRESA-GARCIA T, ALVARADO-CABRERO I, SALCEDO-VARGAS M, *et al.*. Association between high-risk human papillomavirus DNA load and precursor lesions of cervical cancer in Mexican women. *Gynecol Oncol* 2003;90(2):310-7.

HILDESHEIN, A.; HERRERO, R.; CASTLE, P.E.; WACHOLDER, S.; BRATTI, M.C.; SHERMAN, M.E. *et al.* HPV co-factors related to the development of cervical cancer: results from a population-based study in Costa Rica. *Br J Cancer*, London, v. 84(9), p. 1219-26, 2001.

HO GY, BIERMAN R, BEARDSLEY L, CHANG CJ, BURK RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 1998;338(7):423-8.

HOWARD M, SELLORS J, KACZOROWSKI J. Optimizing the hybrid capture II human papillomavirus test to detect cervical intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol* 2002;100(5 Pt 1):972-80.

KHAN MJ, PARTRIDGE EE, WANG SS, SCHIFFMAN M. Socioeconomic status and the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 among oncogenic human papillomavirus DNApositive women with equivocal or mildly abnormal cytology. *Cancer* 2005.

KIRBY TO, ALLEN ME, ALVAREZ RD, HOESLEY CJ, HUH WK. High-risk human papillomavirus and cervical intraepithelial neoplasia at time of atypical squamous cells of undetermined significance cytologic results in a population with human immunodeficiency virus. *J Low Genit Tract Dis* 2004;8(4):298-303.

KUPPER, T.S.; FUHLBRIGGE, R.C. Immune surveillance in the skin: mechanisms and clinical consequences. *Nat Rev Immunol*, London, v. 4, p. 211-22, 2004.

LAVECCHIA, C.A. et al Dietary vitamin A and risk of invasive cervical cancer. *Int. J. Cancer*, 34: 319-24, 1984.

LEAL EAS, JUNIOR OSL, GUIMARÃES MH, VITORIANO MN, NASCIMENTO TL, COSTA OLN. Lesões precursoras do câncer de colo em mulheres adolescentes e adultas jovens do município de Rio Branco-Acre. *RBGO* 2003;25(2):81-6.

MCARDLE J.P. & MULLER, H.K. Quantitative assessment of Langerhans'cells in human cervical intraepithelial neoplasia and Wart virus infection. *Amer. J. Obstet. Gynec*, 154:509-15,1999.

MEIJER CJ, SNIJDERS PJ, VAN DEN BRULE AJ. Screening for cervical cancer: should we test for infection with high-risk HPV? *CMAJ* 2000;163(5):535-8.

MELNIKOW J, NUOVO J, WILLAN AR, CHAN BK, HOWELL LP. Natural history of cervical squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis. *Obstet Gynecol* 1998;92(4 Pt 2):727-35.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Estimativas da incidência e mortalidade por câncer no Brasil. Rio de Janeiro. 2010 [capturado 2010 mai 09]. Disponível em: www.inca.gov/estimativas.

MOORE TO, MOORE AY, CARRASCO D, VANDER STRATEN M, ARANY I, AU W, et al.. Human papillomavirus, smoking, and cancer. *J Cutan Med Surg* 2001;5(4):323 8.

MORENO V, BOSCH FX, MUNOZ N, MEIJER CJ, SHAH KV, WALBOOMERS JM, *et al.*. Effect of oral contraceptives on risk of cervical cancer in women with human papillomavirus infection: the IARC multicentric case-control study. *Lancet* 2002;359(9312):1085-92.

MUNOZ N, BOSCH FX, DE SANJOSE S, HERRERO R, CASTELLSAGUE X, SHAH KV, *et al.*. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003;348(6):518-27.

MUNOZ N. Human papillomavirus and cancer: the epidemiological evidence. *J Clin Virol* 2008;19(1-2):1-5.

MUNOZ, N.; FRANCESCHI, S.; BOSETTI, C.; MORENO, V.; HERRERO, R.; SMITH, J.S. *et al.* Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *Lancet*, London, v. 359 (9312), p. 1093-101, 2002.

NICOLAU, S.M. Diagnóstico da infecção genital por papilomavírus humano: relação entre a peniscopia e a histopatologia das lesões acetobranças da genitália masculina. Tese de Doutorado. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina, 1997.

NICOLLAU, S.M. Apoio em captura híbrida. Artigo publicado em 2004. Disponível em: <http://histeroscopia.med.br/index/node/57>. Acessado em: 14/07/2010.

OLIVEIRA LH, RODRIGUES EVM, LOPES APTAS, FERNANDEZ AP, CAVALCANTI SMB. HPV 16 detection in cervical lesions, physical state of viral DNA and changes in p53 gene. *Sao Paulo Med J* 2002;121(2):67-71.

ORDI J, PUIG-TINTORE LM, TORNE A, SANZ S, ESTEVE R, ROMAGOSA C, *et al.*. Contribution of high risk human papillomavirus testing to the management of premalignant and malignant lesions of the uterine cervix. *Med Clin (Barc)* 2003;121(12):441-5.

OYAKAWA, Nadyr. H.P.V. (Human Papillomavirus). Artigo publicado em 2010. Disponível em: <http://wcartier.net46.net/hpv.html>. Acessado em: 14/07/2010.

RAWLS, W. E. et al. Comparison of risk factors for cervical cancer in different populations. *Int. J. Cancer*, 37: 537-46, 2001.

SANTOS AL, DERCHAIN SF, MARTINS MR, SARIAN LO, MARTINEZ EZ, SYRJANEN KJ. Human papillomavirus viral load in predicting high-grade CIN in women with cervical smears showing only atypical squamous cells or low-grade squamous intraepithelial lesion. *Sao Paulo Med J* 2003;121(6):238-43.

SARIAN L, SANTOS ALF, DERCHAIN SFM, FIGUEIREDO PG, MORAIS SS. Carga viral do papilomavírus humano na predição da gravidade de lesões cervicais em mulheres com atipias celulares na colpocitologia oncótica. *RBGO* 2003;25(5):365-70.

SCHIFFMAN M, HERRERO R, HILDESHEIM A, SHERMAN ME, BRATTI M, WACHOLDER S, *et al.*. HPV DNA testing in cervical cancer screening: results from women in a high-risk province of Costa Rica. *JAMA* 2000;283(1):87-93.

SCHLECHT NF, KULAGA S, ROBITAILLE J, FERREIRA S, SANTOS M, MIYAMURA RA, *et al.*. Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. *JAMA* 2001;286(24):3106-14.

SHERMAN ME, LORINCZ AT, SCOTT DR, WACHOLDER S, CASTLE PE, GLASS AG, *et al.*. Baseline cytology, human papillomavirus testing, and risk for cervical neoplasia: a 10-year cohort analysis. *J Natl Cancer Inst* 2003;95(1):46-52.

SHERMAN ME, SCHIFFMAN M, COX JT. Effects of age and human papilloma viral load on colposcopy triage: data from the randomized Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion Triage Study (ALTS). *J Natl Cancer Inst* 2002;94(2):102-7.

SKEGG DC. Oral contraceptives, parity, and cervical cancer. *Lancet* 2002;359(9312):1080-1.

SMITH EM, JOHNSON SR, RITCHIE JM, FEDDERSEN D, WANG D, TUREK LP, *et al.*. Persistent HPV infection in postmenopausal age women. *Int J Gynaecol Obstet* 2007;87(2):131-7.

SNIJDERS PJ, VAN DEN BRULE AJ, MEIJER CJ. The clinical relevance of human papillomavirus testing: relationship between analytical and clinical sensitivity. *J Pathol* 2003;201(1):1-6.

SOLOMON D, DAVEY D, KURMAN R, MORIARTY A, O'CONNOR D, PREY M, *et al.*. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA* 2002;287(16):2114-9.

STANLEY MA. Human papillomavirus and cervical carcinogenesis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2001;15(5):663-76.

STRICKLER HD, BURK RD, FAZZARI M, ANASTOS K, MINKOFF H, MASSAD LS, *et al.*. Natural history and possible reactivation of human papillomavirus in human immunodeficiency virus-positive women. *J Natl Cancer Inst* 2005;97(8):577-86.

VESSEY, M.P. Epidemiology of cervical cancer: role of hormonal factors, cigarette smoking and occupation. In: Peto, R. & Hausen, H.Z. *Viral etiology of cancer*. Cold Spring Harbor, N.Y., Cold Spring Harbor Laboratory, 2006

VILLA, L.L. & LOPES, A. Human Papillomavirus DNA sequences in penile carcinomas in Brazil. *Int. J. Cancer*, **37**: 853-5,1996.

WALKER P, DEXEUS S, DE PALO G, BARRASSO R, CAMPION M, GIRARDI F, *et al.*. International terminology of colposcopy: an updated report from the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy. *Obstet Gynecol* 2003;101(1):175-7.

WOODMAN CBJ, COLLINS S, WINTER H, BAILEY A, ELLIS J, PRIOR P, *et al.*. Natural history of cervical human papillomavirus infection in young woman: a longitudinal cohort study. *Lancet* 2001;357:1831-36.

ZUR HAUSEN H. Papillomavirus infections--a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta* 1996;1288(2):F55-78.

ANEXO A



CARTA DE ANUÊNCIA

Autorizo a realização da pesquisa intitulada **“AVALIAÇÃO DO HPV DE ALTO RISCO ONCOGÊNICO E DOS SEUS FATORES DE RISCO NAS LESÕES INTRA-EPITELIAIS ESCAMOSAS DE BAIXO GRAU DO COLO UTERINO”**, tendo como pesquisador responsável **GEORGE MACIEL CAVALCANTI**, biomédico - CRBM-1116, CPF: 029.555.514-90 e RG: 5.417.824 SSP-PE. A coleta de dados ocorrerá, após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, no período de outubro a novembro de 2010 no Centro de Oncologia de Caruaru-CEOC. O objetivo desta pesquisa é avaliar a prevalência do Papilomavírus humano de alto risco oncogênico nas lesões intra-epiteliais escamosas de baixo grau do colo uterino no período de outubro de 2009 a setembro de 2010. Foi salientado, pelo pesquisador responsável, que as identidades das pacientes serão mantidas em sigilo e apenas os resultados da pesquisa serão divulgados em meios científicos.

Caruaru, 20 de agosto de 2010

Atenciosamente,



Dr. Eriberto de Oliveira Marques
Diretor Geral

Avenida Portugal, 1387 - Universitário
Caruaru - PE, 55016-400
(081) 3721-8231

ANEXO B



AUTARQUIA EDUCACIONAL DO BELO JARDIM

CNPJ: 11.464.153/0001-06
Rodovia – PE 166, Km 5, Belo Jardim – PE
C.P.: 99 – CEP: 55150-000
Fones: +55 81 3726 1800/1073/1929
www.aeb.edu.br



CEP/AEB

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS DA AEB

Registro SIPAR - MS Nº. 25000159504/2007- 41 em 12/09/2007

Parecer Nº. **69/2010 - CEP/AEB.**

Pesquisador Responsável: George Maciel Cavalcanti.

Tipo de Pesquisa: estudo retrospectivo, com análise de prontuários e abordagem qualitativa e quantitativa.

Registro do CEP: 58_2010 Processo Nº. 58_2010

Instituição onde será desenvolvido: Centro de Oncologia de Caruaru –CEOC, município de Caruaru – PE.

Grupo: III

Situação: **APROVADO**

O Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Autarquia Educacional de Belo Jardim analisou na sua sessão plenária realizada no dia 30/09/2010, o protocolo referente ao projeto de pesquisa: “AVALIAÇÃO DO HPV DE ALTO RISCO ONCOGÊNICO E DOS SEUS FATORES DE RISCO NAS LESÕES INTRA-EPITELIAIS ESCAMOSAS DE BAIXO GRAU DO COLO UTERINO”, tendo como pesquisador responsável George Maciel Cavalcanti e cujo objetivo é “avaliar a prevalência do Papilomavírus humano de alto risco oncogênico nas lesões intra-epiteliais escamosas de baixo grau do colo uterino, no período de outubro de 2009 a setembro de 2010.”

Tendo apresentado pendências na época de sua primeira avaliação, o mesmo foi reestruturado em tempo hábil de forma a supri-las, adequada e satisfatoriamente, de acordo com as exigências das Resoluções que regem este Comitê.

Considerando a importância social e científica que o projeto apresenta em conformidade com os requisitos éticos da pesquisa com seres humanos preconizados pela Resolução 196/96 e suas complementares do Conselho Nacional de Saúde/MS, somos de parecer favorável à sua realização classificando-o como **APROVADO**.

Solicitamos ao pesquisador responsável o envio a este CEP, de relatórios parciais sempre quando houver alguma alteração no projeto, bem como o relatório final gravado em CD-ROM.

Belo Jardim, 01 de outubro de 2010.

Alexandra Waleska de Oliveira Aguiar
Vice-Coordenadora do CEP/AEB



FACULDADE DE FORMAÇÃO DE PROFESSORES DE BELO JARDIM
Plenificação – Portaria MEC Nº 476 de 19/06/1985
Reconhecimento Pleno – Portaria MEC Nº 1.329 de 05/09/1994,
publicada no D.O.U. em 06/09/1994.



FACULDADE DE ENFERMAGEM DE BELO JARDIM
Criada pelo Decreto Municipal nº029/2002
Curso Autorizado pelo Parecer CEE/PE nº 133/2003
Homologado pela Portaria SEDUC nº 128/2004



COLÉGIO DE APLICAÇÃO DE BELO JARDIM
Ensino Fundamental – 5ª a 8ª e Ensino Médio
Cadastro Escolar Nº P.402.111 – D.O. 06.02.91

APÊNDICE

Protocolo de pesquisa

AVALIAÇÃO DO HPV DE ALTO RISCO ONCOGÊNICO E DOS SEUS FATORES DE RISCO NAS LESÕES INTRA-EPITELIAIS ESCAMOSAS DE BAIXO GRAU DO COLO UTERINO

Data:

Nome:

Idade:

Profissão:

Cor:

Escolaridade:

analfabeta

1º grau incompleto

1º grau completo

2º grau incompleto

2º grau completo

Superior incompleto

Superior completo

Mestrado

Doutorado

Gesta:

Para:

Aborto:

Gravidez ectópica:

Coitarca:

Citologia Oncótica:

Negativa

Inflamatória

ASCUS

LIE baixo grau

LIE alto grau

Colposcopia:

Achados colposcópicos normais

ZTA com alterações menores . Especificar:

ZTA com alterações maiores . Especificar:

Biópsia de colo uterino:

Captura Híbrida:

Grupo A

Grupo B

Carga Viral:

Carga Viral:

Fatores de risco:

- Tabagismo:

Fumante

Não fumante

- Anticoncepcional:

Oral

Injetável

Qual:

Tempo de uso:

- DST:

prévia Qual:

atual Qual:

- TRH:

Qual:

Forma:

Tempo de uso:

