



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

BENEDITO ANTÔNIO PINHEIRO DOS PRAZERES

**PREVALÊNCIA DE HPV EM MATERIAL CÉRVICO-UTERINO DE
MULHERES DE TOMÉ-AÇÚ – PA.**

BELÉM
2011

BENEDITO ANTÔNIO PINHEIRO DOS PRAZERES

**PREVALÊNCIA DE HPV EM MATERIAL CÉRVICO-UTERINO DE
MULHERES DE TOMÉ-AÇÚ – PA**

Dissertação de Mestrado apresentada a banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, do Núcleo de Medicina Tropical, da Universidade Federal do Pará, para obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais.

Orientador: Prof^o Dr. Evander de Jesus Oliveira Batista.

Co-orientadora :
Prof^a Dr^a Maisa Silva Sousa.

BELÉM
2011

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP) –
Biblioteca do Núcleo de Medicina Tropical, Belém (PA)

Prazeres, Benedito Antônio Pinheiro dos

Prevalência de HPV em material cérvico-uterino de mulheres de Tomé-Açu – PA / Benedito Antônio Pinheiro dos Prazeres; orientador, Evander de Jesus Oliveira Batista; co-orientador, Maisa Silva Sousa. – 2010.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará. Núcleo de Medicina Tropical. Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, Belém, 2010.

1. Papilomavírus. 2. Doenças do vírus do papiloma – Tomé-Açu (PA). 3. Colo uterino – Doenças. I. Batista, Evander de Jesus Oliveira, orient. II. Sousa, Maisa Silva, co-orient. III. Título.

CDD: 22. ed. 616.99266098115

Ficha catalográfica elaborada por Valdenira de Jesus NMT/UFPA



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

BENEDITO ANTÔNIO PINHEIRO DOS PRAZERES

**PREVALÊNCIA DE HPV EM MATERIAL CÉRVICO-UTERINO DE MULHERES
DE TOMÉ-AÇÚ – PA**

Dissertação de Mestrado apresentada para obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais

Aprovada em:
Conceito:

Banca Examinadora

Prof. Dr. Evander de Jesus Oliveira Batista
Orientador/UFPA

Prof^ª Dr^ª Maisa Silva Sousa
Co-orientadora/UFPA

Prof^º Dr. Lacy Cardoso de Brito Junior
Membro/UFPA

Prof^º Dr. André Salim Khayat
Membro/UFPA

Prof^º Dr. José Ricardo Dos Santos Vieira
Membro/UFPA

Para mamãe, papai e meus filhos
Alegria de meu viver.

AGRADECIMENTOS

Meu agradecimento ao meu Deus misericordioso que todos os dias opera maravilhas em minha vida, e também aqueles que estiveram presentes em algum momento desta jornada, que ajudaram direta e indiretamente na realização desta pesquisa. Primeiramente ao Prof^o Dr^o Evander de Jesus Oliveira Batista, meu orientador, pela oportunidade de participar deste projeto, por sua paciência, amizade e dedicação.

À Dra. Maisa Sousa, do laboratório de Biologia Molecular do Núcleo de Medicina Tropical por seu comprometimento e dedicação, fundamentais para a concretização deste projeto, e também pela co-orientação deste projeto.

À Acadêmica de Farmácia Marília Lima da Conceição, pela ajuda na extração do DNA do material usado nesta pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Patologia das Doenças Tropicais, que possibilitou o desenvolvimento desta pesquisa. A equipe do Laboratório de Citopatologia, especialmente as Biomédicas Carla e Gleiciane pelo companheirismo

A Professora Mihoko Tsutsumi, que sempre me incentivou e me mostrou com seu exemplo que sou capaz de vencer e superar todas as dificuldades.

A equipe do Laboratório de Análises Clínicas que sempre colaborou com todas as minhas necessidades. Aos meus pais pela compreensão, pelo carinho, pelas orações e pelo apoio em todos os momentos de minha vida, a quem devo tudo que sou e sem os quais nada disso jamais seria possível; obrigado pela formação, pelos valores e por ser meu porto seguro.

RESUMO

O Papilomavirus humano infecta as células basais do epitélio estratificado, induzindo a lesões proliferativas benignas na pele ou mucosas. As infecções apresentam distribuição universal, no entanto muitos estudos têm demonstrado a forte associação da infecção por espécies de alto risco com casos de câncer cervical. No Brasil, esse tipo de câncer é o segundo tipo mais comum entre as mulheres, sendo que as regiões norte e nordeste do país apresentam a maior incidência. O presente estudo visou determinar a prevalência da infecção em um grupo de mulheres rastreadas para o câncer cervical. No período de julho de 2008 a março de 2009 foram coletadas amostras cervicais de 144 mulheres atendidas no Laboratório de Citopatologia do Hospital Amazônia de Quatro Bocas, Tomé – Açu, estado do Pará. Os dados obtidos foram correlacionados com a infecção através do teste do qui-quadrado. A Prevalência do HPV foi de 6,94%, a idade variou em 18 -28 anos, 76 pacientes apresentaram quadro inflamatório, ou seja, 52,05%, enquanto que 60 pacientes não apresentaram alteração, com 41,09% do total. Dentre os esfregaços com alterações citológicas, ASC-US foi encontrado na maioria dos casos, (6/10), seguido de LSIL (2/10), e ASC-H (1/10), e HSIL (1/10). A infecção pelo HPV mostrou associação estatisticamente significativa com a PCR, faixa etária e citomorfologia. A prevalência encontrada no estudo corrobora com outros achados descritos na literatura. A predominância da infecção em mulheres com citologia anormal reforça a idéia de que a infecção é, em sua maioria, assintomática e que o método de Papanicolau é menos eficiente na detecção da infecção em relação às técnicas de biologia molecular.

PALAVRAS-CHAVE: Papilomavirus humano. Lesão intraepitelial cervical. Citologia. PCR

ABSTRACT

The human papillomavirus (HPV) infects basal of stratified epithelium and develop proliferative benign lesions in skin or mucous. The infection has a universal distribution however many studies have demonstrated a strong association of infections by high risk species in cases of cervical cancer. In Brazil, this type of cancer is the second most common among women, while the north and northeast region of this country have the highest incidence. Therefore, this study has as focus the determination of infection prevalence in a group of women screened to cervical cancer. During the period of July 2008 to March 2009 were collected cervical samples from 144 women received at Laboratório de Citopatologia of Hospital Amazônia from Quatro Bocas, Tomé-Açú, Pará. All women were informed about the purpose of that research and then signed the Consent Form and answered the epidemiological questionnaire. The data obtained from the questionnaire correlated with the infection through the testing qui - quadradot. The HPV prevalence was 6,94% and the majority age was between 18-28 years. Samples from 76 patients showed inflammatory aspect (52,02%) and 60 patients did not showed any change (41,09%). Among smears with cytological ASC-US in the most of cases (6/10) followed by LSIL (2/10), and ASC-H (1/10) and HSIL (1/10). The HPV infection is statistically significant correlated PCR-HPV test with the age group, and cytomorphology.

Prevalence found in this study corroborants with other findings reported in the literature. The predominance of infection in women with abnormal cytology strengthens the concept that infection is, in most of cases, asymptomatic, and the Pap smear method is lesser efficient to detect infection than techniques of molecular biology .

Keywords: Human papillomavirus. Cervical intraepithelial lesion. Cytology. PCR

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	– Frequência do exame Citomorfológico e percentual de PCR-HPV, no distrito de Quatro Bocas, período: julho de 2008 a março 2008-2009.....	35
Tabela 02	– Frequência e percentual das atípicas citológicas encontradas nas pacientes, no distrito de Quatro Bocas, período : julho de 2008 a março de 2009.....	35
Tabela 03	– Relação PCR-HPV e escolaridade das pacientes, no distrito de Quatro Bocas, período: julho de 2008 a março de 2009.....	36
Tabela 04	– Relação PCR-HPV e faixa etária das pacientes, no distrito de Quatro Bocas, período: julho de 2008 a março de 2009.	36
Tabela 05	– Relação PCR-HPV com as atividades desempenhadas pelas pacientes, no distrito de Quatro Bocas, período: julho de 2008 a março de 2009.....	37
Tabela 06	– Relação PCR-HPV e o número de gestações, no distrito de Quatro Bocas, período: julho de 2008 a março de 2009.....	38
Tabela 07	– Relação PCR-HPV e o número de filhos das pacientes, no distrito de Quatro Bocas, período: julho de 2008 a março de 2009.	38
Tabela 08	– Relação PCR- HPV e número de partos normais, no distrito de Quatro Bocas, período: julho de 2008 a março de 2009.....	39
Tabela 09	– Relação PCR-HPV e número de abortos, no distrito de Quatro Bocas, no período: julho de 2008 a março de 2009.....	40
Tabela 10	– Relação PCR-HPV e o número de parceiros, no distrito de Quatro Bocas, período: julho de 2008 a março de 2009.	40
Tabela 11	– Relação PCR-HPV e faixa etária de iniciação sexual das pacientes, no distrito de Quatro Bocas, período: julho de 2008 a março de 2009.....	41

LISTA DE FIGURAS

Figura – 1	Genoma do HPV – Circular.....	16
Figura – 2	Genoma do HPV – Linear.....	16
Figura – 3	Coilócito.....	25
Figura – 4	Distribuição na lâmina dos materiais coletados da ectocérvice e endocérvice.....	30
Figura – 5	Ciclo reprodutivo do HPV no epitélio.....	31
Figura – 6	Perfil eletroforilico do fragmento de 120pb amplificado do éxon 1 do gene globina (PM – Peso Molecular de 100pb).....	33

LISTA DE ABREVIATURAS

ASC-H	Atípia de Células Escamosas, Sem Excluir HSIL.
ASC-US	Atípia de Células Escamosas de Significado Indeterminado
DNA	Acido Desoxirribonucléico
DST	Doenças Sexualmente Transmissíveis
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana.
HPV	Papilomavírus Humano
HSIL	Lesão Intra-epitelial Escamosa de Alto Grau
IARC	International Agency for Research on Cancer
ICTV	International Committee on Taxonomy of Viruses
INCA	Instituto Nacional do Câncer
JEC	Junção Escamo Colunar
LSIL	Lesão Intra-epitelial Escamosa de Baixo Grau
MS	Ministério da Saúde.
NIC	Neoplasia Intra-epitelial Cervical
OMS	Organização Mundial de Saúde
PA	Pará
PCCU	Prevenção do Câncer Cérvico-Uterino
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
UFPA	Universidade Federal do Pará

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
1.1	CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	13
1.2	HISTÓRICO DO PAPILOMA VÍRUS HUMANO.....	14
1.3	ALTERAÇÕES CELULARES ASSOCIADAS AO HPV.....	19
1.4	EPIDEMIOLOGIA.....	22
2	JUSTIFICATIVA.....	27
3	OBJETIVO GERAL.....	28
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	28
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
4.1	TIPO DE ESTUDO.....	29
4.2	POPULAÇÃO EXAMINADA.....	29
4.3	COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS.....	29
4.4	MÉTODO DE BIOLOGIA MOLECULAR.....	31
4.4.1	Extração de DNA.....	31
4.4.2	Reação em Cadeia de Polimerase (PCR).....	32
4.4.3	Eletroforese.....	33
4.5	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	33
5	RESULTADOS.....	35
5.1	ASSOCIAÇÃO ENTRE O RESULTADO DO EXAME DE CITOMORFOLOGIA E O RESULTADO DO EXAME PCR-HPV.....	35
5.2	ASSOCIAÇÃO ENTRE O RESULTADO DO EXAME DE PCR E OS FATORES DE RISCO.....	36
5.2.1	Escolaridade.....	36
5.2.2	Faixa etária.....	37
5.2.3	Tipo de atividade profissional.....	37
5.2.4	Número de gestações.....	38
5.2.5	Número de filhos.....	39
5.2.6	Número de partos normais.....	39
5.2.7	Número de abortos.....	40
5.2.8	Número de parceiros.....	41
5.2.9	Faixa idade de início da atividade sexual.....	41

6	DISCUSSÃO.....	43
7	CONCLUSÃO.....	47
	Referências.....	48
	ANEXOS.....	53

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Conhecidas desde a antiguidade, as infecções genitais por papilomavírus humano (HPV) começaram a chamar a atenção a partir do ano de 1980, quando as lesões virais foram correlacionadas com o câncer de colo uterino (TULIO et al, 2007).

O Câncer do colo uterino é o segundo tipo de câncer mais comum em mulheres no mundo, atualmente é responsável por cerca de 500.000 novos casos anuais, essas infecções são responsáveis por 200.000 mortes ao ano, dos quais 80% ocorrem em países em desenvolvimento, sendo comprovada pouca frequência antes dos 20 anos de idade.

No Brasil as mortes por câncer de colo uterino representaram 7,22% do total de mortes, segundo localização primária do tumor, entre os anos de 1995 a 1999, o que colocou este tipo câncer em segundo lugar como responsável por óbitos em mulheres no país. Em 2003, a Região Norte apresentou a maior incidência bruta de óbitos (BRASIL, 2003). O Estado do Pará apresentou uma taxa estimada de 21,78 casos de câncer de colo de útero por 100.000 mulheres segundo localização primária, para o ano de 2008 (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2008).

O HPV é considerado como o principal fator de risco para neoplasias intra-epiteliais cervicais (NICs) e câncer cervical. Entre os mais de 100 espécies de HPV identificados, nem todos são oncogênico (KOUTSKY; KIVIAT, 1999). No entanto, em 99,7% dos casos de carcinomas cervicais há presença de um ou mais dos tipos de HPV de alto risco ou oncogênicos: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 (OKADA et al, 2005). Outros fatores de risco associados ao câncer uterino são: início precoce da vida sexual, número de parceiros sexuais, tabagismo, baixo nível sócio-econômico (SCHIFFMAN et al, 2003) e uso de contraceptivos orais (HILDESHEIN et al, 1994).

A Agência Internacional para Pesquisa do Câncer - IARC (1995) identificou, a partir de 04 (quatro) estudos caso controle, evidências suficientes para classificar os tipos 16 e 18 de HPV como carcinógenos humanos, mas a evidência foi limitada ou inadequada para outros tipos. Desde então, foram realizados estudos caso controle em outras populações, usando protocolos similares de detecção de DNA do vírus HPV, formando a base para uma classificação epidemiológica dos tipos de HPV associados ao câncer cervical e permitindo a comparação com a classificação filogenética, informação essencial para o planejamento da prevenção desta infecção por vacina e para os programas de classificação baseados em testes de HPV.

O método mais utilizado para prevenção do câncer cervical baseia-se no exame de Papanicolau. Entretanto, nas últimas décadas, vários estudos têm apontado para índices não-ideais de sensibilidade, quando usado este método como única forma de acompanhamento de mulheres com células atípicas (ASCs). Para solucionar este tipo de inconveniente, recentemente foi criada a citologia de base líquida, objetivando maximizar a sensibilidade do teste citopatológico e permitir a realização de testes biomoleculares a partir da mesma amostra coletada para análise morfológica.

A introdução desta nova metodologia já mostrou sucesso na diminuição dos casos de câncer no colo uterino em muitos países (FRANCO et al, 2001). Ainda assim, este método, tem grandes limitações quando associado à detecção precisa de casos de HPV, principalmente em decorrência de sua baixa sensibilidade em relação às lesões assintomáticas e sub-clínicas (CASTLE et al, 2002).

O uso de técnicas moleculares, como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), está permitindo identificar infecções assintomáticas pelo HPV baseada na prevalência do DNA-HPV em diferentes populações femininas no mundo, cuja prevalência está entre 30 a 50% (OKADA, 2005).

1.2 HISTÓRICO DO PAPILOMA VÍRUS HUMANO

As verrugas genitais são conhecidas e descritas há milênios, já tendo sido referidas por gregos e romanos. A rápida disseminação da sífilis na Europa, durante o final do século XV, renovou o interesse pelas doenças venéreas. Unter (apud MEISELS,1983) ao descrever as verrugas genitais relacionou com sífilis, não distinguindo o condiloma acuminado do condiloma lato, lesão pápulo-verrucosa presente na sífilis secundária. Posteriormente as verrugas genitais passaram a ser relacionadas à gonorréia. Tal ideia foi contestada pela observação de verrugas genitais em pacientes sem história de gonorréia, e reforçada a partir do isolamento da *Neisseria gonorrhoeae* em 1879, mostrando que mais da metade dos pacientes com verrugas genitais não estavam infectadas pela bactéria (KOSS et al, 1989).

No século XIX, acreditava-se que tais lesões eram causadas por irritação do epitélio por descargas genitais, sujeira e outros agentes, o que foi aceito até o início do século XX. Geny (apud ORIEL,1993), tentaram relacionar as verrugas genitais com as não genitais – a chamada “teoria unitária” – devido às semelhanças histológicas e à evidência clínica de que pacientes com verrugas genitais muitas vezes apresentavam verrugas não genitais. Além

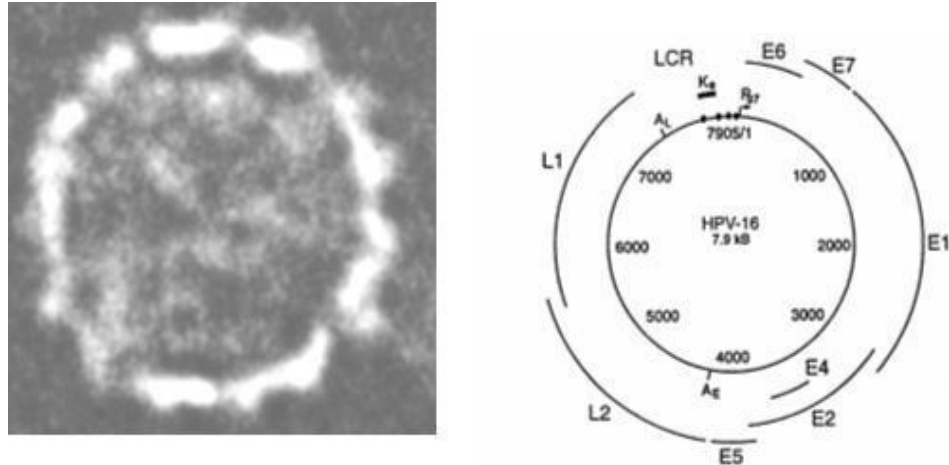
disso, experimentalmente, extratos de verruga peniana foram inoculados na pele de outras áreas do corpo, ocasionando o desenvolvimento, nos sítios inoculados, de verrugas planas ou comuns. Tais experimentos favoreceram o estabelecimento da etiologia viral para as verrugas. Essas discussões não levaram em consideração a alta frequência da transmissão sexual das verrugas genitais, diferentemente dos outros tipos de verrugas (GAYA, 1996).

A etiologia virótica das verrugas não genitais foi comprovada por vários autores a partir de 1949, através da identificação de partículas viróticas esféricas intranucleares nas camadas mais superficiais da epiderme, com auxílio da microscopia eletrônica (ME). Poucos estudos, contudo, haviam sido feitos nas verrugas genitais. As informações obtidas através da ME eram conflitantes, sendo a etiologia virótica incerta, até que Oriol; Almeida (1970), identificaram partículas viróticas esféricas intranucleares, semelhantes às da verruga vulvar em 13 dentre 25 verrugas genitais examinadas. Devido à pequena quantidade de vírus obtida, não foi possível fazer medições precisas, mas o padrão de distribuição intranuclear e o tamanho aproximado das partículas sugeriam tratar-se do HPV. Somente em 1978, conseguiu-se definir a presença de partículas morfolologicamente idênticas ao HPV em células infectadas, a partir do estudo de esfregaços e cortes histológicos de lesões condilomatosas. A confirmação da presença do HPV ocorreu em 1980 através da identificação de antígenos de peroxidase-antiperoxidase (GAYA, 1996).

Embora a etiologia específica do condiloma tenha sido esclarecida há pouco tempo, o quadro hispatológico já foi descrito há décadas, através das alterações arquiteturais e citológicas, estas últimas caracterizadas pela atipia coilocitótica (vacuolização perinuclear acompanhada de hiper cromasia e aumento do volume nuclear) (CARVAHO et al, 2005).

O HPV humano pertence à família Papillomaviridae e possui a capacidade de provocar lesões de pele ou mucosa, as quais mostram um crescimento limitado e frequentemente regredem espontaneamente (BRASIL, 2007). Quanto às características genéticas, o papilomavirus humano possui um material genético representado por DNA de fita dupla, circular, envolvido por um capsídeo protéico de formato icosaédrico com 20 facetas e não possui envelope lipídico.

Figura 1 - Genoma do HPV - Circular

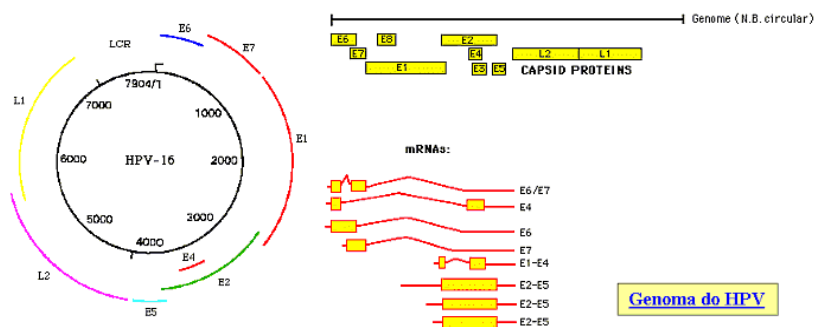


Fonte: www.sppv.org

De acordo com sua associação com o desenvolvimento de câncer os HPV's podem se subdividir em dois grupos: O HPV de baixo risco e os HPV de alto risco. Os HPV de baixo risco causam vários tipos de lesões benignas, como verrugas, papiloma laríngeo e tumores ano-genitais, pode ocorrer sintomatologia como prurido e dores. Os HPV de alto risco, por sua vez, também podem provocar lesões benignas em mucosas, sendo, porém estes tipos carcinogênicos, principalmente os associados ao câncer do colo do útero (HOU et al, 2002; OZBUN, 2002).

O genoma do HPV é composto de três regiões: a região não codificante – LCR (Long Control Region) – que contém a origem da replicação (ORI) e a maioria dos promotores de transcrição; a região precoce, composta por genes precoces (Early) – destaque E1, E2, E6, e E7; envolvidos na replicação do genoma e transformação celular e a região tardia, que contém dois genes tardios (Late) – L1 e L2, que codificam proteínas do capsídeo (TERHUNE et al, 2005).

Figura 2 - Genoma do HPV - Linear



Fonte: www.sppv.org

Inúmeros pesquisadores têm especulado o fato da integração do DNA do HPV interferir no controle da manifestação dos genes E6 e E7, já que os produtos dos genes E6 e E7 tem a capacidade de se ligar às proteínas reguladoras do ciclo celular e desativá-las. Algumas hipóteses sugerem que a manifestação descontrolada desses genes virais contribui para ocorrência de outros eventos celulares com a transformação maligna (PAPILOMAVÍRUS, 2008).

A transformação celular pelo papilomavirus humano de alto risco consiste em alteração do ciclo normal de divisão celular, inativando produtos de genes que controlam o ciclo celular, principalmente as proteínas p53 e p105Rb (PARK; ANDROPHY, 2002; FEHRMANN et al, 2005).

Na transformação celular a proteína E6 degrada a proteína celular p53, ao passo que a E7 vai inibir a p105Rb, estimulando e facilitando, assim, ao surgimento dos papilomas (PARK; ANDROPHY, 2002; FEHRMANN et al, 2005). Entretanto, no que se refere ao HPV 18, a proteína E4 parece desempenhar o papel de interromper a divisão celular na transição da fase G2 para M. Todavia, a sua função moduladora ainda se encontra pouco caracterizada (NAKAHARA et al, 2002).

Outro passo essencial na transformação celular é a ação da telomerase celular que parece estar relacionada com a imortalização dos queratinócitos. Esta imortalização é necessária para a eficiência do ciclo de replicação, pois os altos níveis de divisão celular induzidos pelo vírus conduzem ao desgaste do telômeros dos cromossomos celulares. (LEE et al, 2002; PARK; ANDROPHY, 2002). Entretanto, apesar de todos os HPVs causarem alterações proliferativas, são os tipos portadores das oncoproteínas E6 e E7 capazes de eventualmente, desempenharem um papel central na geração e progressão de tumores malignos (LEE et al, 2002).

Os Papilomavirus humano infectam o epitélio, as células da camada mais inferior designada de estrato basal, composto por células indiferenciadas, com grande atividade mitótica geram as demais células dos estratos superiores, ocorre após eventuais micro abrasões ou ferimentos, o genoma viral é liberado no interior da célula e se dirige ao núcleo, onde inicia a síntese das proteínas precoces E1 e E2. Seguidamente à ação destas proteínas, dá-se à replicação do genoma, por ação das proteínas E1 e E2, até obter 20 a 100 cópias, e é conhecida por fase de estabelecimento (HUBERT; LAIMINIS, 2002; OZBUN, 2002).

Quando o vírus penetra na célula inicia-se a fase de manutenção, igualmente no estrato basal. Porém, agora o DNA viral replica-se somente quando o DNA celular o faz, na

proporção de 1:1, Deste modo, o vírus garante que o número de cópias permaneça aproximadamente igual nas células-filhas.

Por outro lado, a expressão dos genes precoces E6 e E7 conduz à transformação celular e a célula passa a apresentar uma replicação celular mais rápida e a se dividir mais frequentemente. As células transformadas aumentarão em número e acabarão por substituir as normais, levando à formação de tumores benignos. Assim, o vírus promove a sua proliferação no tecido, sem ter que destruir a célula que o aloja (PARK; ANDROPHY, 2002; WAGNER; HELWTT, 2003).

A terceira fase, denominada de fase produtiva, acontece nas células dos estratos supra basais. Neles, o vírus toma o controle total da célula e as proteínas E1 e E2, em grande quantidade, promovem a amplificação das cópias de DNA, até gerar milhares de cópias por célula. Por outro lado, inicia-se a síntese das proteínas tardias L1 e L2. Em células mais diferenciadas, dá-se a montagem de virons. A libertação dos vírus se sucede nos queratinócitos – as células mais diferenciadas do epitélio localizadas mais superficialmente – onde os vírus ficam imediatamente disponíveis para infectar um novo tecido através de contágio célula-célula (HUBERT; LAIMINS, 2002; WAGNER; HELETT, 2003; OZBUN, 2002).

Salientamos que as proteínas E1 e E2 modulam, de fato, o ciclo infeccioso do HPV. A quantidade de E1 e E2 é um indicador do número de genomas virais presentes na célula e ao mesmo tempo, um modo de regular o número de genomas virais. Entretanto, E2 regula indiretamente a taxa de divisão celular, através da sua ação na regulação da expressão das proteínas E6 e E7. Por último, para fechar o ciclo, E1 e E2 regulam a síntese de si próprias, controlando, conseqüentemente, a sua quantidade dentro da célula (HUBERT; LAIMINIS, 2002; HOU et al, 2002; LEE et al, 2002).

A expressão das diferentes proteínas também está dependente da etapa em que se encontra a célula hospedeira, através de fatores celulares presentes, ou seja, através de proteínas celulares que se ligam as seqüências específicas do DNA (HOU et al, 2002).

Atualmente a classificação do HPV, segundo (BERNARD et al, 1994) é baseada na identidade das seqüências nucleotídicas dos genes L1, E6 e E7. Para ser caracterizado um novo tipo de HPV é necessário que haja diferença na seqüência nucleotídica maior que 10%, quando comparado a tipos previamente descritos. Um subtipo é caracterizado quando as diferenças nas seqüências variam de 2% a 10% e uma nova variante molecular de um tipo é definida quando as diferenças nessas seqüências nucleotídicas são menores que 2%. (BERNARD et al, 1994).

A maioria das diferenças encontradas entre genomas virais decorre de mutações pontuais, tendo também sido descritas algumas inserções e deleções. Estas alterações podem ser utilizadas para estudar a origem e a distribuição desses vírus nas populações humanas (PARK; ANDROPHY, 2002).

Em infecções com espécies e HPV de alto risco, as proteínas virais E6 e E7 são bastante ativas, interferindo profundamente no ciclo celular. Como resultado, a divisão celular se processa mais rapidamente do que em infecções com espécies de HPV de baixo risco, aumentando a probabilidade de ocorrer, acidentalmente, numa das células, uma integração do DNA no genoma celular (HOU et al, 2002; WAGNER; HEWLETT, 2003).

A integração parece ser a causa da carcinogênese e nesse processo de integração o gene E2 sofre a ruptura, como conseqüência, a proteína E2 deixa de ser produzida ocorrendo perda da regulação da expressão. Assim, são continuamente produzidas as proteínas E6 e E7, inibindo de maneira bem mais intensa as proteínas celulares p53 e p105Rb. O controle do ciclo celular deixa de acontecer e a célula é induzida a se dividir continuamente, conduzindo a uma neoplasia, (HOU et al, 2002; LEE et al, 2002; WAGNER; HEWLETT, 2003).

A rápida multiplicação celular conduz à acumulação de mutações genéticas que podem dotar as células de novas características, como a capacidade de invadirem tecidos adjacentes e a capacidade de se disseminarem pelo organismo através da corrente sanguínea, originando metástases (WAGNERH; EWLETT, 2003).

1. 3 ALTERAÇÕES CELULARES ASSOCIADAS AO HPV

O tempo de incubação do HPV nas células do hospedeiro é muito variável, podendo estar relacionado com a competência imunológica individual e de acordo com o local de origem das células infectadas, por exemplo nas mãos e nos pés pode variar em um período de incubação de 6 a 18 meses, enquanto que nos órgãos genitais este tempo de incubação é mais curto variando de 2 a 6 meses. (SILVA et al, 2003).

O grau de infectividade das verrugas genitais é de aproximadamente 60% e parece decrescer no decorrer do tempo. Não está totalmente claro se o grau de infectividade depende da idade das lesões ou da quantidade de vírus infectante (PASSOS, 1995). Para se instalar na camada epitelial, o HPV necessita de micro traumatismos no epitélio para possibilitar o acesso direto das partículas virais até as camadas mais profundas (basal e parabasal), cujos núcleos das células permitem a multiplicação viral. O conseqüente processo cicatricial, devido ao crescimento de capilares e da acelerada multiplicação celular, contribui para a instalação da

infecção. A persistência do DNA viral estimula a multiplicação do DNA celular e produz as mudanças características de acordo com o tipo de vírus.

A multiplicação celular impede a replicação autônoma do vírus. Seguindo o processo fisiológico de maturação, as células migram para a superfície epitelial sofrendo queratinização. Assim, não mais se multiplicam permitindo a multiplicação independente do DNA viral e formação de virions completos.

As células maduras queratinizadas contêm grande quantidade de virions que, liberados durante a escamação celular, infectam as células vizinhas finalizando o ciclo replicativo viral e estabelecendo o processo infeccioso clássico, com lesão condilomatosa típicas e seus estigmas colpocitohistológicos. Por ação de mutágenos diversos (genéticos, infecciosos, químicos, imunológicos) ou, talvez, de nova infecção pelo HPV, a integração do genoma virótico na célula imatura infectada pode se traduzir por alteração da função celular. As sínteses protéicas são modificadas ou desaparecem enquanto outras sínteses protéicas anormais aparecem, explicando a perda da diferenciação e maturação celular, induzindo à mitose anárquica (PASSOS, 1995; JACYNTO et al, 1996).

No colo do útero 90% das patologias associadas ao HPV localizam-se na transição escamo colunar do epitélio - Zona de transformação, onde as células proliferativas estão mais expostas. Porém, é na camada proliferativa que o vírus pode se replicar e expressar suas proteínas precoces, todavia, a replicação vegetativa do DNA viral só tem lugar nas células diferenciadas, portanto à medida que as células proliferativas se dividem e deslocam para a superfície, elas disseminam os vírus para todas as células irmãs, de forma displásica (FEHRMANN et al, 2005).

Na camada celular superficial deste epitélio as células passam apresentar vacuolizações, e o epitélio torna-se de aspecto verrucoso, em decorrência da proliferação das células. (FEHRMANN et al, 2005).

Uma verruga, é a manifestação patológica macroscópica da infecção por HPV. Essas manifestações frequentemente levam ao aparecimento de uma alteração morfológica microscópica conhecida, desde os anos 50 como atipia coilocitótica. Os coilócitos, como são conhecidas estas atipias, são caracterizados por um amplo halo perinuclear com as bordas bem delimitadas e, normalmente, binucleação; os núcleos são hipercromáticos e apresentam contornos irregulares.

Essas células começam a aparecer nas camadas intermediárias da epiderme, estendendo-se até as camadas mais superficiais, onde geralmente ocorrem de forma mais exuberante (PAPILOMAVÍRUS, 2008).

Algumas alterações celulares associadas ao HPV, porém, podem progredir para atipias celulares pré-neoplásicas de diferentes graus. Neste caso, as células infectadas exibem alterações no seu crescimento e diferenciação - alterações displásicas, com perda no padrão de estratificação em ambas as camadas de células diferenciadas, que passam a expressar queratinas em quantidade e qualidade diferentes. Assim, displasias cervicais associadas a certos tipos de HPV podem evoluir para carcinomas, entretanto o curso da doença pode demorar de 10 a 20 anos (SCHIFFMAN; CASTLE, 2003).

O aspecto das lesões associadas ao HPV genital varia desde papilomas típicos até infecções clinicamente inaparentes. Os fatores que determinam a persistência da infecção e sua progressão para neoplasias intraepiteliais de alto grau (displasia moderada, displasia acentuada ou carcinoma in situ) são: os subtipos virais presentes, início precoce da vida sexual, o estado imunológico, tabagismo e outros de menor importância, como o alcoolismo e deficiências nutricionais (PEREIRA et al, 2005).

Embora normalmente não haja cura para a infecção genital por HPV, muitos casos são transitórios e regridem espontaneamente, sem intervenção médica (ELFGREER et al, 2000; CDC, 2001). Desta forma, a infecção pelo HPV tem sido descrita de três formas: Forma Latente, forma Clínica e Subclínica.

a) Forma Latente

Nessa forma de infecção pelo HPV, não existem lesões clinicamente identificáveis ou subclínicas, apenas sendo detectável seu DNA por meio de técnicas moleculares em tecidos contaminados.

Acredita-se que, nessa forma de infecção, o DNA viral se encontra na forma episomal, aparentemente não funcional, e se replica apenas uma vez a cada ciclo celular, o que seria menos do que o número de cópias virais necessários para o diagnóstico molecular pelos métodos mais antigos como a hibridização in situ (PARRELADA; PEREYRA, 2005).

b) Forma Clínica

Nessa forma de infecção, ao invés do HPV produzir um condiloma clássico, evidente, a doença se caracteriza por áreas difusas de hiperplasia epitelial não papilífera. Apesar das diferenças macroscópicas entre o condiloma e esta forma de infecção, elas são caracterizadas por proliferação da camada germinativa basal, perda de maturação do epitélio e

alterações citológicas características. A maior diferença histológica é que o condiloma é francamente papilar.

c) Forma Subclínica

Essa forma caracteriza-se colposcopicamente de forma plana ou micropapilar, traduzida por uma área que se torna esbranquiçada, que somente é visível apenas sob técnicas de magnificação e após aplicação do ácido acético 2 a 5 % (CASTRO et al, 2000).

Dependendo do tamanho e localização anatômica os condilomas, podem ser dolorosos, friáveis e/ou pruriginosos. Quando presentes no colo uterino, na vagina, na uretra e no ânus, também podem ser sintomáticos. As verrugas intra-anais estão presentes em pacientes que tenham tido coito anal receptivo, já os perianais podem ocorrer tanto em homens como em mulheres que não tenham história de penetração anal; menos frequentes estas lesões podem estar presentes em áreas extragenitais, como conjuntivas, mucosas nasal, oral e laríngea (FERENCZY et al, 1995).

1.4 EPIDEMIOLOGIA

Evidências moleculares indicam claramente que certos tipos de HPV são a causa principal de câncer cervical. Atualmente, sabe-se que o DNA do HPV pode ser detectado em 95% a 100% dos cânceres cervicais e a Organização Mundial de Saúde já reconhece este vírus como agente etiológico de câncer de cérvix uterina. Em todo o mundo, a infecção por estes vírus é uma das causas mais comuns de doenças sexualmente transmissíveis (DST), tanto em homens quanto em mulheres. Por isso, o HPV ainda é considerado um tema relevante em Saúde Pública, pois os níveis de infecção por estes vírus continuam crescendo, apesar de todos os esforços em sentido contrário. (SCHIFFMANN; CASTLE, 2003; STRICKLER et al, 2003).

A progressão maligna, nestes casos, é restrita a determinados tipos de HPV. Os HPVs do tipo 6 e 11, encontrados na maioria dos condilomas genitais e papilomas laríngeos, parece não oferecer nenhum risco de progressão neoplásica, apesar de serem encontrados numa pequena proporção de tumores malignos. Por outro lado, mais de 80% dos cânceres de colo de útero, e em menor frequência os de vulva contêm HPV tipos 16, 18, 31 e 45, classificando-os no grupo dos HPV ditos de alto risco (VILLA, 1977).

No Brasil, segundo os dados do Instituto Nacional do Câncer – INCA (2007), as taxas brutas de mortalidade estimadas por 100.000 mulheres, foram de 3,44 em 1979; 4,59 em

2000 e 4,48 em 2003, mostrando que não houve modificações significativas deste quadro. A explicação dada para diferença entre os anos de 1979 e 2000 foi de que, além do aumento real dos casos pela disseminação dos HPV, houve também melhoras do sistema de notificação de casos.

A principal questão da história natural do HPV se relaciona com a latência viral. Estudos realizados nos últimos 10 anos tornaram evidentes que praticamente todas as infecções virais com cerca de dois anos se tornavam indetectáveis pelos testes sensíveis de DNA de HPV, exceto para aquelas que conduziam a estados de pré-cancerígenos (SCHIFFMAN; CASTLE et al, 2003).

Inúmeros estudos sugerem que a infecção HPV é um fenômeno transitório ou intermitente, com uma duração média de 12 meses. Apenas numa pequena proporção de mulheres positivas para um dado tipo de HPV é diagnosticado, em análises posteriores, ou seja, continuam a estar infectadas por HPV, mas por tipos diferentes. O risco de desenvolver neoplasia intraepitelial cervical é proporcional ao número de tipos de HPV oncogênicos, o que sugere que o desenvolvimento carcinogênico resulta de infecções persistentes e muitas vezes por vários subtipos de HPV, ou por tipos de alto risco. No entanto, os determinantes da persistência do HPV dependem em grande parte da capacidade do indivíduo infectado desencadear uma resposta imunológica eficaz contra o vírus (FRANCO et al, 2001).

A persistência do HPV nas células epiteliais parece ser crítico para o desenvolvimento de alterações celulares do tipo NIC que são classificadas em três tipos: o NIC I considerado uma atipia celular de baixo grau e os NICs 2 e 3 denominados de precursores do câncer uterino por apresentarem lesões de elevado risco para o desenvolvimento carcinogênico juntamente com os carcinomas in situ (TRICKLER et al, 2003). O Ministério da Saúde do Brasil registra a cada ano 137 mil novos casos de lesões provocadas por Papiloma vírus no país. Os especialistas chamam a atenção para o desenvolvimento da doença, responsável por 90% dos casos de câncer de colo de útero. Um levantamento realizado pelo Instituto Nacional do Câncer (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2008) que mostrou que existem cerca de 18 mil novos casos de câncer de colo de útero por ano no país. Desse total, estimou-se que, apenas em 2005, cinco mil mulheres perderam a vida em função da doença (BRASIL, 2007).

A estimativa do INCA para o ano 2001 era de 17 mil novos casos de câncer uterino, com cerca de quatro mil óbitos. Em 2002, foram registrados 3.860 óbitos de mulheres em decorrência da doença. Em 2003, as estimativas sobre incidência e mortalidades por câncer foi 16.480 novos casos e 4.110 óbitos. O número de casos novos de câncer do colo

uterino esperados para o Brasil em 2005 foi de 20.690, com um risco estimado de 22 casos a cada 100 mil mulheres. Excetuando os tumores de pele não-melanoma, o câncer do colo do útero é o mais incidente nas regiões Sul (28/100.000), Sudeste (20/100.000), Centro-Oeste, (21./100.000), Nordeste (17/100.000) e região Norte (22 casos a cada 100.000 mulheres), caracterizando-se esta, ser a segunda região com maior incidência (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2009).

O número de casos novos de câncer do colo uterino esperados para o Brasil em 2007 foi de 19.mil, com um risco estimado de 22 casos a cada 100 mil mulheres. O Pará tem uma estimativa de 21.34 casos para cada 100 mil mulheres (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2009).

A transmissão do HPV se dá através do contato direto epitélio vaginal, oral ou anal, ou ainda pela mãe durante o nascimento. Pesquisas recentes sugerem a transmissão via fômites (objetos inanimados como toalhas ou roupas íntimas), porém mais estudos precisam ser feitos para caracterizar este modo de transmissão com exatidão (McDERMOTT-WEBSTER, 1999; JAY MOSCICKI, 2000; STEVENS-SIMOM et al, 2000).

Além da anamnese e do quadro clínico, o diagnóstico de infecção por HPV deve ser confirmado por técnicas histológicas, citológicas e moleculares sempre que possível.

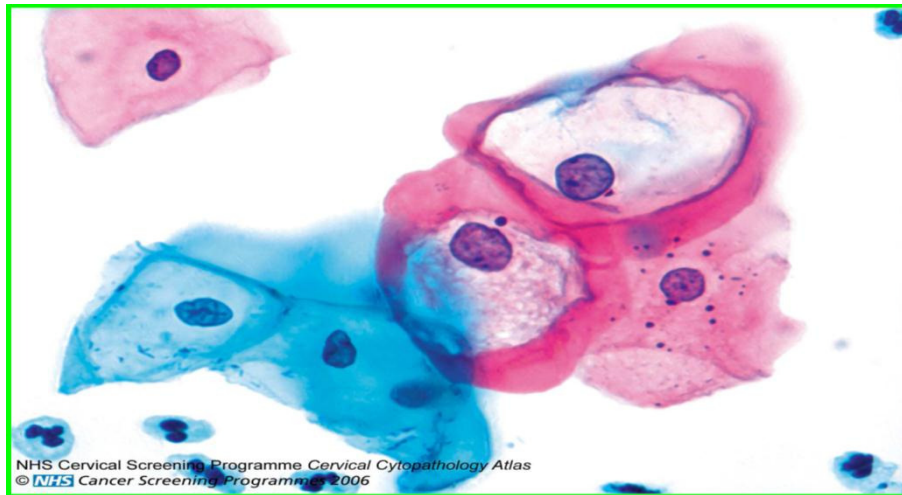
O Primeiro diagnóstico de alterações celulares associado ao HPV é feito com a aplicação do ácido acético 4%, onde as lesões associadas ao HPV tornam-se esbranquiçadas e são visualizadas a olho desarmado ou com ajuda do colposcópio (AURIER et al,1996).

Outra forma de detecção de alterações compatíveis com a infecção pelo HPV é a coloração feita pelo método de Papanicolau, introduzida no ano de 1949, antes mesmo da causa do câncer cervical ser conhecida. Atualmente é o teste utilizado no rastreamento das lesões provocadas pelo HPV nos programas de triagem, tendo em vista a sua grande abrangência, o baixo custo e a facilidade de execução. Entretanto, o teste apresenta um número elevado de resultados falso-negativos que varia em torno de 15% a 50% e percentuais de falso-positivo de 10% em média, sendo que estes correspondem a uma sensibilidade de 50% a 90% e especificidade de 70% a 90%. Mesmo assim, nos últimos anos, os países desenvolvidos que empregaram o teste nos programas de triagem como medidas preventivas diminuiram muitos os casos de cânceres cervicais.

O método utiliza esfregaços celulares que são fixados em lâmina e posteriormente corados. A observação de alterações celulares típicas como presença de coilócitos, disqueratose, anomalias celulares, etc, compatíveis com a infecção pelo HPV é definida em graus variados.

Nesse exame, o material é preparado para observação dos tecidos no microscópio onde é feita uma análise da distribuição e arranjo das células na pele. O método não identifica o HPV, ele apenas observa as alterações celulares patológicas características da infecção por estes vírus, que são hiperplasia (acantose), coilocitose (vacuolização do citoplasma), disqueratose, paraceratose, atipias nucleares etc. O resultado se baseia na graduação das lesões cervicais classificadas conforme o Sistema Bethesda.

Figura 3 - Coilocito



Fonte: sistemabethesda/LSIL/HPV

O colposcópico proporciona uma amplificação de 4 a 40 vezes o epitélio, no qual se aplica uma solução de ácido acético entre 3% a 5%, e como resultado, onde houver anormalidades histológicas o epitélio se torna esbranquiçado - acetobranco, devido à precipitação de proteínas. A vascularização também pode ser observada com auxílio de uma luz com filtro verde. Durante o exame amostras das regiões suspeitas podem ser coletadas e biopsiadas. É um exame de extremo valor para a detecção das lesões causadas pelo HPV, entretanto, outras situações como, por exemplo, inflamações intensas, mosaicismo, também expressam um epitélio branco. Logo, existe um risco de se tratar uma lesão que não é a pretendida.

PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) – A técnica amplifica uma seqüência específica do DNA, delimitada por um par de primers, com ajuda de uma enzima termoestável - Taq polimerase. Existem quatro tipos de primers genéricos que amplificam uma região dentro do gene L1 do HPV, que é comum a 43 tipos de HPV; MY09/11, PGMY09/11 – sistema Amplicor MWP, GP5+/GP6+ e SPF/2 – sistema Innogenetics, que amplificam fragmentos de 450 pb, 170 pb, 100 pb, e 65 pb, respectivamente. A revelação

dessas amostras amplificadas (amplicons) pode ser feitas de diversas formas, dentre elas a análise de seqüência do polimorfismo do fragmento de restrição (RFLP), hibridização com sondas tipo-específico e eletroforese em gel.

A captura híbrida (CH) é um método mais recente que tem a vantagem de utilizar reagentes não radioativos, facilitando seu manuseio e diminuindo o seu custo. O método utiliza um coquetel de sondas do grupo de baixo risco e do grupo alto risco, que se hibridizam com o DNA do HPV presente na amostra, depois os híbridos são capturados por anticorpos presentes nas paredes do microplaca, e então revelados por quimiluminescência. É um teste quantitativo e o único aprovado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), para diagnóstico de HPV. Em comparação com o método de PCR, a CH, demonstra sensibilidade de 91,7% e especificidade de 95,4%. Como o risco de câncer cervical invasivo na mulher está diretamente relacionado à presença de HPV de alto risco, a pesquisa desses tipos virais por meio de métodos moleculares tem sido extremamente útil para o acompanhamento de mulheres com alterações citológicas (TERHUNE et al, 2001).

2 JUSTIFICATIVA

O Estado do Pará apresenta-se como uma região de alto risco para o câncer cérvico-uterino, pois, ao contrário da maioria dos outros estados brasileiros, demonstra maior prevalência para este câncer frente ao câncer de mama. Várias causas para esta situação podem ser mencionadas, dentre as quais a falta de uma política adequada de medicina preventiva; a situação de pobreza, de falta de instrução e informação da população em geral; a carência de profissionais com qualificação comprovada para a realização dos exames.

Dessa forma, de modo a auxiliar o Estado e os municípios paraenses em suas políticas de prevenção, para o rastreamento de lesões precursoras do câncer do colo uterino, faz-se necessário a realização de estudos epidemiológicos que identifiquem a prevalência do HPV, os tipos mais prevalentes e suas relações com o desenvolvimento de lesões precursoras de câncer na população.

Acredita-se que o este estudo é imprescindível para avaliar a situação epidemiológica das lesões precursoras do câncer uterino e das lesões compatíveis com HPV entre mulheres inscritas no PCCU (prevenção do câncer do colo do útero), da região de Tomé – Açú –PA, até porque são poucos os trabalhos sobre neoplasia intraepitelial cervical e HPV nesta região do Estado do Pará. Assim como é uma contribuição para o fortalecimento do PCCU.

3 OBJETIVO GERAL

Determinar a prevalência de HPV e sua correlação com lesões precursoras do câncer cérvico-uterino em mulheres de Tomé-Açu – Pará.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar a frequência citológica do HPV nas amostras estudadas.

Identificar a frequência de alterações citomorfológicas sugestivas de lesões cervico-uterinas na população.

Determinar a relação da presença de DNA viral com a identificação citomorfológica alterada por HPV na população estudada.

Identificar a relação dos fatores de risco com o desenvolvimento de lesões precursoras do câncer cérvico-uterino nas amostras estudadas.

4 MATERIAIS E METÓDOS

4.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo de prevalência de base populacional do tipo observacional transversal prospectivo.

4.2 POPULAÇÃO EXAMINADA

A população estudada foi composta de mulheres, na maioria, japonesas buscaram espontaneamente, o serviço do PCCU, oferecido pelo laboratório de Citopatologia do Hospital Amazônia de Quatro Bocas, município de Tomé-Açu – PA.

Considerou-se como critério de inclusão:

- I. ser residente no distrito de Quatro Bocas, município de Tomé-açu, estado do Pará.
- II. ter ou já ter tido vida sexualmente ativa.
- III. ter idade entre 18 a 75 anos.
- IV. obtenção de lâminas com esfregaço satisfatório e ou adequado para análise citológica.

Todas as participantes foram orientadas acerca dos objetivos do trabalho e, aquelas que concordaram em participar do estudo assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 1) em seguida responderam a um questionário epidemiológico (Anexo 2).

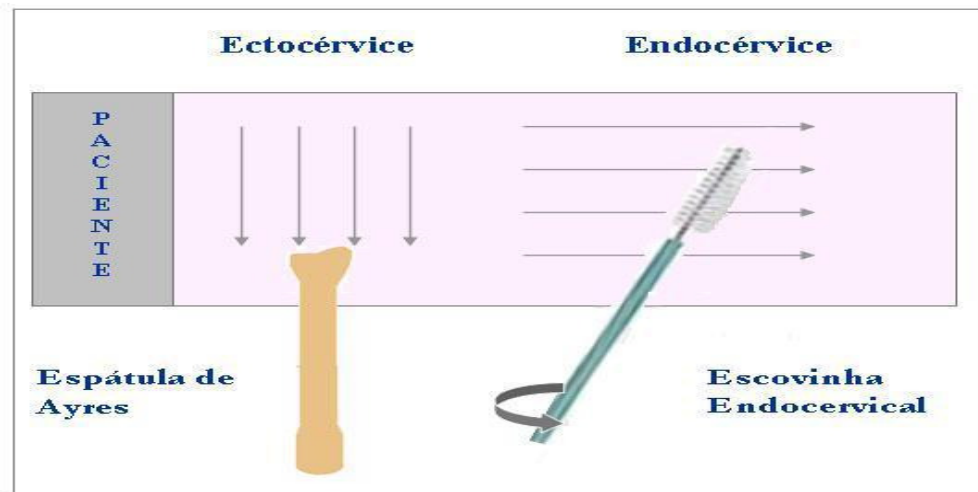
4.3 COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

No período de julho de 2008 a março de 2009, foram coletadas, 144 amostras de secreção cérvico-vaginal de mulheres que buscaram atendimento no laboratório de citopatologia do Hospital Amazônia de Quatro Bocas do município de Tomé-Açu – PA. Para a realização da coleta, as participantes foram submetidas ao exame pélvico, que inclui coleta de células cervicais para a colpocitologia oncótica convencional (Teste de Papanicolau) e para o teste da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). O espéculo vaginal introduzido foi de acordo com as características perineais e vaginais da mulher a ser examinada (pequeno, médio ou grande). O espéculo foi introduzido de modo a expor completamente o colo uterino.

O esfregaço citológico convencional foi constituído de duas amostras, raspado ectocervical e endocervical, colhidos com espátula de Ayre e escova endocervical, estendido em lâmina de vidro, fixado em polietilenoglicol / álcool 96° -(Silveira,2003) e corado pela técnica de Papanicolau. As amostras foram analisadas por profissional especializado na área, do laboratório de citopatologia do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Pará (UFPA).

Na Figura 1 estão ilustradas a espátula e a escovinha endocervical utilizadas na coleta do material, bem como a disposição em lâmina do material coletado.

Figura 4 – Distribuição na lâmina dos materiais coletados da ectocérvice e endocérvice.



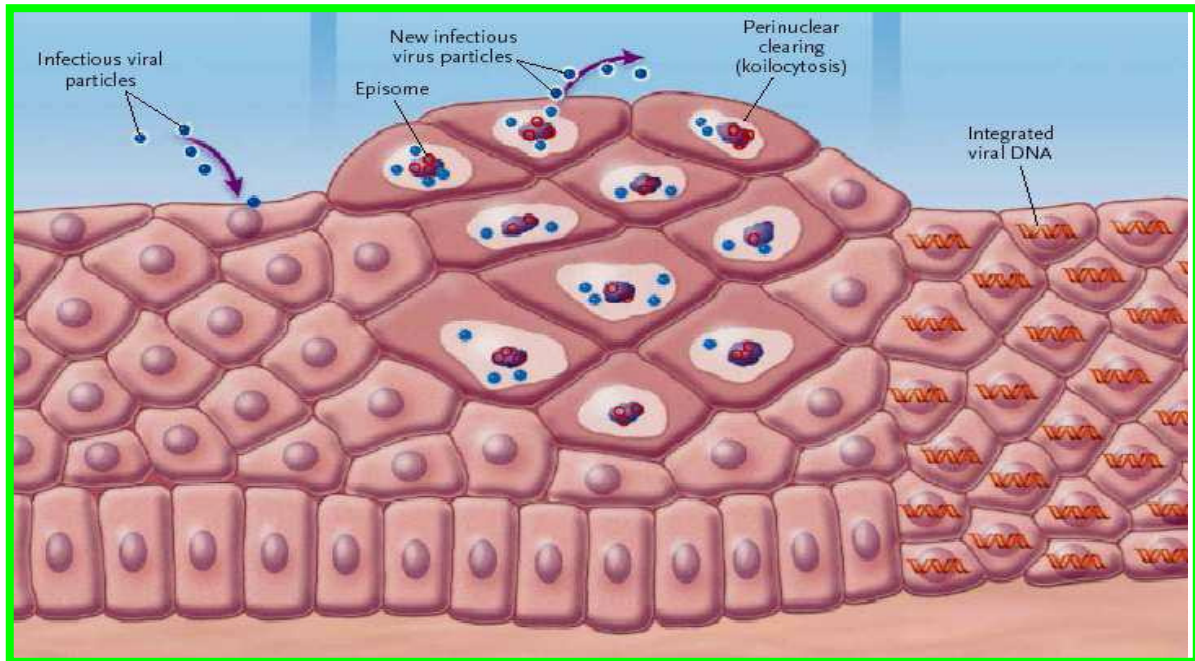
Fonte: Cortinhas, 2008

O INCA reconhece o teste citológico de Papanicolau como muito efetivo no diagnóstico precoce e na prevenção do câncer invasivo do colo do útero. O exame de Papanicolau consiste no estudo das células descamadas esfoliadas da ectocérvice e endocérvice do colo do útero e é, atualmente, o meio mais utilizado na rede de atenção básica à saúde por ser indolor barato, eficaz e poder ser realizado em qualquer lugar, por qualquer profissional treinado (MARTINS et al, 2007).

Considerou-se como lâmina de boa qualidade aquela que contém três tipos de epitélio: epitélio pavimentoso estratificado, epitélio cilíndrico ou glandular e epitélio metaplásico. Os resultados que apresentaram citologia normal foram classificados em esfregaço livre de células atípicas, e esfregaço inflamatório provocado por microrganismo. As lesões pré-malignas foram classificadas através do Sistema de Bethesda. Por meio deste

sistema as lesões são classificadas em LSIL (lesão intraepitelial escamosa de baixo grau), HSIL (lesão intraepitelial escamosa de alto grau), ASC-US (atíпия de células escamosas de significado indeterminado) e ASC-H atíпия de células escamosas sem excluir HSIL), ressaltando aquelas que possuem alterações citopatológicas sugestivas de infecção pelo HPV.

Figura 5 – Ciclo reprodutivo do HPV no epitélio.



Fonte: Nature Review/câncer

4.4 MÉTODOS DE BIOLOGIA MOLECULAR

4.4.1 Extração de DNA

Todas as amostras coletadas, independente do resultado citológico, foram submetidas à extração de DNA total a partir de células oriundas da mucosa genital de acordo com o protocolo do método de lise de leucócitos (Tampão NET/SDS 1%), o qual é realizado em três etapas: extração, purificação e precipitação de proteínas, conforme descrito a seguir.

Com escova semelhante à da citologia coletou-se o material endocervical para detecção do DNA do HPV, sendo conservado em tubo próprio contendo 1 ml de solução extratora NET/SDS (10mM NaCl, 10mM EDTA, 1mM Tris, 1% SDS), sob refrigeração de -2°C. A extração do material genético ocorreu adicionando-se 2.0 ug/ul de proteinase K à amostra ficando a 47 °C em banho-maria “Overnigt”. O DNA foi purificado pelo padrão de extração de formol clorofórmio e precipitação em etanol. Previamente, em todas as amostras

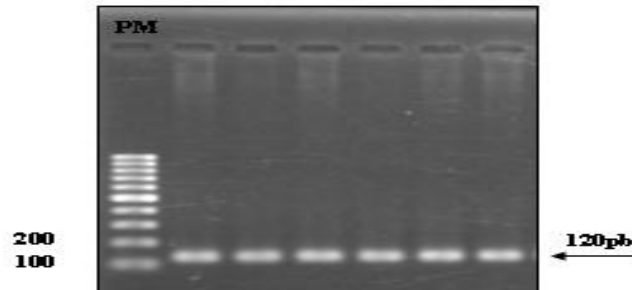
foram realizadas a PCR para detectar um fragmento do gene de globina humana, utilizando-se os primers G73 e G74, como controle de qualidade da purificação do DNA extraído. A detecção do DNA/HPV foi realizada pela técnica de PCR, utilizando-se os primers genéricos MY09 e MY11, que amplificam uma região de 449-458 nucleotídeos, dependendo do tipo de HPV, de uma região altamente conservada do gene L1. Em todos os ensaios foi empregada como controle positivo uma amostra previamente testada e como controle negativo a água. A análise do material coletado foi realizada no Laboratório de Biologia Molecular (LBCM) do NMT/UFPA.

Na detecção do DNA/HPV, cada reação foi quantificada com 0,5ul de DNA a ser testado, mais 9,5 ul de uma mistura de reagentes (MIX), cuja composição era: 5,5ul de água bidestilada, 0,4 ul de cada um dos 4 trifosfatos de desoxinucleotídeo (100mM – pH 7,5), 0,5 ul de cada primers para HPV (MY09 e MY 11 – 200 ug), 1.0 ul de solução tampão (60mM Tris-HCl-pH 7, 1 M NaCl, 60mM MgCl₂, 10mM DTT – 37°), 0,3 ul de MgCl₂ (50mM) e 0,1 ul da enzima Taq DNA polimerase (10mM), completando um total de 10 ul. Em seguida, as misturas foram submetidas, em um aparelho termociclador, às seguintes condições de reação: 4 min a 95 ° C para desnaturação do DNA, seguidos por 35 ciclos de 94 °C por 30 segundos e 72 °C por 30segundos, finalizando com 8 minutos a 72 °C para extensão final do DNA. Para detecção do DNA/Globina foi utilizado o mesmos MIX, substituindo apenas os primers para G73 e G74 (200 ul) Os produtos das PCRs, acrescidos de solução de brometo fenol blue, foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1%, contendo brometo de etídio, e visualizados à luz ultravioleta

4.4.2 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Objetivando garantir a eficácia da reação de extração do DNA, todas as amostras foram submetidas à amplificação do éxon-1 do gene globina- já que este está presente nas células humanas- conforme descrito por (TIN et al, 2005) (Figura 6). Uma vez confirmado a presença do DNA foi realizada a PCR, a fim de amplificar um segmento do gene L1 (450 pares de base) do HPV, o qual está relacionado com síntese de proteínas do capsídeo, altamente conservada entre os genótipos (ICTV, 2006). A PCR é uma ferramenta valiosa para a investigação epidemiológica da infecção pelo HPV. A PCR consenso para o gênero detecta mais espécies de HPV genital com maior sensibilidade, além de permitir a análise das variantes, bem como permite a caracterização de novas espécies (COUPLÉE et al, 2005).

Figura 6 – Perfil eletroforético do fragmento de 120pb amplificado do éxon 1 do gene globina (PM - Peso Molecular de 100pb).



Fonte: Cortinhas, 2008.

Quadro 1 – Iniciadores utilizados na reação de PCR da ORF L1 do HPV.

Iniciadores	Gene	Seqüência 5'-3'
MY09	L1	5'-CGTCCMAARGGAWACTGATC-3'
MY11	L1	5'-GCMCAGGGWCATAAYAATGG-3'

Em cada reação de amplificação, após a desnaturação inicial à 95°C por quatro minutos, foram efetuados 35 ciclos de 30 segundos à 95°C, um minuto à 72°C, com tempo de oito minutos para extensão final à 72°C.

4.4.3 Eletroforese

Os produtos da PCR foram visualizados após eletroforese (100 V/45 minutos) em gel de agarose a 1%, utilizando tampão TAE 1x (TAE 50x estoque – TrisBase 1,6 M, Acetato de Na 0,8 M e EDTA-Na₂ 40 mM/1000 mL água deionizada), e visualizados a luz ultravioleta.

4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados foram analisados através da estatística descritiva, utilizando o programa Microsoft EXCEL para sistematização em banco de dados e, empregando testes estatísticos. Para testar a prevalência de HPV e sua correlação com lesões precursoras do câncer cérvico-uterino, utilizou-se o Teste do qui-quadrado. O odds Ratio foi empregado para

avaliar a probabilidade de ocorrer associação entre o resultado da PCR e os fatores de risco. Considerou-se o nível de significância em 95% ($p < 0,05$). Para análises estatísticas foi utilizado o programa BIOESTAT 5.0 (AYRES, et al, 2007).

5 RESULTADOS

5.1 ASSOCIAÇÃO ENTRE O RESULTADO DO EXAME DE CITOMORFOLOGIA E O RESULTADO DO EXAME PCR-HPV

Tabela 1 - Frequência do exame citomorfológico e percentual de PCR – HPV, no distrito de quatro bocas: período julho de 2008 a março de 2009.

CITOMORFOLOGIA	PCR – HPV		Total	%
	Negativo	Positivo		
Anormal	7	3	10	6,9 %
Inflamação	69	5	76	52,8 %
Normal	56	2	58	40,3 %
Total	134	10	144	100 %

Fonte: Hospital Amazônia de Quatro Bocas, no município de Tomé - Açú. p-valor = 0,0010*, Qui-quadrado, GL = 2.

A Tabela 1 mostra a frequência do resultado do exame Citomorfológico pelo resultado do exame PCR - HPV, no período de julho de 2008 a março de 2009, no distrito de Quatro Bocas. Nela pode-se observar que de um total de 144 pacientes, 76 apresentaram quadro inflamatório comparado com o resultado do exame PCR – HPV, apenas 10 pacientes apresentaram-se positivo para HPV. E a frequência dos resultados normais foi de 58, No entanto, quando observado apenas os resultados positivos pode-se verificar que dos 10 casos positivos a metade, ou seja, 5 ocorrências, ainda apresentaram algum tipo de inflamação.

A relação entre a Citomorfologia anormal e o PCR-HPV positivo foi avaliada pelo teste do qui-quadrado o qual resultou em um p-valor = 0,0010 o qual é estatisticamente significativo, portanto, existe uma forte associação entre o exame da citomorfologia e a PCR-HPV.

Tabela 2 – Frequência e percentual das atípias citológicas encontradas nas pacientes no distrito de Quatro Bocas: período julho 2008 a março 2009.

CITOLOGIA	Nº DO PROCEDIMENTO	%
ASC-H	1	0,69
ASC-US	6	4,16
LSIL	2	1,38
HSIL	1	0,69
INFLAMATÓRIO	76	52,7
NORMAL	58	40,2
TOTAL	144	100

5.2 ASSOCIAÇÃO ENTRE O RESULTADO DO EXAME DE PCR E OS FATORES DE RISCO PARA AQUISIÇÃO DE HPV.

5.2.1 -Escolaridade

A Tabela 3 mostra a frequência do resultado do exame PCR-HPV pela escolaridade das pacientes, no período de julho de 2008 a março de 2009, no distrito de Quatro Bocas. Onde se pode observar que dos 10 casos nos quais o resultado do exame de PCR-HPV foram positivos, 8 deles foram em pacientes que possuem apenas o ensino médio, e os outros 2 casos foram em pacientes com o ensino fundamental, porém não observamos nenhuma ocorrência em pacientes que possuem o ensino superior. Já dentre os casos em que o resultado foi negativo, a maioria dos casos ocorrem em pacientes como ensino fundamental.

Tabela 3 - Relação PCR-HPV e escolaridade das pacientes no distrito de quatro bocas, período: julho de 2008 a março de 2009.

ESCOLARIDADE	PCR – HPV		Total	%
	Negativo	Positivo		
Fundamental	64	2	66	45,83
Médio	61	8	69	47,92
Superior	9	0	9	6,25
Total	134	10	144	100,00

Fonte: Hospital Amazônia de Quatro Bocas, no município de Tomé - Açú. p-valor = 0.1031, Qui-quadrado, GL = 1.

O resultado da análise estatística através do Teste do Qui-quadrado, verificaram que não existe relação probabilisticamente significativa entre esta duas variáveis ($C = 0,1031$ com 2 graus de liberdade), não rejeitando-se a hipótese nula de independência entre a variável PCR-HPV e a escolaridade. Sendo o nível descritivo do teste 0,1031, superior ao nível de significância pré-estabelecido de 0,05.

Tabela 4 – Relação PCR-HPV e faixa etária das pacientes no distrito de quatro bocas, período: julho de 2008 a Março de 2009.

FAIXA ETÁRIA	PCR - HPV		Total	%
	Negativo	Positivo		
18 --- 28	32	7	39	27,08 %
28 --- 75	102	3	105	78,92 %
Total	134	10	144	100 %

Fonte: Hospital Amazônia de Quatro Bocas, no município de Tomé - Açú. p-valor = 0.0052, Qui-quadado, GL = 1.

Ao avaliar o resultado pelo Teste do Qui-quadrado onde o nível descritivo do teste foi de 0,0052 o qual é altamente significativo. O Odds Ratio =7, 43 com Intervalo de confiança IC 95% = 1.81 a 20.45. Através deste indicador estatístico é possível inferir que a chance de ocorrência de casos de HPV, detectados pelo método PCR, foram 7, 43 vezes mais frequentes na faixa etária de 18 a 27 anos quando comparado com o outro grupo formado por pacientes com idade igual ou superior a 28 anos.

5.2.3 Tipo de Atividade Profissional

Na Tabela 5 pode-se observar a frequência do resultado do exame PCR-HPV, segundo o tipo de atividade profissional das pacientes, no período de julho de 2008 a março de 2009, no distrito de Quatro Bocas. Os mesmos foram agrupados em dois grupos: Dona de Casa, e as que exercem atividades Fora de casa. Nela pode-se observar que 48,61% das pacientes declaram serem donas de casa, 51,39% disseram trabalharem fora de casa, sendo que destas houve 6 (seis) casos de HPV positivo e 4 (quatro) Dona de Casa.. E os casos de maior incidência de HPV negativo foram nas donas de casa.

Tabela 5 - Relação PCR-HPV com as atividades desempenhadas pelas pacientes no distrito de quatro bocas período: julho de 2008 a Março de 2009.

ATIVIDADE	PCR – HPV		Total	%
	Negativo	Positivo		
Dona de Casa	66	4	70	48,61 %
Trabalha Fora	68	6	74	51,39 %
TOTAL	134	10	144	100 %

Fonte: Hospital Amazônia de Quatro Bocas, no município de Tomé - Açú. p-valor = 0.8128, Qui-quadrado, GL = 1.

Quando verificado a relação entre a Atividade (Dona de Casa x Trabalha Fora) o resultado do Odds Ratio = 1.41 (IC 96% = 0.39 a 5.39) mostrou que não existe associação probabilisticamente significativa entre o resultado do exame de PCR-HPV e a atividade das pacientes, pois o p-valor = 0.8121, pelo teste do Qui-quadrado, não é significativo.

5.2.4 Número de Gestações

A Tabela 6 apresenta a frequência do resultado do exame PCR-HPV pela Faixa de Gestações, no período de julho de 2008 a março de 2009, no distrito de Quatro Bocas. Verificamos que a maioria das pacientes, 59,03% delas, afirmaram ter tido entre 0 a 2

gestações. Sendo que a maioria dos casos de PCR-HPV positivo encontra-se nestas faixas de gestações, confirmando que dos 10 casos positivos 9 são de pacientes na faixa de 0 a 2 gestações.

Tabela 6 – Relação PCR-HPV e número de gestações das pacientes no distrito de quatro bocas período: julho de 2008 a Março de 2009.

NÚMERO DE GESTAÇÕES	PCR - HPV		Total	%
	Negativo	Positivo		
0 --- 2	76	9	85	59,03
3 --- 12	58	1	59	40,97
Total	134	10	144	100,00

Fonte: Hospital Amazônia de Quatro Bocas, no município de Tomé - Açú. p-valor = 0.0834, Qui-quadrado, GL = 1.

As diferenças inicialmente observadas foram avaliadas pelo do Teste do Qui-quadrado, que concluiu que não há relação probabilisticamente significativa entre a Quantidade de Gestações e o resultado do exame PCR-HPV (Odds ratio = 6,86, com IC 95% de 0,86 a 55.75), pois o p-valor = 0,0835 não é significante. Sendo assim, aceita-se a hipótese de independência entre as variáveis.

5.2.5 Número de Filhos

Em relação à Análise da distribuição da variável número de filhos (Tabela 6). Esta variável representa a quantidade de filhos nascidos vivos. A amostra em estudo apresentou mulheres com número de filhos variando entre 0 (zero) a 12 (doze) filhos. A Tabela 6 apresenta a frequência do exame PCR-HPV pela faixa de filhos das pacientes. Ao observar a distribuição da amostra verificou-se que a maioria das pacientes (58,33%) possuem entre 0 a 3 filhos. Os resultados dos exames de PCR-HPV mostraram que aproximadamente 90% dos casos positivos encontraram-se nesta faixa.

Tabela 7 – Relação PCR-HPV e o número de filhos das pacientes no distrito de quatro bocas, período: julho de 2008 a Março de 2009.

NÚMERO DE FILHOS	PCR - HPV		Total	%
	Negativo	Positivo		
0 --- 3	75	9	84	58,33
3 --- 12	59	1	60	41,67
Total	134	10	144	100,00

Fonte: Hospital Amazônia de Quatro Bocas, no município de Tomé - Açú. p-valor = 0.0762, Qui-quadrado, GL = 1.

A avaliação do Teste do Qui-quadrado, concluiu que não há relação probabilisticamente significativa entre o Número de Filhos e o resultado do exame PCR-HPV (Odds ratio = 7.08, com IC 95% de 0.87 a 57.46), pois o p-valor = 0,0762 não é significativo. Sendo assim, se aceita a hipótese de independência entre as variáveis.

5.2.6 Número de Partos Normais

A Tabela 8 apresenta a frequência do exame PCR-HPV pelo Número de Partos Normais das pacientes, no período de Julho de 2008 a Março de 2009, no distrito de Quatro Bocas. Onde verificamos que a maioria das pacientes, 62,50% tiveram entre 0 a 2 partos seguido por 37,50% que tiveram de 3 a 12 partos. Sendo os casos em que os resultados do exame foram positivos destinam-se a pacientes destas duas faixas de número de partos, sendo que dos 10 casos positivos, 9 foram em pacientes que tiveram de 0 a 2 partos, sendo um caso positivo em pacientes de 3 a 12 filhos.

Tabela 8 - Relação PCR-HPV e o número de partos normais das pacientes no distrito de quatro bocas período: julho de 2008 a Março de 2009.

PARTOS NORMAIS	PCR - HPV		Total	%
	Negativo	Positivo		
0 --- 3	81	9	90	62,50 %
3 --- 12	53	1	54	37.50 %
Total	134	10	144	100 %

Fonte: Hospital Amazônia de Quatro Bocas, no município de Tomé - Açú. p-valor = 0,1411, Qui-quadrado, GL = 1

A variável Número de Partos Normais foi submetida à avaliação estatística pelo Teste do Qui-quadrado, concluiu-se que não há relação probabilisticamente significativa entre o Número de Partos e o resultado do exame PCR-HPV (Odds Ratio = 5,66, com IC 95% de 0,69 a 46,06), pois o p-valor = 0,1411 não é significativo. Sendo assim, se aceita a hipótese de independência entre as variáveis.

5.2.7 Número de Abortos

A Tabela 9 apresenta a frequência do exame PCR-HPV pelo Número de Abortos das pacientes, no período de Julho de 2008 a Março de 2009, no distrito de Quatro Bocas. Onde se verifica que a maioria das pacientes, 81,94% delas, nunca sofreram abortos. Sendo que, dos 10 casos em que o exame de PCR-HPV foi positivo, 9 destinam-se a estas pacientes que nunca sofreram abortos.

Tabela 9 - Relação PCR-HPV e número de abortos no distrito de quatro bocas, período: julho de 2008 a Março de 2009.

ABORTOS	PCR - HPV		Total	%
	Negativo	Positivo		
Nenhum	109	9	118	81,94
1 a 2	25	1	26	18,06
Total	134	10	144	100,00

Fonte: Hospital Amazônia de Quatro Bocas, no município de Tomé - Açú. p-valor = 0,7945, Qui-quadrado, GL = 1.

Após a aplicação do Teste do Qui-quadrado, concluiu-se que não há relação estatisticamente significativa entre a quantidade de abortos e o resultado do exame PCR-HPV (OR = 2,06 com IC95% = 0,25 a 17,04), pois o nível p-valor = 0,7484, Não é significativa. Sendo assim, se aceita a hipótese de independência entre as variáveis.

5.2.8 Número de Parceiro

Tabela 10 – Relação PCR-HPV e número de parceiros sexuais das pacientes no distrito de quatro bocas, período: julho de 2008 a março de 2009.

PARCEIROS	PCR - HPV		Total	%
	Negativo	Positivo		
1 --- 4	113	6	119	82,64
4 --- 10	21	4	25	17,35
Total	134	10	144	100,00

Fonte: Hospital Amazônia de Quatro Bocas, no município de Tomé - Açú. p-valor = 0,1268, Qui-quadrado, GL = 1.

A Tabela 10 apresenta a frequência do exame PCR-HPV pelo Número de Parceiros das pacientes, no período de Julho de 2008 a Março de 2009, no distrito de Quatro Bocas. Onde verificamos que a maioria das pacientes, 82,64%, tiveram entre 1 a 3 parceiros seguido por 17,35% que tiveram de 4 a 10 parceiros.

Ao realizar o Teste do Qui-quadrado, concluiu-se que não há relação estatisticamente significativa entre a quantidade de parceiros e o resultado do exame PCR-HPV (OR = 0,27 com IC95% = 0,07 a 1,07), pois o nível descritivo do teste foi de 0,1268, inferior ao nível de significância adotado, de 0,05. Sendo assim, se aceita a hipótese nula de independência entre as variáveis.

5.2.9 Faixa etária de iniciação sexual

Tabela 11 - Relação PCR-HPV e faixa etária de iniciação sexual das pacientes, no distrito de quatro bocas período: julho de 2008 a Março de 2009.

INÍCIO DA ATIVIDADE SEXUAL	PCR - HPV		Total	%
	Negativo	Positivo		
12 --- 18	77	4	81	56,25 %
18 --- 42	57	6	63	43,75 %
Total	134	10	144	100 %

Fonte: Hospital Amazônia de Quatro Bocas, no município de Tomé - Açú. p-valor = 0,4935, Qui-quadrado

A Tabela 11 apresenta a frequência do exame PCR-HPV com início da atividade Sexual das pacientes, no período de Julho de 2008 a Março de 2009, no distrito de Quatro Bocas. Verificamos que a maioria das pacientes, 56,25% delas, iniciaram a atividade sexual entre 12 e 17 anos, seguido por 43,75% que iniciaram a atividade sexual depois dos 18 anos. Sendo que todos os casos em que o exame de PCR-HPV foi positivo destinam-se a pacientes que tiveram inicio de atividade sexual, depois dos 18 anos, No entanto, a maior incidência foi de 77 casos de HPV negativo em pacientes que iniciaram a atividade sexual antes dos 18 anos.

Quando essas proporções foram avaliadas pelo teste do Qui-quadrado concluiu-se que não há relação estatisticamente significativa entre a idade de iniciação sexual e o resultado do exame PCR-HPV (OR = 0.4935 com IC95% = 0.13 a 1.83). pois o teste de hipótese resultou no p-valor =0.4935, o qual não é significativo.

Em resumo sobre a relação dos fatores de risco para HPV com o resultado do exame PCR-HPV, pode-se concluir que dentre a amostra em estudo há dois fatores que aumentam consideravelmente o risco para o diagnóstico positivo no teste PCR-HPV, esses fatores são: a Faixa Etária das pacientes, onde o grupo entre 18 e 27 anos é considerado de maior risco e a Citomorfologia anormal onde 42,86% dos pacientes com esse diagnóstico obtiveram resultado Positivo na PCR-HP V.

6 DISCUSSÃO

Na região Norte o câncer de colo do útero se constitui como umas das principais doenças neoplásicas que acomete as mulheres na idade reprodutiva (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2008). A População do presente estudo apresenta características distintas, quando comparada a população urbana, no que diz respeito aos fatores de risco relacionados à infecção pelo HPV e, por conseguinte concorrência para uma maior incidência de câncer cervical uterino.

Sabe-se que o câncer do colo uterino é uma das neoplasias com maior chance de cura quando diagnosticado precocemente, (SILVEIRA, 2008) a existência de programa de rastreamento efetivo e organizados por meio da colpocitologia oncótica torna-se essencial na redução das altas taxas de incidência e conseguinte mortalidade desta doença. Por este motivo, o exame citopatológico é a estratégia de rastreamento recomendada pelo Ministério da Saúde Brasileiro, prioritariamente, para mulheres entre 25 e 59 anos de idade (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2009).

No presente estudo pode-se observar que das 144 mulheres residentes da comunidade de Quatro Bocas do município de Tomé-Açu – PA, no período de julho de 2008 a março de 2009, a prevalência de infecção por HPV por diagnóstico citológico foi de 10 (6,94%) o que pode ser considerada baixa uma vez que essas mulheres já vinham fazendo controle anteriores desses, 2 (1,38%) apresentaram positividade para lesão de baixo risco (LSIL-NIC I); 1 (0,69%) apresentaram positividade para lesões precursoras de alto risco de evolução para câncer (HSIL – NIC II e NIC III); 6 (4,16%) foram classificadas como ASC-US (atipias de significado indeterminado em células escamosas) por apresentarem ausência de alterações celulares que possam ser classificadas como neoplasia intra-epitelial cervical; 1 (0,69%) foram classificadas como ASC-H (atipia de células escamosas, sem excluir lesão de alto risco); 76 (52,77%) apresentaram alterações reativo-inflamatórias, e 58 (40,27%) apresentaram resultado negativo para malignidade, estes resultados foram similares ao estudo de Wright T. C. (et al, 2000), que avaliou 1.415 mulheres africanas de idades semelhantes, utilizando o exame de Papanicolau e teste do DNA do HPV, em que 1.174 (83%) tiveram resultados citológicos dentro dos limites da normalidade, 131 (9,26%) com ASC-US, 49 (3,46%) com lesão intra-epitelial de baixo risco (LSIL), 42 (2,97%) com lesão intra-epitelial de baixo risco (HSIL) e nenhum caso de câncer, também estão em concordância com o estudo de Denny (et al, 2000), que após o rastreamento citológico de 2,944 mulheres africanas, na faixa etária semelhante a deste estudo, foram encaminhadas para colposcopia e biópsia, mulheres com exames

citológicos alterados, apresentando 84,8% dentro do limites de normalidades; 7,0% com ASC-US; 5,3% com LSIL; 2,7% com HSIL e nenhum caso de carcinoma escamoso.

Os resultados do presente trabalho também são compatíveis com os encontrados por Manos, (et al,1999) realizado com 46.009 mulheres americanas, sendo que 973 (2,11%) que apresentaram resultados citológicos para ASC-US no exame de Papanicolau e foram encaminhadas para histologia e citologia de repetição. Destas, 783 (80,4%) ficaram dentro do limites de normalidade 124 (12,8%) com lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau e 64 (6,7%) com lesão intra-epitelial de alto grau e nenhum com câncer. Os exames citológicos foram repetidos de 957 mulheres e apenas 279 (29,2%) confirmaram resultado positivo para ASC-US 54 (5,6%) com LSIL; 23 (2,4%) com HSIL e 585 (61,1%) ficaram dentro dos limites de normalidade.

Ao analisar os fatores de risco das mulheres que participaram da pesquisa, observamos que dois fatores aumentaram consideravelmente o risco para o diagnóstico positivo no teste PCR-HPV, a idade está dentre um desses fatores, observamos que as mulheres entre 18 a 27 anos de idade, estavam entre as mais afetadas, das 39 pacientes, 7 (sete) apresentaram diagnóstico positivo para PCR-HPV, portanto equivalente a 17,9%. Por outro lado, entre as 105 pacientes com idade entre 28 a 75 ocorreram apenas 3 (três) casos positivos (2,9%) e outra variável significativa neste estudo foi a relação citologia x PCR-HPV.

A faixa etária com maior incidência de alterações atípicas (27,08%;39/144) foi de 18 a 27 anos de idade (Tabela 3). No estudo de Stival, (et al, 2005) realizado no Ambulatório de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), a idade das pacientes que apresentaram significativas alterações citopatológicas variou de 18 a 69 anos, com idade média de 36,5 anos e o intervalo de idades que apresentou o maior número de exames anormais (38%; 23/59) foi dos 18 aos 29 anos. Os dados do presente estudo diferem do estudo de Stival (et al, 2005), sendo que essas diferenças podem ser explicadas pelo fato de, que em nosso estudo, a amostra ser maior e compreender um intervalo maior de idades . Porém encontramos alguma semelhança com relação às idades onde foram encontradas as maiores incidências de alterações celulares atípicas. (STIVAL et al, 2005). A correlação entre o grau de escolaridade e a presença do HPV não mostrou diferença estatisticamente significativa. Entretanto houve uma prevalência maior nas pacientes com nível médio de ensino (47,92%), enquanto nas pacientes com mais ano de estudo (nível superior), não foi encontrado nenhum caso (Tabela 2).

Este fato nos sugere que a falta de informação acerca do HPV, aliado a uma má cobertura dos programas de controle do câncer do colo uterino ainda se constitui em uma

alternativa significativa a ser trabalhada. Kornia (et al, 2002) encontraram maior prevalência por HPV nas mulheres com menor escolaridade. Entretanto Adam (et al, 2000) não encontraram associação entre o nível de educação e a infecção por HPV. Este achado pode revelar a dificuldade de analisar um dado isolado, uma vez que a associação com outros fatores de risco é possível.

Ao observar o número de gestações, verificamos que as mulheres participantes deste estudo, apresentaram em sua maioria até duas gestações, este grupo de mulheres juntamente com as demais que apresentaram mais de três, foram as mais prevalentes entre as amostras positivas para HPV, este dado difere da realidade nacional, que segundo pesquisa realizada pelo ministério da saúde em 2006 é de 1,8 filhos por mulher.

Em relação ao número de gestações nossos resultados mostram uma diminuição da prevalência do HPV, com a maior paridade, estando de acordo com os dados da literatura. No entanto, divergem dos descritos por Gopalkrishina (et al, 1980), que demonstraram uma maior prevalência na infecção pelo vírus com aumento do número de gravidez (Índia) e justificaram pelo início precoce da vida reprodutiva, pela multiparidade com curto intervalo de partos. Isto, segundo os autores, poderia facilitar a replicação do vírus com maior frequência e, conseqüentemente, perpetuar a infecção.

Dentre as variáveis epidemiológicas analisadas no estudo, a faixa etária e a associação citologia e PCR mostram associação estatisticamente significativa com a infecção pelo HPV.

Não houve associação entre as variáveis: escolaridade, número de parceiros, número de gestações, número de abortos, profissão, número de filhos, número de partos, não demonstraram associação com o câncer de colo uterino. Esses dados divergem dos resultados obtidos por Rama (et al, 2008) nas cidade de São Paulo e Campinas, onde todas as variáveis apresentaram forte associação com a infecção. Por outro lado no nordeste brasileiro, Fernandes, (et al, 2009) verificaram associação entre idade, número de parceiros, atividade sexual.

Pôde-se observar que no presente estudo a quantidade de casos descritos com ASC-US (4,17%) encontram-se dentro das taxas registradas na literatura para atípia de significado indeterminado de célula escamosa, entre 0,2- 9%, o mesmo não acontecendo com relação aos casos descritos como LSIL (1,38%) percentual este abaixo aos encontrados na literatura, e as maiores taxas desta atípia foram encontradas em mulheres com idade superior a 49 anos, o que não é característico deste grupo, já que, estudos demonstram que a maior prevalência de LSIL ocorre em mulheres na faixa etária abaixo de 35 anos e tende a diminuir

progressivamente com o avançar da idade (SILVEIRA et al, 2008), tal resultado foi identificado em 60% das mulheres que apresentavam idade inferior a 34 anos, este dado também não condiz com a literatura, onde estudos mostram que as maiores prevalências são encontradas em mulheres abaixo de 25 anos, com progressivo decréscimo linear após esta idade alcançando valores inferiores a 5% após 55 anos.

Identificou-se, também, neste estudo que 03 pacientes (2,08%) apresentaram alterações celulares associadas à infecção pelo HPV, dados coerentes com o relato da literatura que indica uma variação de 2 a 48% na ocorrência de HPV, sendo essas diferenças encontradas de acordo com a região de estudo. A comparação entre o resultado citológico e infecção pelo HPV, no presente trabalho, revelou que duas (02) mulheres, ou seja, 20% que não apresentaram alteração citológica, eram positivas para HPV, diversos fatores contribuem para isso, dentre eles estão à coleta e qualidade do esfregaço que é fundamental em citologia para prevenção do câncer do colo uterino. Esses resultados divergem dos achados de Carvalho (et al, 2005), na cidade do Rio de Janeiro, em que 25% da infecção foi detectada em mulheres normal, e entre as mulheres com lesões pré-malignas a prevalência foi de 100%. Em Belo Horizonte, Freitas (et al, 2007) identificaram o HPV em 94,4% das lesões pré-malignas.

7 CONCLUSÃO

A prevalência da infecção pelo HPV (6,94%) em mulheres rastreadas para o câncer cervical e atendidas no Laboratório do Hospital Amazônia de Quatro Bocas, município de Tomé-Açu, Estado do Pará, mostrou-se inferior à prevalência descrita em outros Estados brasileiros.

As alterações celulares referentes ao HPV identificados no presente estudo eram, em sua maioria, de baixo risco (20%,/02/10). Entretanto, a identificação de atípias de células escamosas de significado indeterminado (70%) sugere o acompanhamento clínico e investigação detalhada das mulheres infectadas a fim de evitar a evolução desses casos para a neoplasia.

A predominância da infecção em mulheres com resultado citológico dentro da normalidade reforça a idéia de que a infecção pelo HPV não provoca, de imediato, alterações citológicas e o método de Papanicolau não apresenta alto grau de sensibilidade na investigação da infecção pelo HPV, sendo empregado apenas como um método de triagem.

O presente estudo verificou a associação estatisticamente significativa entre a infecção pelo HPV, e faixa etária e a associação entre a citomorfologia e o resultado da PCR-HPV.

REFERÊNCIAS

- ADM, E. et al. Papillomavírus detection: demographic and behavioral characteristics influencing the identification of cervical disease. **American Journal of Obstetrics e Gynecology**, v. 182, n. 2, p.257-64, 2000.
- AGÊNCIA INTERNACIONAL PARA PESQUISA DO CÂNCER. Associação Internacional de Registros de Câncer – IARC. **Registro de câncer: princípios e métodos**. Rio de Janeiro, 1995. (Publicações científicas da IARC, nº 95).
- ALMEIDA, A. C. **A correlação do câncer do colo uterino com papilomavírus humano**. Disponível em: <[HTTP://www.nates.ufjf.br/revista/pdf/n009n2/correlação.pdf](http://www.nates.ufjf.br/revista/pdf/n009n2/correlação.pdf)>. Acesso em: 13 de dezembro de 2006.
- AURIER, P. et al. Transformation zone location and intraepithelial neoplasia of the cervix uterine. **BJ Cancer**, v. 74, p. 488-490, 1996.
- AYRES, M. et al. **Bioestat 5. 0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém: Sociedade Civil de Mamirauá, 2007.
- BERNARD, H. U.; CHAIN, S. Y.; MANOS, M. M. Identification and Assessment of known and novel human papillomaviruses by polymorphisms, nucleotide sequence and phylogenetic algorithms. **Journal Infectology Disease**, v. 170, n. 5, p. 1077-85, nov., 1994.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Assistência à Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Coordenação de Prevenção e vigilância. **A Situação do Câncer no Brasil**. Brasília: INCA, 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portal da Saúde. **HPV – Perguntas e Respostas mais frequentes**. Disponível em: <<http://saúde.gov.br>>. Acesso em 28 de janeiro, 2007.
- CARESTIATO, F. N. et al. Analysis of molecular biology techniques for the diagnosis of human papillomavirus infection and cervical cancer prevention. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 9, n.5, p. 428-432, set./out., 2006.
- CARVALHO, M. O. O. et al. Human papillomavirus infection in Rio de Janeiro, Brazil: a retrospective study. **The Braziliam Journal of Infections Diseases**, v. 9, n. 5, p. 398-404, 2005.
- CASTELO FILHO, Adauto; ALVES, Francisco de Assis. Epidemiologia clínica aplicada a doenças infecciosas. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de infectologia**. São Paulo: Atheneu, 1996. p. 22-29.
- CASTLE, P. et al. Absolute risk of a subsequent abnormal pap among oncogenic human papillomavírus DNA – positive, cytologically negative woman. **Cancer**, v. 95, p. 2145-51, 2002.
- CASTRO, L. G. Doenças sexualmente transmissíveis. In: FILGUEIRA, N. A et al. **Contatos em clínica médica**. 3. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2004. p. 719-722.

CASTRO, L. P. F. Prevalência do papilomavírus humano e seus genótipos em mulheres portadoras do vírus da imunodeficiência humana. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 5, p. 248-52, 2000.

CDC – **A centers for disease control and Prevention** – Prevention of Genital Human papillomavirus infection. Gerberding JL (Diretor) Departamento of heath and Human Services, Report to congress, 2004.

COUTLEE, F. et al. The laboratory diagnosis of genital human pappillomavirus infections diseases. **The Canadian Journal of Infections Diseases e Medical Microbiology**, v. 16, n. 2, p. 83-91, 2005.

DENNY, L. et al. Evaluation of alternative methods of cervical cancer screening for resource-poor settings. **Cancer**, 2000. p. 826-833.

FEHRMANN, F.; KLUMPP, D. J.; LAIMINS, L. Human papillomavírus type 31 E5 protein supports cell cycle progression and activates late viral functions upon epithelial differentiation. **Journal of Virology**, v. 77, n. 5, p. 2819-2831, 2005.

FERENCZY, A. Viral testing for genital papilomavirus infection. **Internacional Journal Of Gynecological Cancer**, v. 6, n. 5, p. 231-328, 1995.

FERNANDES, J. V. et al. Prevalence of HPV infection by cervical cytologic status in Brasil. **Internacional Journal of Gynecology and Obstetrics**, v. 105, n. 1, p. 21-24, 2007.

FRANCO, E. L.; DUARTE-FRANCO, E.; FERENCZY, A. Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavírus infection. **Canadian Medical Association Journal**, v. 164, n. 7, p. 1017-1025, 2001.

FREITAS, T. P. et al. Molecular detection of HPV 16 and 18 in cervical samples of patients from. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 49, n.5, p. 297-301, 2007.

GAYA, B. et al. Condiloma acuminado bucal em pacientes soropositivo para HIV. **Revista Brasileira de Citopatologia**, v. 71, n. 1, p. 19-25, 1996.

GOLDIE, S. J. et al. A comprehensive natural history model of HPV infection and cervical cancer estimative the clinical impact of a propphylactic HPV-16/18 Vaccine. **International Journal of Cancer**, v. 106, n. 6, p. 896-904, 2003.

GOMPEL, C. et al. **Citologia ginecológica e suas bases anatomoclínicas**. São Paulo: Manole, 1997. p. 80-93.

GOPALKRISMA, V. et al. Increased human papillomaviruses infection with the increasing number of pregnancies in Indian woman. **Journal of Infectious Diseases**, v. 75, p. 75-78, 1980.

HILDESHEIM, A.; SCHIFMAN, M. H.; GRAVITT, P. Persistence of type-especific human papillomavirus infections ampng cytologically normal women in Porland Oregon. **Journal of Infectious Diseases**, v. 169, n. 2 , p. 235-40, 1994.

HOU, S. Y.; WU, Shwu-Yuan; CHIANG, Cheng-Ming. Transcriptional activity among high and low risk human papillomavirus E2 proteins correlates with E2 DNA binding. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 47, p. 45619-45629, 2002.

HUBERT, W. G; LAIMINIS, L. A. Human papillomavirus type 31 replication modes during the early phases of viral life cycle depend on transcriptional and posttranscriptional regulation of E1 and E2 expression. **Journal of Virology**, v. 76, n. 5, p. 2263-2273, 2002.

INTERNACIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES. **Virus taxonomy: VIIIth Report** the Internacional Committee on taxonomy of viruses, 2005. Disponível em: <http://icvtonline.org/viruses_taxonomy.asp> Acesso em: 09 de julho de 2005.

INTERNATIONAL AGENCY OF RESEARCH ON CÂNCER. Epidemiology of infection: human papillomaviruses. Racing Risk. **Chem Human**, v. 64, p. 60-5, 1995.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Câncer do colo do útero**. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/câncer/útero/estimativa>> Acesso em: 13 de maio de 2009.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Incidência do câncer no Brasil: estimativa 2008**. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa2008/>> Acesso em: 22 de junho de 2009.

JACYNTO, C.; FILHO, G. A.; MALDONADO. **HPV: infecção genital feminina e masculina**. Rio de Janeiro: Revinter, 1996.

KIVIAT, N. B.; KOUTSKY, L. A.; PAAVONEN, J. Cervical neoplasma and other STD-related genital tract neoplasias. In: HOLMES, K. et al. **Sexually transmitted diseases**. 3. ed. New York: McGraw-Hill, 1999. p.811-832.

KOUTSK, L. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. **The American Journal of Medicine**, v. 102, n. 5, p. 3-8, 1999.

KOSS, L. G. The papanicolaou test for cervical cancer detection: a triumph and a tragedy. **Journal of the American Medical Association**, v. 261, n. 5, p. 737-43, 1989.

KURMANN, R. J.; SOLOMON, D. **O Sistema de Bethesda para o Relato de Diagnóstico Citológico Cervicovaginal**. Rio de Janeiro: Revinter, 1977.

KORNYA L. et al. The diagnostic and prevalence of genital human papillomavirus (HPV) infection in hungary. **European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology**, v. 100, n. 2, 231-236, 2002.

LEE, D. et al. Human papillomavirus E2 Down- regulates the human telomerase reverse transcriptase promoter. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 31, p. 27748-27756, 2002.

MANOS, M. M. et al. Use of polymerase chain reaction amplification for detection of genital human papillomaviruses. **Cancer Cells**, News York, v.7, p. 209-214. 1989.

MANOS, M. M. et al. Identifying women with cervical neoplasia using human papillomavirus DNA testing for equivocal papanicolaou results. **Journal of the American Medical Association**, v. 281, p. 1605-1610, 1999.

MARTINS, M. C. L. et al. Avaliação do método de papanicolau para triagem de algumas infecções cérvico-vaginais. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 39, n. 3, p. 217-221, 2007.

MAHONY, J. B. et al. Comparason of plasmid and chromome based polymerase chain reaction assys for detecting chlamydea trachomatis nucleic acids. **Journal Clinical Microbiology**, Washington, v. 31, p. 1753-1758, 1993.

DERMOTT-WEBSTER et al. The HPV epidemic. **American Journal of Nursing**, v. 99, n. 3, p. 24L-24N, mar., 2000.

NAKAHARA, T. et al. Modulation of the cell division cycle by human papillomavirus type 18 E4. **Journal of Virology**, v. 76, n. 21, p. 10914-10920, 2002.

NORONHA, V. L. et al. Papilomavírus humano (HPV) em mulheres com citologia oncótica dentro dos limites da normalidade. **DST – Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v. 17, n. 1, p. 49-55, 2005.

OKADA, M. M. K.; GONÇALVES, M.; GERALDO, P. C. **Consenso brasileiro de HPV: Papilomavírus humano. Epidemiologia e patogênese do papilomavírus humano (HPV)**. São Paulo: Bg Cultural, 2000.

ORIEL, J. D. Natural history of genital warts. **British Journal of Venereal Diseases**, n. 47, p. 1-13, 1970.

OZBUN, M. Infectious human papillomavirus type 31b: purification and infection of na immortalized human kerationcyte cell line. **Journal of General Virology**, v. 83, n. 11, 2753-2763, 2002.

PAPILOMAVÍRUS humano. Disponível em: < <http://www.Uronws.com.br>>. Acesso em: 02 de abril de 2008.

PARELLADA, C. I.; PEREYRA, E. A. G. de. Papilomavíroses humana. In: FOCACCIA, R. **Veronesi: tratado de infectologia**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. p. 609-627.

PARK, R. D.; ANDROPHY, E. J. Genectic analysis of human-risk E6 in epissomal maintenance of human papilomavírus genomes in primary human keratinocytes. **Journal of Virology**, v. 76, n. 22, p. 11359-11364, 2002.

PASSOS, M. R. L. **D. S. T.** 4. ed. São Paulo: Cultura Médica, 1995. p. 10-12.

PEREIRA, E. A. G de. Importância da anuscópa de magnificação em mulheres com neoplasia intra-epiteliais cervical de alto grau. In: CONGRESSO PAULISTA DE OBSTETRÍCIA E GINECOLOGIA, 10. São Paulo. **Anais...** v. 1, n. 4, p. 113-14, 2005.

RAMA, C. H. et al. Prevalência do HPV em mulheres rastreadas para o câncer cervical. **Revista de Saúde Pública**, v. 42, n. 1, p. 123-30, 2008.

SCHIFMAN, M.; CASTLE. F. Human papillomavirus epidemiology and public heath. **Arch Pathol Lab Med**, v. 127, p. 930-934, 2003.

SILVEIRA, L. M.; SILVA, H. A.; PINHEIRO, W. M. F. Anormalidades citológicas na cérvix de mulheres atendidas no Laboratório Central de Saúde Pública do Maranhão. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 1, n. 4 p. 25-30, 2005.

SILVA, H. A. et al. Papilomavírus humano e lesões intra-epiteliais cervicais: estudo colpocitológico retrospectivo. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 35, n. 3, p.117-121, 2003.

SILVEIRA, L. M. S.; CRUZ, A. L. N.; FARIA, M. S. Atípias cervicais detectadas pela citologia em mulheres atendidas em dois hospitais da rede pública de São Luiz-MA. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 140, n 2, p. 115-119, 2008.

SHIRATA N. K. et al. Celularidade dos esfregaços cérvico-vaginais: importância em programas de garantia de qualidade em citopatologia. **Jornal Brasileiro Ginecologia**, v. 108, n. 3, p. 63-6, 1998.

STRICKLER, H. D. et al. Human papillomavirus type 16 and immun status in human immunodeficiency virus-seropositive women. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 95, n. 14, p. 1062-1071, 2003.

STIVAL, C. O.; LAZZAROTTO, Y. B. R.; VARGAS, V. R. A. Avaliação comparativa da citopatologia positiva, colposcopia e histologia: destacando a citologia como método de rastreamento do câncer do colo do útero. **Revista Brasileira de Análises Clínicas** v. 37, n. 4, p. 215-218, 2005.

TERHUNE, S. et al. Early polyadenylation signals of human papillomavirus type 31. Negatively regulat capsid gene expression. **Journal of Virology**, v. 75, n. 17, p. 8147- 8157, 2005.

TIN, S. K. et al. PCR- RFLP genotyping for exon 1 and promoter region mutations of the human mannosw binding. Lectin (MBL-2) gene. **Journal of Immunological Methods**, v. 303, n. 1, p. 148-151, 2005.

TULIO, S.; PINTO, A. P.; CRUZ, R. O. Co-fatores do HPV na oncogênese cervical. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 48, n. 1, 2007.

VILLA, L. L. **Papilomavírus Humano e Câncer do Colo de Útero**, 1977. Disponível em <<http://www.hcanc.org.br>> Acesso em: 02 de Julho de 2005.

WAGNER, E.; HEWLWT, M. **Basic Virology**, 2. ed. Massachusetts: Blackwell Science Inc. 2003.

WHIGTH, T. C. et al. HPV DNA testing of self-collet vaginal samples compared wich cytologic screening to detect cervical cancer. **Journal of the American Medical Association**, n. 283. p. 81-86, jan., 2000.

ANEXOS



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
LABORATÓRIO DE CITOPATOLOGIA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA

ANEXO 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Estou sendo convidado a participar de uma pesquisa sobre **PREVALÊNCIA DE PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM MATERIAL CÉRVICO-UTERINO DE MULHERES DE TOMÉ-AÇÚ-PARÁ**, que será desenvolvida no Laboratório de Biologia Celular e Molecular do Núcleo de Medicina Tropical, da Universidade Federal do Pará.

Para que eu decida em participar ou não da pesquisa me foram prestadas as seguintes informações:

- O título do projeto é Prevalência da Infecção pelo HPV em material cérvico-uterino de mulheres de Tomé-Açú-Pará, pelo Laboratório de Citopatologia da UFPA, na cidade de Belém, Pará.
- Essa pesquisa não oferece riscos biológicos, porque as práticas são de uso rotineiro. Uma pequena quantidade de secreção cervical será coletada e, posteriormente estocada a -20°C no Laboratório de Biologia Molecular do NMT da UFPA para pesquisas futuras, caso seja permitido pelo participante.
- Toda nova pesquisa com material estocado será submetida à aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa.
- Serão utilizados materiais esterilizados descartáveis, como espéculo e escovas endocervicais, não oferecendo risco de contaminação para a pessoa. No entanto, algum desconforto pode ocorrer.
- Ninguém é obrigado a participar da pesquisa, assim como qualquer pessoa poderá de deixar a pesquisa no momento em que quiser, pois não haverá prejuízo pessoal por esta causa.
- Esta pesquisa não oferece qualquer possibilidade de ajuda financeira aos voluntários que participarem do estudo.
- O resultado deste trabalho será convertido em benefício para todos os que participarem através da realização dos testes e auxílios dos órgãos competentes caso necessário.
- A participação na pesquisa é sigilosa, isto significa que, somente os pesquisadores ficarão sabendo de sua participação. Os dados utilizados na pesquisa terão uso exclusivo neste trabalho, sem a identificação individual do participante.

Profª Mihoko Yamamoto Tsutsumi.

Universidade Federal do Pará, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Patologia, Laboratório de Citopatologia, Rua Augusto Corrêa nº1 – Guamá, Fone/Fax: (91) 3201-8429.

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Declaro que li as informações acima sobre a pesquisa, que me sinto perfeitamente esclarecido acerca do conteúdo da mesma, assim como seus riscos e benefícios. Declaro ainda que, por minha livre vontade, aceito participar da pesquisa cooperando com a coleta de material para exame, permitindo que o mesmo seja armazenado para pesquisas futuras. Belém, ____/____/____.

Assinatura do participante

Prontuário: _____

Protocolo: _____



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
LABORATÓRIO DE CITOPATOLOGIA

ANEXO 2 - INFORMAÇÕES PESSOAIS

LÂMINA Nº

DATA DA COLETA:

QUESTIONÁRIO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO

NOME:

IDADE:

ENDEREÇO

TELEFONE:

ESTADO CIVIL:

PROFISSÃO/OCUPAÇÃO:

ESCOLARIDADE:

ANALFABETA

1º GRAU COMPLETO

1º GRAU INCOMPLETO 2º GRAU COMPLETO

2º GRAU INCOMPLETO 3º GRAU COMPLETO

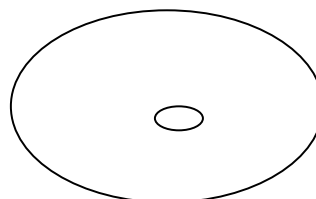
FUMANTE: SIM NÃO

ASPECTOS DO COLO ÚTERO

HIPEREMiado

FERIDO

ECTOPIA



OUTROS: _____

DADOS DA ANAMNESE

MENARCA: _____ ANOS D.U.M. ___/___/___ ÍNICIO DA VIDA SEXUAL: _____ ANOS
 TEM VIDA SEXUALMENTE ATIVA: () SIM () NÃO HÁ QUANTO TEMPO: _____
 Nº DE PARCEIROS NO ÚLTIMO ANO: _____
 Nº DE FILHOS: _____ Nº DE PARTOS NORMAIS: _____ ABORTO: _____ ESTÁ GRÁVIDA: _____
 USO DE ANTICONCEPCIONAL: () SIM () NÃO () JÁ USOU PERÍODO DE USO: _____
 USA REMÉDIO PARA TRATAR A MENOPAUSA: () SIM () NÃO
 DIABÉTICO: () SIM () NÃO RADIOTERAPIA: () SIM () NÃO QUANDO: _____ ÓRGÃO: _____
 FEZ ALGUMA CIRURGIA: () SIM () NÃO ÓRGÃO: _____ () CAUTERIZAÇÃO () BIÓPSIA
 JÁ FEZ PREVENTIVO: () SIM () NÃO EM QUE ANO FEZ O ÚLTIMO: _____ ONDE: _____
 TOMA REMÉDIO PRA VERME: () SIM () NÃO ÚLTIMA VEZ QUE TOMOU: _____

SINTOMATOLOGIA

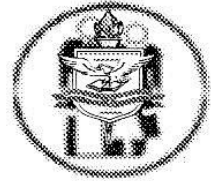
SECREÇÃO VAGINAL: () SIM () NÃO INTENSIDADE: () SIM () NÃO
 COR: () AMARELO OURO () AMARELO CLARO () ACINZENTADO () BRANCO LEITOSO
 ODOR: () SIM () NÃO

OUTROS SINTOMAS

ARDÊNCIA AO URINAR: () SIM () NÃO
 PRURIDO/COCEIRA: () SIM () NÃO
 DOR NO BAIXO VENTRE DURANTE AS RELAÇÕES SEXUAIS () SIM () NÃO
 SANGRAMENTO: () SIM () NÃO
 PARCEIROS COM SINTOMAS: () SIM () NÃO



Universidade Federal do Pará



**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS DO INSTITUTO DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**

Carta Provisória: 173/08 CEP-ICS/UFPA

Belém, 04 de novembro de 2008.


A:
Prof^ª. Dr^ª. **Maísa Silva de Souza**

Senhora Pesquisadora,

Temos a satisfação de informar que seu projeto de pesquisa **“Avaliação da citologia clínica na prevenção e detecção precoce de câncer”** protocolo nº **156/08 CEP-ICS/UFPA**, foi apreciado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará, na reunião do dia 09 de setembro de 2008.

Assim, Vossa Senhoria tem o compromisso de entregar o relatório parcial do mesmo no dia 10 de agosto de 2009, no CEP-ICS/UFPA, situado na Cidade Universitária Professor José da Silveira Netto - Guamá, Campus profissional, no Complexo de sala de aula do ICS – sala 13 (Altos).

Atenciosamente,


Prof. Dr. Wallace Raimundo Araujo dos Santos.
Coordenador do CEP-ICS/UFPA