

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE
PÚBLICA

ROSSANA DE ARAÚJO CATÃO ZAMPRONHA

**TIPOS DE HPV E CÂNCER DO COLO UTERINO:
IMPACTO NO PROGNÓSTICO DAS PACIENTES
COM TUMORES NOS ESTÁDIOS INICIAIS**

Dissertação de Mestrado

ORIENTADOR: Prof. Dr. Ruffo de Freitas Júnior
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Eddie Fernando Cândido Murta

Goiânia, 2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE
PÚBLICA

ROSSANA DE ARAÚJO CATÃO ZAMPRONHA

**TIPOS DE HPV E CÂNCER DO COLO UTERINO:
IMPACTO NO PROGNÓSTICO DAS PACIENTES
COM TUMORES NOS ESTÁDIOS INICIAIS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa Pós-graduação em Medicina Tropical da Universidade Federal de Goiás, para obtenção do Título de Mestre, na área de concentração em Doenças Infecto-parasitárias.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Ruffo de Freitas Júnior
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Eddie Fernando Cândido Murta

Goiânia, 2008

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca IEP/ACCG)**

Zampronha, Rossana de Araújo Catão
Z26a **Tipos de HPV e câncer do colo uterino: impacto no**
 prognóstico das pacientes com tumores nos estadios
iniciais / Rossana de Araújo Catão Zampronha. – Goiânia, 2008.

89 f.: il., tabs., figs.

Orientador: Ruffo de Freitas Júnior

Co-Orientador: Eddie Fernando Cândido Murta

Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) Universidade
Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública 2008.

Referências: 71 a 78

Inclui lista de abreviaturas, siglas e símbolos.

Anexo.

1. Papilomavirus humano 2. Câncer do Colo Uterino
3. Prognóstico. I Freitas Jr., Ruffo II Murta, Eddie Fernando
Cândido III Universidade Federal de Goiás IV Título.

CDU: 618.14-006

Dedico este trabalho...

A meu esposo e companheiro Anderson Zampronha, grande parceiro na minha vida, tendo compartilhado comigo momentos de alegria e momentos de incerteza e a quem devo por ter tornado mais fáceis alguns momentos de dificuldades, direcionados pelo seu senso de humor e de equilíbrio diante dos fatos. Você é uma pessoa especial.

Aos meus pais Israel da Silva Catão e Ana Gonzaga de Araújo Catão, pelo amor, cuidados, apoio, incentivo e pela confiança que em mim sempre depositaram, assim como pela compreensão pelos momentos de ausência, por vezes de impaciência, comuns àqueles que necessitam dedicar-se a trabalhos de pesquisa.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ruffo de Freitas Júnior, cuja atenção, incentivo à pesquisa, entusiasmo, paciência, apoio técnico-científico foram fundamentais para o meu crescimento científico e com os quais os caminhos dessa pesquisa puderam ser amenizados, o meu eterno reconhecimento.

Agradecimentos

Ao meu Co-orientador, Prof. Dr. Eddie Fernando Cândido Murta, à Prof. Dra. Márcia Antoniazi Michelin e à Prof. Dra. Sheila Jorge Adad pelo apoio técnico científico, sem os quais esse trabalho não teria tido êxito.

Ao Dr. Amaurillo Monteiro de Oliveira pelo apoio incondicional, incentivo e amizade, durante todo o período dessa pesquisa.

Aos meus colegas de equipe do Serviço de Ginecologia e Mama do Hospital Araújo Jorge, Estanislau de Araújo Jorge, Francisco de Assis Freire Dourado, Geraldo da Silva Queiroz, Luiz Fernando Jubé Ribeiro, Marco Aurélio da Costa Silva, Maurício Duarte Espiridião e Rubens José Pereira, pela ajuda durante o decorrer do mestrado, facilitando a sua plena concretização.

Aos meus sobrinhos Raquel Araújo Leite Catão e Rodrigo Araújo Leite Catão pela disposição em ajudar sempre quando solicitados.

Às pacientes incluídas neste estudo, sem as quais não haveria um ponto de partida.

Às secretárias e técnicas em enfermagem do serviço de Ginecologia e Mama, Áurea, Rosângela, Luciene, Eliana, Sueze, Fernanda e Lúcia pela solicitude, sempre presente, quando requisitadas.

Ao Registro de Câncer de Base Hospitalar e seus funcionários pelo serviço prestado na elaboração das listas de pacientes-alvo para a pesquisa, as quais foram de grande utilidade para a seleção dos casos adequados à pesquisa.

Ao Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Araújo Jorge, especialmente nas pessoas da Dra. Glória Jabur Bittar e aos funcionários Marilene Alves Rocha e Eterno Ribeiro da Silva pela ajuda na busca, seleção e conferência do material de pesquisa.

Aos funcionários do SAME, do HAJ, Dinalva, Eduardo, Eva, Leonildes, Eber, Bruno, Flávio, Wanderson. Stela, Daniel, Isaias, Cláudio, Leandro, Suellen, Claudia e Elaine pela busca dos prontuários solicitados para a execução dessa pesquisa.

Ao Centro de Oncologia de Goiânia pelo apoio operacional nas pessoas da ex-cordenadora de estudo Mara, na atual cordenadora Rosana Alkimin e na estagiária Tâmara.

Aos funcionários do IEP, Marta, José Olímpio, Emília, Wesley e Renato, que sempre estão prontos a prestar a assistência necessária quando requisitados.

Aos professores da Pós-Graduação em Medicina Tropical pela dedicação ao ensino e à pesquisa.

Ao Professor Dr. Joaquim Caetano de Oliveira Netto, à Prof. Dra. Rosane Alves Figueiredo e ao Dr. Régis de Resende Paulinelli pelas valiosas sugestões apresentadas durante o exame de qualificação desta dissertação.

Aos funcionários do IPTSP Kariny Vieira Soares e José Clementino de Oliveira Neto pelo profissionalismo e atenção sempre presentes.

À minha grande amiga Dra. Fátima Mrué, pela compreensão, pelo carinho, pelos ensinamentos profissionais e pela constante prontidão com que sempre se comportou ao longo de vários anos da nossa amizade e especificamente na análise crítica deste estudo.

Às minhas amigas Magda Maria Matheus Vieira, Eliane da Silva Ribeiro e Rosicléia de Vlieger, pelo carinho e pela demonstração real do que significa a palavra amizade.

Aos amigos de trabalho da Maternidade Dona Íris, que compartilharam comigo de cada passo durante esse mestrado, incentivando, apoiando e torcendo sempre pelo bom êxito do mesmo, a minha mais pura gratidão.

Ao biólogo Edésio Martins pela atenção em atender à solicitação da análise estatística desta pesquisa.

1. **INTRODUÇÃO:** O câncer do colo uterino é a terceira neoplasia maligna mais freqüente entre as mulheres no Brasil e entre elas é responsável pela quarta causa de morte por câncer. Está relacionado, entre outras causas, à infecção persistente pelo papilomavirus humano. Persistem dúvidas se o tipo de HPV exerce influência sobre o prognóstico da doença. **OBJETIVO:** Estudar a prevalência do HPV 18 e HPV 16 em mulheres com o câncer do colo uterino no estágio clínico Ib, tratadas por histerectomia radical com linfadenectomia pélvica, procurando estabelecer correlação prognóstica. **MÉTODOS:** Estudo de coorte retrospectivo, incluindo 86 pacientes com câncer do colo uterino Ec I, submetidas à histerectomia radical, em um único centro, no qual foram analisados os fatores prognósticos já conhecidos, além da presença do HPV 16 e 18, pesquisado por PCR. Utilizou-se análise univariada, com curvas de Kaplan-Meier, para estimativa de sobrevida. **RESULTADOS:** A prevalência do HPV 16 no grupo estudado foi de 65,3% e a prevalência do HPV 18 foi de 33,3%. A prevalência dos casos em que houve infecção por ambos os vírus foi de 26,9%. A sobrevida global para as mulheres portadoras do HPV 18, aos sessenta meses, foi de 91% e nas que não eram portadoras desse vírus foi de 96% (NS). Já para as mulheres portadoras do HPV 16 a sobrevida global foi de 94% e para as não portadoras desse vírus a sobrevida foi 96% (NS). A sobrevida livre de doença também não foi influenciada pela presença do HPV 18 e do HPV 16. **CONCLUSÃO:** No presente estudo, apesar da alta prevalência do HPV 18 e do HPV 16, a presença desses tipos de HPV não influenciaram o prognóstico das pacientes portadoras de câncer de colo uterino, Ec I, submetidas à histerectomia radical.

Palavras-chave: papilomavirus humano, câncer do colo uterino, prognóstico.

INTRODUCTION: The cervical cancer is the third most frequent malignant neoplasia among women in Brazil and it is responsible for the fourth cause of death for cancer. It is related among other causes to persistent infection by human papillomavirus. Doubts persist if HPV type could influence the tumor prognosis. **OBJECTIVE:** To study the prevalence of HPV 18 and HPV 16 in women presenting cervical cancer in clinic stage Ib, treated by radical hysterectomy with linfadenectomy, establishing prognostic correlation. **METHODS:** A retrospective cohort study, including 86 patients with cervical cancer Ec I, submitted to radical hysterectomy, in a single center, in which were analysed the known prognostic factors and the positivity to HPV by PCR. Univariate analysis was performed, with Kaplan-Meir curves, for survival estimative. **RESULTS:** The prevalence of HPV 16 infection was 65.3% and HPV 18 prevalence was 33.3%. To both virus the prevalence was 26.9%. The overall survival for women presenting HPV 18 infection, in sixty months, was 91% and those women without HPV 18 infection, the overall survival was 96%. The overall survival for women with and without HPV16 infection was 94% and 96%, respectively. The disease free survival was not influenced by the presence of either virus. **CONCLUSION:** In the present study, in spite of the high prevalence of HPV 18 and HPV 16, the presence of these types of HPV have not influenced the prognosis of EcI cervixl cancer in women submitted to radical hysterectomy.

Keywords: human papillomavirus; cervix cancer, prognosis.

Tabelas, Figuras e Anexos

Figura	Enunciado	Página
Figura 1	Figura esquemática do capsídeo do HPV	24
Figura 2	Representação esquemática do genoma do HPV 16	25
Figura 3	Prevalência dos tipos HPV no câncer cervical invasor de acordo com as macro-regiões do Brasil	29
Figura 4	Distribuição percentual das lesões induzidas pelo HPV	31
Figura 5	Aspecto macroscópico de um câncer invasor em um espécime cirúrgico	36
Figura 6	Gel da Reação em cadeia da polimerase	52
Figura 7	Análise de sobrevida livre de doença	57
Figura 8	Análise de sobrevida global	58
Figura 9	Sobrevida livre de doença de acordo com a presença ou não de HPV 16	59
Figura 10	Sobrevida livre de doença de acordo com a presença ou não de HPV 18	60
Quadro 1	Seqüência dos oligonucleotídeos iniciadores sintetizados para a amplificação de fragmentos específicos de DNA.	50
Fluxograma 1	Fluxograma de entrada das pacientes no estudo	44
Tabela 1	Características demográficas e clínico-patológicas das pacientes portadoras de câncer invasor do colo uterino	55
Tabela 2	Análise Univariada segundo a presença ou ausência de recidiva/características clinicopatológicas/HPV	61
Anexo 1	Parecer do Comitê de Ética	88
Anexo 2	Ficha de pesquisa clínica	89

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

ACCG	Associação de Combate ao Câncer em Goiás
Aids	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CEC	Carcinoma espinocelular
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DNA	Ácido desoxiribonucleico
FIGO	Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia
HAJ	Hospital Araújo Jorge
HPV	Papilomavírus humano
GOG	Gynecology Oncology Group
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IEP	Instituto de Ensino e Pesquisa
IPON	Instituto de Pesquisa em Oncologia
MS	Ministério da Saúde
NS	Não significativo
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em cadeia da polimerase
pRB	Proteína do Retinoblastoma
RCBH	Registro de Câncer de Base Hospitalar

SAME	Serviço de Arquivo Médico e Estatística
SEER	National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology, and End Results
SGM	Serviço de Ginecologia e Mama
SPAIS	Superintendência de Políticas de Atenção Integral à Saúde
UFTM	Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Índice

RESUMO.....	09
ABSTRACT.....	10
TABELAS, FIGURAS E ANEXOS.....	11
SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS.....	12
ÍNDICE.....	14
1- INTRODUÇÃO.....	16
1.1 PERFIL EPIDEMIOLÓGICO.....	19
1.2 FATORES DE PROGRESSÃO.....	23
1.3 PAPILOMAVIRUS HUMANO.....	24
<i>Características</i>	24
<i>Distribuição Geográfica</i>	26
<i>História Natural</i>	28
<i>Detecção</i>	32
<i>Vacina</i>	33
1.4 RELAÇÃO DO HPV COM O PROGNÓSTICO DAS PACIENTES PORTADORAS DE CÂNCER DO COLO UTERINO.....	35
2- OBJETIVO.....	40
2.1 <i>Objetivos Gerais</i>	40
2.2 <i>Objetivos Específicos</i>	40
3. METODOLOGIA.....	41

3.1 Delineamento e população do estudo.....	41
3.2 <i>Tamanho amostral</i>	41
3.3 <i>Seleção da amostra</i>	41
3.4 <i>Critérios de inclusão</i>	44
3.5 <i>Critérios de exclusão</i>	45
3.6 <i>Coleta e armazenamento de dados</i>	45
3.7 <i>Características clínicas e patológicas</i>	45
3.8 <i>Tratamento</i>	46
3.9 <i>Definições</i>	46
3.10 <i>Detecção do HPV</i>	47
3.10.1 <i>Extração do DNA</i>	47
3.10.2 <i>Identificação Genotípica</i>	48
3.11 <i>Análise Estatística</i>	52
3.12 <i>Considerações Éticas</i>	53
4. <i>RESULTADOS</i>	54
5. <i>DISCUSSÃO</i>	62
6. <i>CONCLUSÃO</i>	70
7. <i>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i>	71
8. <i>ANEXOS</i>	88

1. Introdução

O câncer do colo uterino é considerado o segundo tumor mais incidente nas mulheres em todo o mundo e a cada cinco novos casos diagnosticados no mundo, quatro ocorrem nos países em desenvolvimento. As taxas de incidência ajustadas por idade podem variar de 10 casos por 100.000 mulheres, em países industrializados, para 40 casos em 100.000 em alguns países em desenvolvimento, a exemplo do que ocorre no Paraguai (Parkin *et al.* 1992; IARC 1998; Rolón *et al.* 2000). As Américas do Sul e central estão entre aquelas de maior risco para o desenvolvimento do câncer do colo uterino (Franco *et al.* 2001; IARC 2006). No Brasil é a terceira neoplasia maligna mais freqüente entre as mulheres, sendo a primeira o câncer de pele (não-melanoma) e a segunda o câncer de mama. É responsável pela quarta causa de morte por câncer nas mulheres (Ministério da Saúde. 2008).

De acordo com dados do Ministério da Saúde, estima-se que em 2008 ocorram 19 mil casos novos de câncer de colo uterino no Brasil, sendo ultrapassados apenas pelo câncer de mama, para o qual é esperada uma ocorrência de 49 mil novos casos e pelo câncer de pele, exceto melanoma, para o qual são esperados 115 mil novos casos. Esta estimativa distribui-se de maneira diferente de acordo com as áreas geográficas, sendo que apenas na região Norte a expectativa de casos novos de câncer de colo uterino se sobrepõe aos casos novos de câncer de mama, que por sua vez sobrepõem-se

aos casos novos de câncer de colo uterino nas demais regiões (Ministério da Saúde 2008).

No estado de Goiás estima-se a ocorrência de 19,08 casos para cada 100.000 mulheres e na capital do estado, Goiânia, espera-se a ocorrência de 23,26 casos para cada 100.000 mulheres no ano de 2008 (Ministério da Saúde 2008).

Ainda no estado de Goiás, a taxa bruta de mortalidade por este tipo de câncer é de 6,1 para cada 100.000 mulheres na faixa etária a partir dos 20 anos. Esse risco de morte cresce proporcionalmente à medida que ocorre aumento da faixa-etária, acentuando-se a partir dos quarenta anos (SPAIS 2006).

A taxa bruta de incidência em Goiânia foi de 18,33/100.000 em 2002 e a taxa de mortalidade foi de 3,32/100.000 no mesmo ano, em contraste com os dados do ano de 1988, que apresentava taxas brutas de incidência de 31,36/100.000 e de mortalidade de 5,93/100.000. Foi identificada uma tendência linear positiva no aumento da incidência do carcinoma *in situ* do colo uterino e uma tendência linear negativa na incidência do câncer invasor do colo uterino, na cidade de Goiânia, o que deve estar relacionado a uma maior eficácia nas políticas de saúde pública para o diagnóstico precoce das lesões precursoras e invasivas do colo uterino, Os dados acima apresentados ainda não foram publicados (Curado *et al.* 2005).

A relação entre o câncer do colo uterino e a atividade sexual foi evidenciada pela primeira vez pelo epidemiologista Rigoni-Stern, em 1842,

quando observou um número mais expressivo de morte em decorrência dessa doença em mulheres casadas do que entre freiras.

Pela primeira vez, na década de 60, foi observado que as células obtidas do condiloma acuminado apresentavam halos perinucleares e poderiam ser confundidas com lesões intraepiteliais malignas (Papanicolaou 1960).

Na década seguinte, Meisels e Fortin fizeram revisão de sete mil casos classificados como displasia leve e moderada do colo uterino, termo utilizado naquela época para definir neoplasia intra-epitelial, e observaram que alguns daqueles casos classificados como displasia leve foram redefinidos como condiloma acuminado. Propuseram que eram lesões provocadas por vírus, eram sexualmente transmissíveis, às vezes regrediam espontaneamente e que o seu papel na gênese das neoplasias intraepiteliais e do câncer do colo uterino ainda necessitava ser demonstrado (Meisels & Fortin 1975).

Nas últimas décadas estudos epidemiológicos correlacionaram o papilomavirus humano (HPV) ao câncer do colo uterino, o qual passou a ser considerado como sendo o seu agente etiológico central (Zur Hausen *et al.* 1986; Munhoz *et al.* 1992; Bosch *et al.* 1995; Walboomers *et al.* 1999).

O HPV também está envolvido com outros tipos de câncer em seres humanos, como o cancer coloretal (Poletti *et al.* 1988; Frisch *et al.* 2000; Frazer *et al.* 2006, D'Souza *et al.* 2007), em torno de 25% a 30% dos carcinomas espinocelulares de cabeça e pescoço (Frazer *et al.* 2006; Pintos *et al.* 2008; Rose *et al.* 2008) e do pênis (Sarkar *et al.* 1992; Gregoire *et al.* 1997; Frazer *et al.* 2006).

Em estudo retrospectivo usando dados do SEER, verificou-se que mulheres portadoras de câncer do colo uterino têm risco aumentado de desenvolverem um segundo tumor primário, do tipo espinocelular, da cabeça e pescoço, do que mulheres que tiveram outros tipos de câncer (Rose *et al.* 2008).

1.1 PERFIL EPIDEMIOLÓGICO

O perfil epidemiológico do câncer do colo uterino está bem delineado, estando freqüentemente associado a fatores como: atividade sexual (Gagnon F 1950; Logan WPD 1953; Towne JE 1955; Kessler II 1976), multiplicidade de parceiros sexuais (Rojel J 1953; Harris *et al.* 1980; Reeves *et al.* 1985), imunidade baixa (Palefsky *et al.* 2003), multiparidade (Castellsagué *et al.* 2002; Munhoz *et al.* 2002), uso de contraceptivos orais (Beral *et al.* 1988; Gram *et al.* 1988; Ursin *et al.* 1994, Smith *et al.* 2003) e tabagismo (Winkelstein *et al.* 1977; Wright *et al.* 1978; Harris *et al.* 1980; Lyon *et al.* 1983; Helberg *et al.* 1988; Kuper *et al.* 2002).

Vários estudos epidemiológicos confirmaram haver taxas expressivamente mais altas do câncer do colo uterino em mulheres com atividade sexual do que nas celibatárias (Gagnon F 1950; Logan WPD 1953; Towne JE 1955). O conceito de que o câncer do colo uterino poderia ser considerado como uma conseqüência de doença sexualmente transmissível foi proposto por Kessler em 1976.

A multiplicidade de parceiros sexuais favorece maior possibilidade de exposição a doenças sexualmente transmissíveis e é fator relevante para o risco de desenvolvimento do câncer do colo uterino (Rojel J 1953; Reeves *et al.* 1985).

O parceiro de risco, assim denominado aquele indivíduo com antecedentes sexuais de relacionamento com múltiplas parceiras, especialmente com prostitutas, associa-se a um risco relativo de desenvolvimento de câncer do colo uterino de 7,8 em suas parceiras (Buckley *et al.* 1981; Zunzuneghi *et al.* 1986).

O relacionamento de mulheres com homens portadores de câncer de pênis seria outro fator de risco para o câncer do colo uterino (Waterhouse *et al.* 1982).

Inversamente aos fatores de progressão, a circuncisão masculina está associada à redução do risco de desenvolvimento de câncer de pênis e, por outro lado, também está associada à redução do risco de desenvolvimento de câncer do colo uterino em sua parceira, mesmo quando o homem tem história de múltiplas parceiras sexuais (Castellsagué *et al.* 2002).

O comprometimento do sistema imune é fator relevante para o desenvolvimento de lesões malignas do colo uterino, podendo ter evolução nefasta, com rápida evolução para o óbito em mulheres portadoras de Aids. Nas mulheres portadoras de Aids e câncer do colo uterino também são encontrados mais frequentemente tumores pouco diferenciados, maior envolvimento dos gânglios linfáticos (Palefsky *et al.* 2003).

Afortunadamente, as taxas de câncer do colo uterino e anal entre os portadores da Aids são relativamente baixas e não relacionadas à contagem do CD4. O mecanismo pelo qual HPV e HIV interagem ainda é desconhecido, mas acredita-se que esteja ligado à imunossupressão e não pela interação entre os dois vírus (Cameron & Hagensee 2007).

Em estudo realizado na população do nordeste do Brasil, a presença dos alelos HLA-DRB1*05 esteve relacionada a um risco maior para a persistência da infecção pelo HPV e para o desenvolvimento do carcinoma espinocelular do colo uterino. Inversamente, as mulheres portadoras dos alelos HLA-DQB1*05, HLA-DRB1*0101 ou HLA-DRB1*1302 tiveram risco diminuído para o desenvolvimento do carcinoma espinocelular (Maciag *et al.* 2000).

Alguns antígenos leucocitários estão reconhecidamente relacionados a um risco maior de infecção persistente por HPV e, conseqüentemente, a um risco maior do desenvolvimento de câncer do colo uterino, os quais são a seguir citados: A11, B7 e DR2. Na costa oeste da Finlândia, onde há uma incidência aumentada do câncer do colo uterino, encontrou-se uma freqüência aumentada de dois desses genes (HLA-DR2 e B7) e uma freqüência diminuída do gene de resistência ao câncer do colo uterino (HLA-B15) (Castro *et al.* 2007).

O possível papel do tabagismo no câncer do colo uterino foi sugerido por Winkelstein, em 1977, quando o mesmo elaborou a hipótese de que o câncer de pulmão e o câncer do colo uterino teriam em comum o hábito do tabagismo. Estudos epidemiológicos posteriormente demonstraram que as mulheres tabagistas apresentavam com maior freqüência tanto lesões pré-malignas quanto malignas do colo uterino (Wright *et al.* 1978; Harris *et al.* 1980; Lyon *et al.* 1983; Winkelstein *et al.* 1984, Helberg *et al.* 1988; Montesanto *et al.* 2001). Também foi demonstrada uma redução do número de células de Langerhans na mucosa cervical das mulheres fumantes (Kuper *et al.* 2002) e, embora já esteja estabelecido que o tabagismo seja considerado um fator de risco para o desenvolvimento do câncer cervical, ainda existem poucos dados para

comprovar a sua associação com uma sobrevida desfavorável das mulheres portadoras dessa neoplasia maligna (Waggoner *et al.* 2003).

A multiparidade pode estar relacionada ao câncer do colo uterino em decorrência dos traumas repetidos no colo uterino, o que propicia a manutenção da zona de transformação exposta na ectocérvice, favorecendo uma exposição a agentes infecciosos, incluindo o HPV. Além disso, na gravidez ocorre uma alteração do sistema imune, o que explica uma maior possibilidade de expressão dos genes virais (Castellsagué *et al.* 2002; Munhoz *et al.* 2002).

O papel do anticoncepcional hormonal no câncer do colo permanece controverso. Apesar de que alguns estudos não terem mostrado nenhuma relação entre o uso dos anticoncepcionais hormonais e um risco aumentado do desenvolvimento do câncer do colo uterino (Cavalcante *et al.* 2000; Molano *et al.* 2003), outros sugerem que possa haver uma associação com um aumento do risco relativo de 4,4 para o desenvolvimento de adenocarcinoma cervical (Ursin *et al.* 1994). Também foi mostrado que o uso prolongado de anticoncepcionais hormonais orais aumenta o risco relativo de desenvolvimento do câncer cervical, associado ao tempo do seu uso, o qual permanece elevado mesmo após a sua interrupção, de acordo com resultado de metanálise (Smith *et al.* 2003). Corroborando com este pensamento, outros autores acreditam que o uso desses medicamentos por um período superior a cinco anos, especialmente nas multíparas, possa ter influência na progressão de lesões pré-malignas, por aumentarem a expressão dos genes E6 e E7 do HPV, favorecendo a incorporação do HPV ao genoma do hospedeiro (Madeleine *et al.* 2001; Bosch *et al.* 2002; de Villiers *et al.* 2002; Muñoz *et al.* 2002; Moscicki *et al.* 2005) Moreno e

colaboradores sugerem que usuárias de contraceptivos orais por períodos prolongados deveriam ser incluídas em programas de rastreamento de câncer do colo uterino (Moreno *et al.* 2002).

Entretanto vale ressaltar que o adenocarcinoma viloglandular, um tipo bem diferenciado de adenocarcinoma descrito por Young e Scully, tem em sua etiologia a associação entre o uso de contraceptivos hormonais e a infecção pelo HPV (Young & Scully 1989, Yamazawa *et al.* 2000, Jones *et al.* 2000).

Apesar da evidente correlação dos fatores discutidos anteriormente com o desenvolvimento do câncer do colo uterino, estudos epidemiológicos apontam a infecção genital pelo HPV como fator necessário para que o câncer do colo uterino se manifeste (Bosch *et al.* 1995; Walbbomers *et al.* 1999).

1.2 FATORES DE PROGRESSÃO

Os fatores de progressão são aqueles que irão contribuir para que a lesão induzida pelo HPV evolua para lesão de alto-grau e para neoplasia invasora. Dentre esses fatores, encontram-se a persistência do vírus, notadamente aqueles considerados oncogênicos (kjaer *et al.* 2003), a alta carga viral (Ho *et al.* 1998), o estado imunossupressivo por diversas causas, tais como o uso de imunossupressores, uso prolongado de corticosteróides, a Aids, na qual a prevalência do HPV é alta e ocorre freqüentemente infecção múltipla (Correa 2008).

As mulheres imunodeprimidas estarão mais susceptíveis a desenvolverem lesões induzidas pelo HPV, inclusive o câncer (Carvalho & Ribalta 2005). O HIV facilita a infecção pelo HPV, por promover a depleção das células de Langehans,

diminuindo a resposta local à infecção provocada pelo HPV. No entanto, a terapia antiretroviral não tem influência sobre a evolução das doenças relacionadas ao HPV (Palefsky *et al.* 2003).

1.3- PAPILOMAVIRUS HUMANO

Características

O vírion do papilomavírus humano é um vírus DNA, da Família do *Papillomaviridae*, não envelopado, com 72 capsômeros. Possui capsídeo com 55 nm de diâmetro e apresenta-se de forma icosaédrica, conforme é mostrado na representação gráfica na figura 1. Seu genoma é circular, composto por dupla fita de DNA com comprimento de 7.900 Kb e massa de 5.000 KDa. Contem nove janelas de leitura (open reading frame – ORF), nas quais se posicionam tanto os genes de leitura precoce (early) E1, E2, E4, E5, E6 e E7, quanto aqueles de leitura tardia (late), L1 e L2. Há também uma região não codificadora (large control region – LCR) que controla os demais genes.



Figura 1 – Representação esquemática do capsídeo do HPV, extraído do Site Microbiologybytes.

Cada um dos genes atua por meio de uma proteína do mesmo nome, que apresenta função específica, conforme esquema abaixo:

E1 – responde pela replicação episossomal do vírus.

E2 – regula negativamente as funções das proteínas E6 e E7.

E4 – produz a proteína secundária do capsídeo viral.

E5 – induz a proliferação da célula infectada pelo vírus.

E6 – provoca a destruição da proteína p53 da célula hospedeira via ubiquitina e mantêm o comprimento da telomerase acima do seu ponto crítico, protegendo a célula contra a apoptose.

E7 – inativa a proteína pRB da célula hospedeira, impedindo o bloqueio do ciclo celular.

L1 – sintetiza a proteína principal do capsídeo viral.

L2 – expressa a proteína secundária do capsídeo viral.

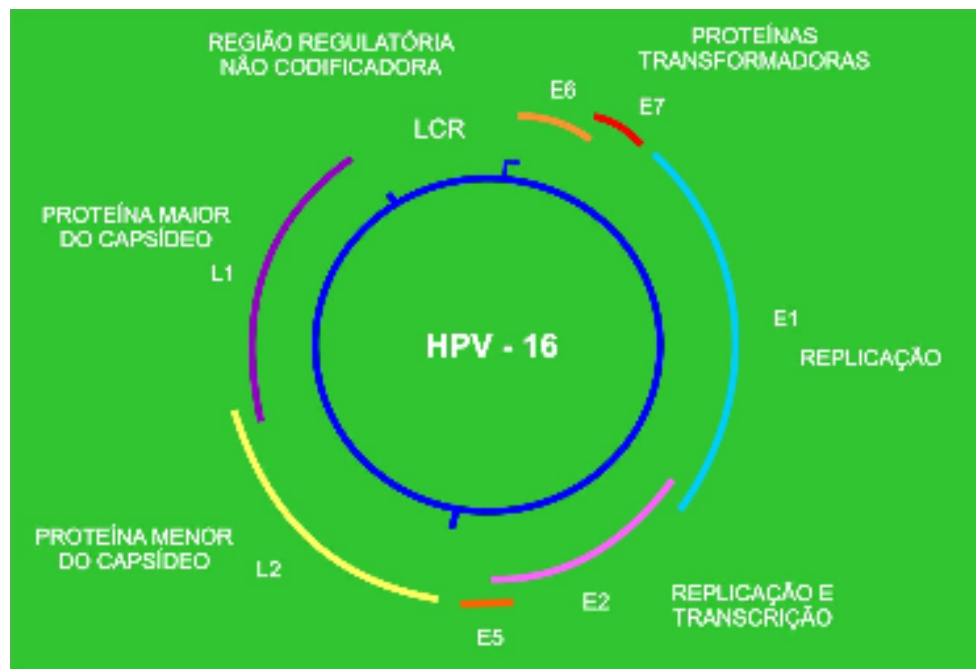


Figura 2 - Representação esquemática do genoma do HPV 16, adaptada do Site CINVESTAV.

Mais de 200 tipos de vírus HPV já foram seqüenciados e, desses, aproximadamente quarenta tipos podem infectar a genitália humana (De Villiers *et al.* 2004). Os tipos de HPV considerados de baixo risco oncogênico, os quais estão freqüentemente associados às lesões intra-epiteliais de baixo grau e a condilomas acuminados são: 6, 11, 40, 42, 43, 54, 61, 70, 72, 81. Aqueles considerados de alto risco oncogênico, por estarem freqüentemente associados às neoplasias intra-epiteliais de alto grau e às neoplasias invasoras são os tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 e 82 (Munhoz *et al.* 2003).

A literatura tem mostrado que o vírus tipo 16 está mais freqüentemente associado ao carcinoma espinocelular, o carcinoma das células escamosas, o qual varia de 85% a 90% dos tumores. O HPV 18 tem sido mais freqüentemente encontrado em tumores do tipo histológico adenocarcinoma (até 20%) e adenoescamoso (3% a 5%), os quais em geral tendem a incidir em faixas etárias mais baixas e a evoluir de forma mais agressiva (Burger *et al.* 1996; Munhoz *et al.* 2003). O HPV 16 e o HPV 18 são responsáveis por 70% dos tumores malignos do colo uterino (Bosch *et al.* 1995; Burger *et al.* 1996; van Muyden *et al.* 1999; Munhoz *et al.* 2004).

Distribuição geográfica

O HPV 16 é o tipo mais prevalente tanto nas lesões pré-neoplásicas quanto nas lesões neoplásicas do colo uterino, em todo o mundo, exceto na Indonésia, onde prevalece o HPV 18. Todavia, na América do Sul e Central, além dos tipos 16 e 18, são também prevalentes os tipos 31, 33 e 45 (Bosch *et*

al. 1995). No Brasil, a prevalência dos tipos de HPV não é uniforme, exceto para o tipo 16, que é o principal tipo isolado em todas as regiões do país. Na região Centro-Oeste, porém, o segundo tipo viral mais prevalente foi o tipo 33 e o terceiro mais prevalente foi o tipo 18. Foram isolados, na região Sul, os tipos 18 e 31 respectivamente, como os segundos e terceiros mais prevalentes. No sudeste o segundo tipo mais prevalente foi o HPV 18 e os terceiros mais prevalentes foram os tipos 31 e 33. Na região norte o segundo tipo mais prevalente foi o 18, sendo que os terceiros mais prevalentes correspondiam a um grupo com diversos tipos virais. Na região nordeste o segundo tipo mais prevalente foi HPV 31 e o tipo 18 foi o terceiro, conforme mostra a Figura 2 (Rabelo-Santos *et al.* 2003). Estudo realizado em adolescentes na periferia da cidade de Goiânia revelou que o HPV tipo 16 é o mais prevalente e que o HPV 18 está na quinta posição, atrás dos tipos 51, 31 e 52 (Daud 2005). Na mesma população estudada, subsequente, observou-se que a prevalência de infecção por mais de um tipo de vírus foi elevada e os vírus de alto risco oncogênico foram detectados na quase totalidade dos casos (Alves 2006).

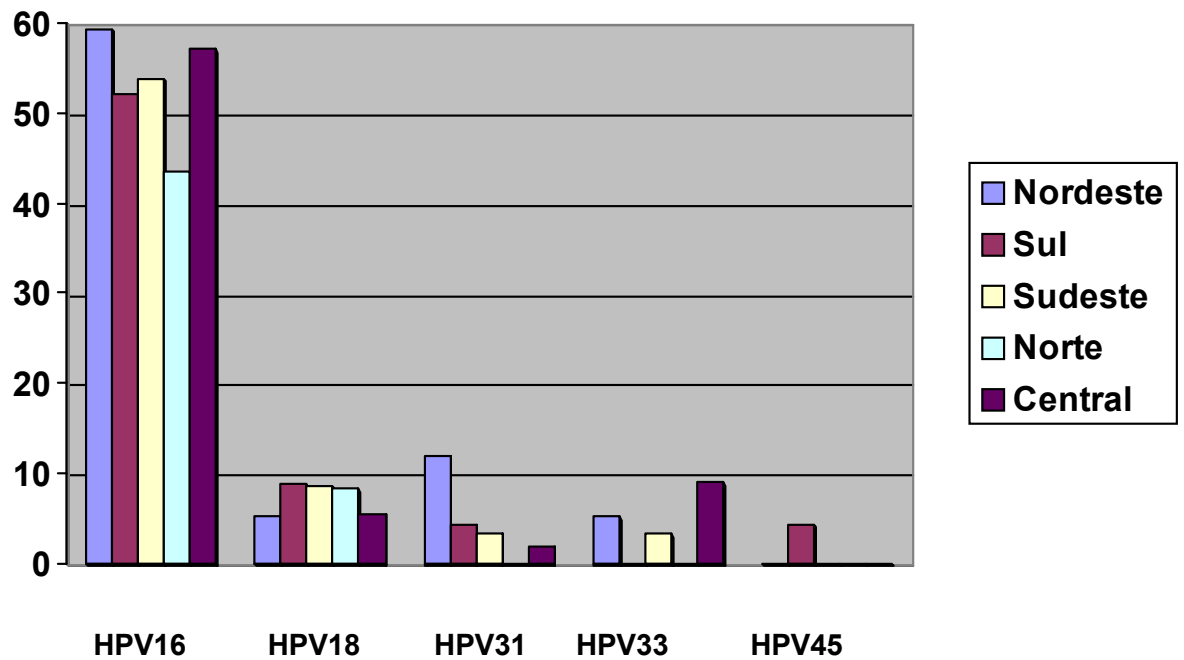


Figura 3. Prevalência dos tipos de HPV no câncer cervical invasor de acordo com as macro-regiões do Brasil, adaptado de Rabelo-Santos *et al.* 2003.

História natural

O ciclo de vida do HPV está ligado aos processos de replicação e divisão celular, dos quais depende. As camadas superficiais do epitélio escamoso, por já serem bem diferenciadas, sofrem processos de divisão com menor frequência. Isso explica o tropismo do vírus pelas camadas basais do epitélio escamoso, onde a divisão celular é intensa e o vírus encontra ambiente propício para a iniciação do ciclo infeccioso. Provavelmente o vírus atinge a camada basal tanto através das micro-abrasões que ocorrem na mucosa durante o coito, como também essa passagem pode ser facilitada nas áreas em que o epitélio da

cérvice é mais delgado, como é o caso da zona de transformação (Shiffman *et al.* 2003).

Após o estabelecimento da infecção nas células, o vírus passa a utilizar-se de todos os mecanismos da célula hospedeira em seu favor e inicia a replicação do seu material genético, expressando a partir daí as proteínas virais. Algumas proteínas virais têm poder inibitório da diferenciação celular, fato que é decisivo para a perpetuação da replicação viral, pois o vírus é dependente da continuidade da divisão celular e esse fator inibidor da maturação celular estimulará continuamente a proliferação celular, perpetuando o ciclo vital do vírus. O crescimento incessante das células é, portanto, a característica primordial da infecção pelo HPV (Frazer *et al.* 2006).

Outra característica fundamental para a efetividade do processo infeccioso é que, durante todo o processo de maturação celular no epitélio, as células infectadas permanecem intactas, fato que proporciona proteção ao vírus durante todo o seu ciclo de vida (Padilla-Paz *et al.* 2005).

Os mecanismos imunológicos envolvidos na defesa do organismo humano contra o HPV incluem a imunidade inespecífica e específica. As citocinas representam a imunidade inespecífica contra o HPV. Elas atuam inibindo a expressão dos genes virais e a proliferação celular, estimulando a apoptose, estimulando a migração dos leucócitos para o sítio da infecção e inibindo a angiogênese tumoral. Porém, a imunidade celular atua de maneira definitiva contra o HPV, notadamente os linfócitos CD8 e CD4. Para que os leucócitos reconheçam as proteínas virais é necessário que as mesmas estejam fora do ambiente celular, ocorra sua captura pelas células de Langerhans,

proporcionando o reconhecimento dessas proteínas virais pela imunidade celular (Gonçalves *et al.* 2004).

Os pontos-chave para o desencadeamento do processo neoplásico são a integração de fragmentos de DNA do HPV ao DNA do hospedeiro e o desequilíbrio subsequente do genoma deste último, no qual a expressão do gene E2 do HPV levará à inibição da transcrição gênica do hospedeiro, o que acarretará no estacionamento do ciclo celular na fase G1. A seguir ocorre o bloqueio da p53, cuja função seria controlar a integridade do DNA, devido à expressão do gene E6. A partir daí, ocorre o favorecimento da ação do gene E7 o qual, por sua vez, irá bloquear o gene Rb do hospedeiro, liberando assim o processo proliferativo. Todos esses eventos permitirão que o HPV tenha a sua replicação garantida durante a maturação das células proliferadas (Pilch *et al.* 2001).

A transmissão do HPV, na maioria das vezes, acontece através do ato sexual sem a proteção de preservativos (Bosch *et al.* 1995). No entanto o HPV já foi detectado em mulheres virgens, indicando a possibilidade de transmissão vertical, assim como o desenvolvimento da papilomatose laríngea em crianças nascidas de mães portadoras de HPV genital (Carr & Gyorfí, 2000). O número de parceiros sexuais e a ausência de união estável são fatores associados à infecção pelo HPV e pelos tipos de alto risco oncogênicos (Alves, 2006). Após dois anos de atividade sexual, pelo menos 50% das mulheres terão adquirido algum tipo de HPV e, em toda a sua vida, o risco poderá chegar a 80%. A maioria das mulheres infectadas pelo HPV terá infecção transitória e estima-se que em 5% a manifestação clínica será em forma de condilomas acuminados,

em 35% a infecção viral manifestar-se-á na forma de exames citológicos anormais, em 8,7% como neoplasia intra-epitelial e menos de 1% como carcinoma invasor. Esta infecção ocorre principalmente em mulheres jovens e em geral, costuma ser transitória (Ho *et al.* 1998, Moscicki *et al.* 1998), conforme pode ser visto na figura 4. Quando a infecção torna-se persistente, notadamente com os tipos de HPV de alto risco, a possibilidade do desenvolvimento de lesões de alto grau é grande (Kjaer *et al.* .2002).

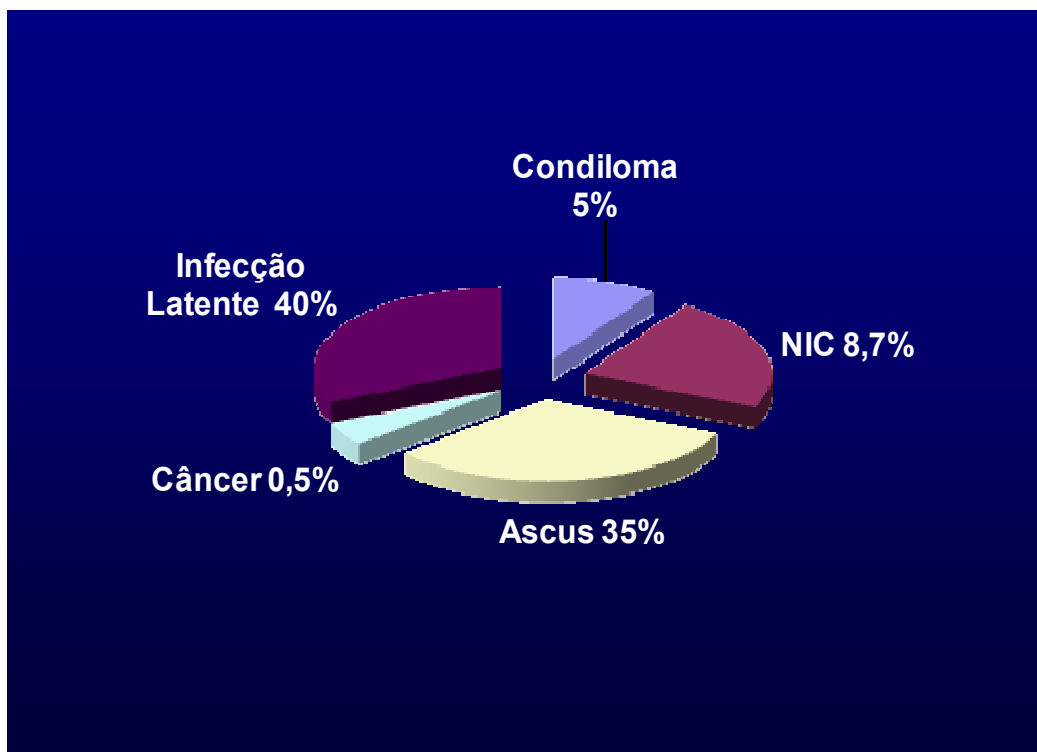


Figura 4: Distribuição percentual das lesões induzidas pelo HPV

O risco de desenvolvimento do câncer cervical invasor em mulheres infectadas pelo HPV, sem tratamento, é de 1 a 2 por 1.000 mulheres, num período acima de 24 meses e o tempo habitual para que 50% dos casos prevalentes tornem-se HPV-DNA negativos é de 4,8 meses, para os tipos não-oncogênicos e 8,1 meses para os tipos oncogênicos (Ho *et al.* 1986).

Detecção

A captura híbrida II (HC2) e a reação em cadeia da polimerase (PCR) são métodos bastante eficazes para a detecção do HPV. São testes muito sensíveis para detecção do HPV. São considerados muito úteis para o auxílio na diferenciação no diagnóstico entre adenocarcinoma de origem endometrial e endocervical, além da sua importância no seguimento das pacientes tratadas por lesões intra-epiteliais de alto-grau (Zielinski *et al.* 2003; Moriaty *et al.* 2003).

A utilização da técnica de captura híbrida II (HC2) mostrou-se bastante eficaz para a identificação do HPV de alto risco, tanto em lesões escamosas quanto glandulares, permitindo a identificação adequada dessa categoria de HPV nas lesões glandulares (Moreira *et al.* 2006).

O método de PCR foi desenvolvido por Kary Muller no ano de 1987 e tem sido mais amplamente empregado em trabalhos de pesquisas epidemiológicas. É uma técnica enzimática complexa que torna possível a amplificação das seqüências de DNA de uma amostra em milhares de vezes. É possível utilizá-lo em tecidos preparados em parafina e em amostras a fresco.

As variações da técnica de PCR são a RT-PCR, *nested* PCR, *multiplex* PCR, PCR a partir de *primers* randômicos e PCR em tempo real (Corrêa, 2007).

O RT-PCR converte uma amostra de RNA em cDNA, através do emprego da transcriptase reversa. Posteriormente promove a amplificação por PCR.

Nested PCR amplifica o seguimento genômico de forma geral. Posteriormente faz-se, a partir desse primeiro produto, a amplificação da seqüência-alvo. Esse método tem por finalidade aumentar a sensibilidade e especificidade do método.

Multiplex PCR foi concebido com a intenção de detectar múltiplas seqüências-alvo numa mesma amostra.

PCR a partir de *primers* randômicos utiliza seqüências curtas de oligonucleotídeos, com o objetivo de amplificar regiões repetitivas do DNA genômico.

No PCR em tempo real a amplificação e a detecção ocorrem ao mesmo tempo, utilizando um termociclador que monitora a emissão de fluorescência. Ela é empregada para a quantificação de amostras, para testes de carga viral e monitoramento de doença residual mínima.

Vacina

As vacinas contra HPV são formuladas a partir da proteína maior do capsídeo, L1, de partículas naturais do HPV. Quando L1 é expresso em um sistema recombinante, gera partículas semelhantes ao capsídeo viral, as quais são denominadas de VLP, do inglês virus- like particles, tendo como vantagem a

ausência do material genético do HPV nessas partículas virais, o que evita a possibilidade de uma transformação celular induzida por E6 e E7 (Zhou *et al.* 1991).

Outra vantagem do VLP é a indução a uma resposta imunológica mais eficaz do que a infecção natural pelo HPV (Viscidi *et al.* 2004; Jansen & Shaw 2004).

As vacinas que estão atualmente registradas na ANVISA atuam sobre os tipos 6, 11, 16 e 18 (Quadrivalente) e 16 e 18 apenas (Bivalente), o que na verdade engloba os tipos de vírus mais comumente relacionados às verrugas genitais (6 e 11) e ao desenvolvimento das lesões pré-malignas e malignas do colo uterino (16 e 18). Dão proteção apenas para as lesões associadas aos vírus específicos das vacinas. Mostrou-se eficaz em prevenir lesões pré-malignas, particularmente entre mulheres com idade entre 15 e 25 anos que receberam as três doses recomendadas, que tiveram mais de seis parceiros sexuais e que não apresentavam anormalidades citológicas ao exame de colpocitologia oncótica. A vacina é bem tolerada e segura (Rombout *et al.* 2007).

Não apresenta efeitos terapêuticos em lesões HPV induzidas pré-existentes ou em portadoras saudáveis. Em decorrência da ausência da proteção global contra outros vírus envolvidos na indução do desenvolvimento do câncer cervical, o seguimento das mulheres vacinadas deve ser mantido, não se dispensando o trabalho educativo, levando informações à população sob risco, das formas de transmissão e prevenção e informando sobre a proteção oferecida pelos preservativos. Mesmo com a possibilidade de vacinação é necessária a manutenção da prevenção secundária, através da realização periódica de

colpocitologia oncótica. É possível que, no futuro, a vacinação passe a ser o novo padrão de prevenção para as doenças HPV relacionadas, embora a eficácia da vacina, em longo prazo, precise ser mais bem estudada (Monsonego J 2007).

Entretanto, algumas dúvidas ainda carecem de melhores esclarecimentos a respeito de sua efetividade em proteger mulheres que são portadoras de gens HLA tipos A11, B7, DR2, os quais são permissivos à ação do HPV, da infecção persistente e do câncer do colo uterino (Castro *et al.* 2007).

1.4-RELAÇÃO DO HPV COM O PROGNÓSTICO DAS PACIENTES PORTADORAS DE CÂNCER DO COLO UTERINO

As taxas de sobrevida das mulheres com câncer invasor do colo uterino geralmente são altas nos estádios iniciais. Para o tratamento do câncer do colo uterino no estágio clínico IB, tumor invasor restrito ao colo uterino (figura 6), freqüentemente indica-se a técnica cirúrgica clássica conhecida como Wertheim-Meigs, a qual consiste na histerectomia radical com linfadenectomia pélvica (Meigs 1945; Lai *et al.* 2007). Todavia o tratamento radioterápico também é uma modalidade terapêutica que produz resultados com eficácia semelhante (Waggoner *et al.* 2001; Lai *et al.* 2007).

Não obstante, vários fatores podem ter influência no prognóstico das mulheres portadoras desse tumor, a saber: estágio clínico, comprometimento dos linfonodos por células tumorais, tamanho do tumor, envolvimento parametrial e invasão do espaço linfovascular (Lai *et al.* 2007).



Figura 5. Aspecto macroscópico de um câncer invasor do colo uterino num espécime cirúrgico. Fonte: arquivo pessoal.

Nos últimos dez anos alguns estudos têm obtido evidências de que o HPV pode exercer influência desfavorável no prognóstico de portadoras de câncer do colo uterino, notadamente naquelas com tumores em estágios iniciais que foram submetidas à histerectomia radical com linfadenectomia pélvica (Pilch *et al.* 2001; Lai *et al.* 2007). Estudo incluindo pacientes portadoras de neoplasia intra-epitelial cervical evidenciou uma tendência à progressão para câncer, num período de tempo mais curto, na presença de infecção por HPV 16 e 18. Também foi demonstrada a associação significativa de invasão do espaço linfovascular e o comprometimento dos linfonodos à presença dos HPV tipos 16 e 18 (Pilch *et al.* 2001).

Recentemente foi publicado estudo realizado em Taiwan, com número expressivo de pacientes portadoras de carcinoma cervical em estágios iniciais, do EC IB a EC IIA, submetidas a tratamento cirúrgico radical, no qual foi

encontrada a presença do HPV 18 em 16.5% das amostras. Em análise multivariada a positividade para HPV 18 esteve significativamente relacionada à recidiva tumoral. O HPV também esteve fortemente associado à presença do tipo histológico adenoescamoso (43%) e a presença de invasão angiolinfática (Lai *et al.* 2007).

Também foi investigada a influência do tabagismo na evolução clínica das mulheres portadoras de câncer do colo uterino e, embora tenha havido uma tendência a uma pior evolução nas mulheres tabagistas, o que se mostrou estatisticamente significante foi o achado da presença do HPV 18 ou 45, os quais são genotipicamente relacionados, associado a um risco duas vezes maior de ocorrência de óbito, em decorrência do tumor (Waggoner *et al.* 2003). Tais achados foram reproduzidos por outros autores, que observaram os mesmos padrões dos estudos anteriores, mostrando que o achado do HPV 18 nas portadoras de tumores em estágios iniciais, submetidas a histerectomia radical com linfadenectomia pélvica, foi preditivo em relação ao prognóstico mais desfavorável, com maior risco de morte (Huang *et al.* 2004).

A persistência do HPV, após o término do tratamento, esteve também correlacionada à recidiva tumoral (Nagay *et al.* 2004). O achado do HPV nas células esfoliadas e no plasma, bem como com uma alta carga viral, também evidenciaram maior risco de recidiva tumoral (Singh *et al.* 2006). Títulos elevados da carga viral (>1000 RLU/cut off), usando o teste de captura híbrida II para DNA, podem predizer a resposta ao tratamento radioterápico e a sobrevida, assim como a redução dos títulos da carga viral a 99,5%, ao término do tratamento, esteve associada a uma maior sobrevida (Datta *et al.* 2006).

Quando foram comparados os tipos de HPV e a resposta ao tratamento, nas pacientes portadoras de carcinoma do colo uterino estágio clínico III ou superior, submetidas a tratamento quimioterápico neoadjuvante com CDDP (cisplatina), a taxa de resposta foi igual para todos os tipos de HPV, embora tenha sido observada uma maior sobrevida nas pacientes portadoras dos tipos de HPV 16 e 33, os quais foram os mais prevalentes. Os demais vírus identificados foram os tipos 18, 31, 35 e 58 (Nobeyama *et al.* 2004).

Faz-se necessária, portanto, uma análise criteriosa dos casos de câncer do colo uterino em estadio inicial (estadio I), fazendo a pesquisa da presença do HPV 16 e 18, avaliando a sua prevalência, estabelecendo o perfil das pacientes portadoras da doença, correlacionando esses dados com os tipos histológicos encontrados, o grau de diferenciação do tumor, procurando principalmente estabelecer o tipo mais prevalente nesta população estudada, assim como correlacionar com a evolução da doença, taxas de resposta ao tratamento, tempo livre de doença e sobrevida, delineando o perfil das pacientes tratadas no Hospital Araújo Jorge, da Associação de Combate ao Câncer em Goiás (ACCG).

Ao exemplo do que já vem sendo delineado para outros tipos de tumores, há de se definirem fatores prognósticos adicionais aos já classicamente estabelecidos. Na eventualidade de se conseguir correlacionar a presença de algum tipo específico de HPV com um prognóstico mais desfavorável na sobrevida das mulheres portadoras de câncer do colo uterino em estadio inicial, torna-se necessário, também, redefinir os esquemas terapêuticos atuais, propondo individualizar subgrupos de pacientes que

possam ser beneficiadas com a adição de outras modalidades terapêuticas além das consideradas padrão-ouro, a exemplo do que ocorreu com a adição da quimioterapia radio-sensibilizante com cisplatina no tratamento do câncer do colo uterino a partir de 1999, com diminuição do risco de morte (Peters *et al.* 2000).

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Estudar a associação do HPV 16 e 18 com o câncer do colo uterino no estadio clínico IB, em pacientes submetidas a histerectomia radical com linfadenectomia pélvica, tentando estabelecer correlação prognóstica.

2.2. Objetivos específicos.

- 2.2.1. Estabelecer a prevalência do vírus HPV (tipos 16 e 18) nos espécimes cirúrgicos obtidos de pacientes com câncer do colo uterino, estadiamento clínico Ib, submetidas à cirurgia de Wertheim-Meigs.
- 2.2.2. Correlacionar os tipos de HPV 16 e 18 com o tipo histológico, o grau de anaplasia, a invasão vascular e invasão linfonodal.
- 2.2.3. Comparar a sobrevida livre de doença das pacientes portadoras do vírus HPV 16 e 18 com a sobrevida das pacientes não portadoras desses tipos virais.
- 2.2.4. Comparar a sobrevida global entre as portadoras do vírus HPV 16 e 18 com as não portadoras.

3. Metodologia

3.1 DELINEAMENTO E POPULAÇÃO DO ESTUDO

Estudo de coorte retrospectiva desenvolvido no Hospital Araújo Jorge, Goiânia, Goiás, avaliando prontuários de mulheres portadoras de câncer invasor do colo uterino, estágio clínico I, submetidas a histerectomia radical com linfadenectomia, a partir do ano de 1992 a 2003.

Serão analisados dados clínicos e patológicos, os quais também serão correlacionados ao resultado da genotipagem do HPV, para avaliação de sua influência na recidiva tumoral e sobrevida global.

3.2. TAMANHO AMOSTRAL

Considerando-se que é esperado que a sobrevida de pacientes com câncer de colo uterino no EC IB seja de aproximadamente 90% quando tratadas por histerectomia radical com linfadenectomia pélvica; considerando-se que a infecção por HPV 18 possa reduzir essa sobrevida para 70%, com prevalência de HPV 16 e 18 de 60%, utilizando um erro α de 0,05 e o poder do teste de 95%, com a análise monocaudal espera-se que seja incluído um número de pelo menos 86 pacientes no estudo.

3.3 SELEÇÃO DA AMOSTRA

Foi obtida a lista de todas as pacientes com diagnóstico de câncer do colo uterino que foram atendidas no HAJ, usando o banco de dados do Registro de Câncer de Base Hospitalar (RCBH), entre os anos de 1990 e 2003, exceto nos anos de 1993 a 1995, cujo levantamento pelo RCBH ainda não está completamente concluído. Foi obtida a aprovação pelo CEP da instituição. A partir dessa lista foram pré-selecionadas todas as pacientes estadiadas como EC IB e também aqueles prontuários que não continham em sua capa o estadiamento. Não foram localizados pelo SAME 231 prontuários, de um total de 1038 prontuários solicitados. A partir desse ponto foi realizada nova seleção de prontuários, incluindo todos os casos em que as pacientes foram submetidas à histerectomia radical com linfadenectomia pélvica, tendo sido analisados um total de 160 prontuários nessa etapa. A partir desta nova seleção, foi elaborada uma lista solicitando ao serviço de Anatomia-Patologica a disponibilização dos blocos de parafina dos espécimes tumorais em questão, pois o estudo previa a detecção do HPV 16 e 18 do material tumoral fixado em formol e preparado em parafina. Contudo, só puderam ser resgatados para análise, naquela ocasião, 92 blocos de parafina no Serviço de Anatomia Patológica do HAJ, para a execução do exame de PCR para a detecção do HPV.

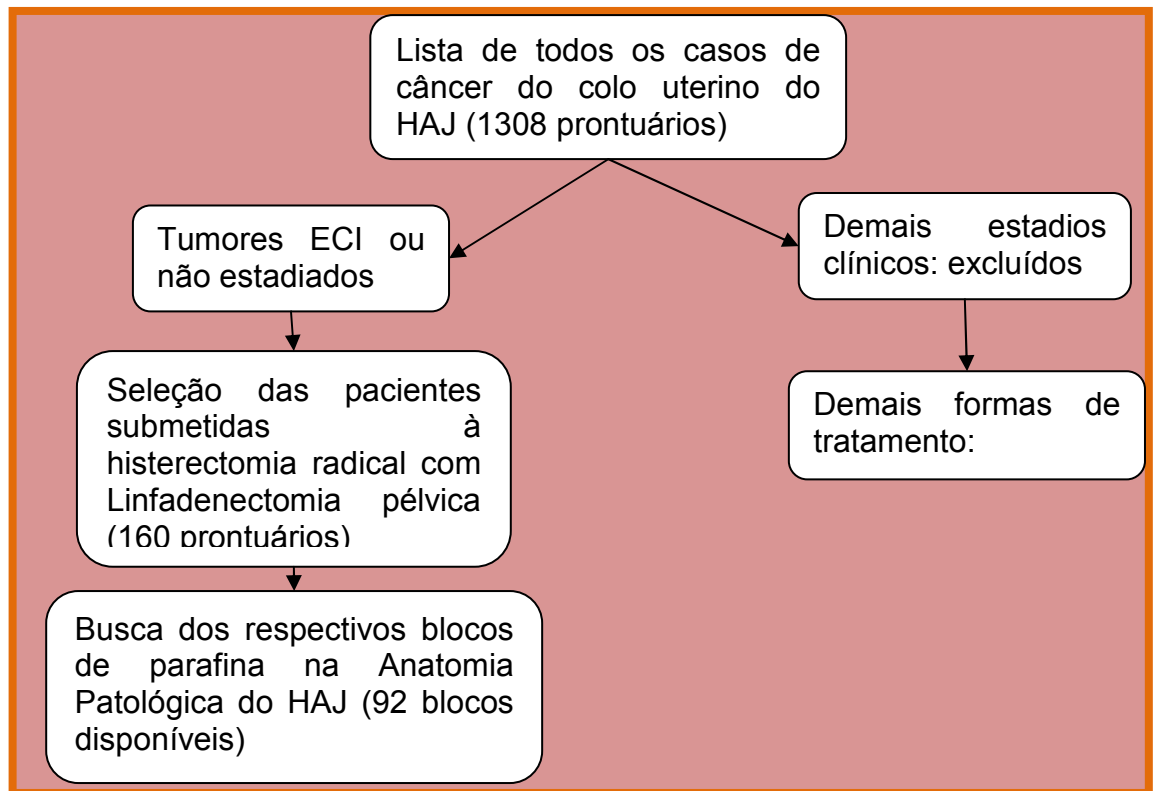
Os blocos de parafina foram entregues à Universidade Federal do Triângulo Mineiro e, a pedido do IPON, os blocos de parafina não foram submetidos a recorte prévio para que, nos mesmos, pudessem ser escolhidos os fragmentos mais representativos para a execução do PCR. Alguns laudos do exame anatomopatológico não faziam referência à invasão linfovascular e por

esse motivo não foi possível avaliar a invasão linfática nos casos em que esse dado estava ausente, antes que os blocos de parafina pudessem ser recortados e preparados para a execução do exame de PCR. Esse fato demandou um tempo mais ampliado e conseqüentemente essa análise histológica ficou prejudicada, embora o setor de anatomia patológica da UFTM tenha feito grande parte daquela análise que ficara incompleta.

Foram selecionadas a princípio para esse estudo 92 pacientes portadoras de câncer invasivo do colo uterino que haviam sido tratadas no HAJ, no serviço de Ginecologia e mama. Foram selecionadas segundo os critérios de inclusão e exclusão pacientes a partir do ano de 1992 até 2003, exceto os anos de 1993, 1994 e 1995, pois na lista fornecida pelo RCBH relativa aos anos de 1990 e 1991 não foi selecionado nenhum caso para análise.

A busca ativa de pacientes foi realizada através de contato telefônico quando o número de telefone para contato registrado no prontuário ainda era existente. Na falha desse mecanismo, foi utilizado o envio de telegramas, com o objetivo de reduzir o índice de censura por perda de seguimento.

Seis casos foram excluídos da análise, em decorrência das respectivas amostras terem sido consideradas inválidas para análise.



Fluxograma 1. Entrada das pacientes no estudo.

3.4. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

3.4.1 Pacientes portadoras de câncer do colo uterino IB, tumores do tipo histológico epitelial, que tenham sido submetidas a histerectomia radical no serviço de Ginecologia e Mama (HAJ/ACCG).

3.4.2. Possuir exame anatomopatológico e os respectivos blocos de parafina arquivados no setor de Anatomia Patológica (HAJ/ACCG).

3.4.3. Estarem estadiados de acordo com as normas da Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (FIGO).

3.5. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

3.5.1. Pacientes cujos blocos de parafina não contenham o tumor.

3.5.2 Pacientes que tenham tido diagnóstico de outras neoplasias malignas invasoras, exceto câncer de pele não melanoma.

3.6. COLETA E ARMAZENAMENTO DE DADOS

A coleta de dados foi obtida através de revisão de prontuários, de acordo com a ficha de pesquisa clínica e confeccionado um banco de dados codificados e armazenados em planilha de EXCEL.

3.7. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E PATOLÓGICAS

Serão analisados os seguintes dados:

1) Idade, expressos em anos completos, por ocasião do diagnóstico do câncer.

2) Número de gestações e de partos ocorridos até o diagnóstico do câncer.

3) Tipo histológico do tumor conforme classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS), o qual será denominado como Carcinoma espinocelular, Adenocarcinoma, Adenoescamoso, indiferenciado e outros tipos.

4) Grau de anaplasia será classificado em graus, I, II, III e indiferenciado, de acordo com a OMS.

5) Invasão linfovascular, devendo ser classificada como **sim**, quando houver a presença de células neoplásicas nos vasos linfáticos peri-tumorais, e **não** quando estas características citadas não forem encontradas.

6) Linfonodos pélvicos comprometidos serão considerados como **sim**, quando houver um ou mais linfonodos comprometidos por células tumorais, devendo também ser considerado o número de linfonodos comprometidos.

3.8. TRATAMENTO:

Cirúrgico exclusivo: considerado nos casos em que a paciente foi submetida somente à histerectomia radical com linfadenectomia pélvica;

Adjuvante: cirurgia radical seguida de radioterapia (RT) pós – operatória;

Neoadjuvante: radioterapia pré-operatória + cirurgia radical;

Resgate: radioterapia e/ou quimioterapia após o episódio da recidiva tumoral.

3.9. DEFINIÇÕES

Recidiva

Será considerada como sendo o diagnóstico de células tumorais do colo uterino, por citologia ou histologia, independente do sítio de implantação.

Estado na última visita

A paciente deverá ser considerada em quatro categorias: vivas sem apresentar recidiva da doença; viva, porém tendo apresentado recidiva tumoral; morta sem doença, nos casos em que até a ocasião do óbito da paciente não foi detectada recidiva tumoral; e morta pela doença, quando o óbito da paciente tiver sido em consequência do tumor maligno do colo uterino.

Intervalo livre de doença

Definido como período de tempo do tratamento até a recidiva tumoral, quando houver, ou até a última visita.

Sobrevida global câncer específica

Intervalo de tempo entre a cirurgia e a última visita da paciente ou última informação obtida sobre a mesma.

3.10. DETECÇÃO DO HPV

3.10.1 Extração do DNA

As amostras após o processo de desparafinização foram submetidas à extração do DNA em 1,0 ml de solução monofásica de fenol e isotiocianato de guanidina (TRIZOL[®]) e a qualidade do DNA foi conferida através da β -actina.

Neste novo tubo foi realizada a separação das fases, adicionando 200 μ L de clorofórmio para cada 1,0 ml de TRIZOL[®] coletado na amostra, com posterior agitação em vórtex por 15 segundos, incubação à temperatura ambiente por 3

minutos e centrifugação a 12.000 x g por 15 minutos a 4°C. Após centrifugação, a mistura separou-se numa fase inferior vermelho-fenol-clorofórmio e em outra incolor aquosa na parte superior. A fase aquosa foi então transferida para outro tubo e a fase fenólica foi submetida à extração de DNA. Foram adicionados 300µL de etanol a 100%, com posterior agitação em vórtex por 15 segundos, incubação a temperatura ambiente por cerca de 2 - 3 minutos e centrifugação a 2.000 x g por 5 minutos a 4°C.

Após a centrifugação houve a separação da amostra em duas fases, sendo que o DNA encontra-se na fase sólida do tubo, o sobrenadante foi removido e em seguida foi realizada a lavagem do DNA por suspensão em 1,0ml de Citrato de Sódio 0,1M a 10% de etanol, com posterior homogeneização em vórtex por 15 segundos e incubação à temperatura ambiente por 30 minutos e centrifugação a 2.000g x por 5 minutos a 4°C. Após as duas lavagens, adicionou-se 1 ml de etanol a 75% e incubou-se por 20 minutos à temperatura ambiente; logo em seguida centrifugou-se a 2.000 g x por 5 minutos a 4°C e o sobrenadante foi descartado. Procedimentos de precaução de rotina foram tomados para evitar contaminação.

A seguir, o material foi levado à geladeira, secando por 12 horas, para posterior amplificação da amostra. Esse precipitado foi posto em suspensão outra vez, no momento do uso, em tampão tris-acetato-EDTA (TAC).

3.10.2. Identificação genotípica do HPV

PCR para HPV

Para as reações de PCR foi adicionada a solução tampão 10x a uma solução de amplificação no DNA extraído das amostras coletadas. O protocolo utilizado foi o recomendado pelo fabricante (Invitrogen[®], Carlsbad, Califórnia, USA).

Componentes para amplificação de HPV e β -actina, com volume final de 50,0 μ L (Para a realização do PCR, foi preparada a solução contendo os constituintes abaixo, a qual então foi adicionada a um tubo contendo os primers e o DNA).

- Tampão 10x-----5,0 μ L
- dntp 10mM-----1,0 μ L
- MgCl₂ 50mM-----1,5 μ L
- Taq DNA polimerase-----0,2 μ L
- H₂O DEPC-----para 50,0 μ L
- *primer 1*-----1,0 μ L
- *primer 2*-----1,0 μ L
- DNA -----4,0 μ L

Quadro 1 – Seqüência dos oligonucleotídeos iniciadores sintetizados para a amplificação de fragmentos específicos de DNA.

<i>Primers</i>	Seqüência	Tamanho do Produto Amplificado	Temperatura de Anelamento	Referência
HPV-16	5'=5'...ACC GAA ACC GGT TAG TAT AAA AGC...3'	477 bp	56°C	(Sarkar & Crissman,1990)
	3'=5'...ATA ACT GTG GTA ACT TTC TGG GTC...3'			
	5'=5'...CGG TCG GGA CCG AAA ACG GTG...3'			
	3'=5'...CGT GTT GGA TCC TCA AAG CGC GCC...3'			
β-actina	5'= 5'...GTG GGG CGC CCC AGG CAC CA...3'	295bp	56°C	(Tamim H et al. 2002)
	3'=5'...CTC CTT AAT GTC ACG CAC GAT TTC...3'			

Ciclo de Amplificação de DNA

Para os tipos de HPV 16 e 18 foram usados iniciadores específicos para os mesmos e β-actina. A reação foi iniciada em 94°C por 1 minuto para desnaturação, seguida de 2 minutos de anelamento a 50°C e 3 minutos de polimerização a 72°C, seguidos de 30 ciclos. A reação foi amplificada utilizando um termociclador – Eppendorff® com 64 orifícios.

Detecção dos Produtos Amplificados

Após a reação de PCR, os produtos da amplificação foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida a 14% e corados com nitrato de prata. Foi utilizado um padrão como controle positivo (padrão de pares de base), o Trackit™ 1kb DNA ladder da Invitrogen®.

A amostra a ser aplicada no gel foi homogeneizada, sendo 10,0µL de amostra de DNA amplificado e 3,0µL de tampão da amostra. Esta mistura foi adicionada em cada orifício do gel de poliacrilamida a 14%. O gel foi submetido a uma corrente de 90 volts por 1 hora.

Posteriormente à corrida eletroforética, o gel foi colocado em solução fixadora por 15 minutos. Esta solução foi desprezada e em seguida foi adicionada ao gel uma solução de Nitrato de Prata por 15 minutos sob agitação mecânica, seguido de uma lavagem em água MILLI-Q e incubação em solução reveladora por aproximadamente 15 minutos, retornando o gel para a solução fixadora por 15 minutos. Após a revelação do gel (Figura 6) foi realizada a análise da presença das bandas do tamanho esperado.

Foi realizada através de material obtido de bloco de parafina do tumor maligno do colo uterino das pacientes. Tal análise foi executada no IPON/Universidade do Triângulo Mineiro.

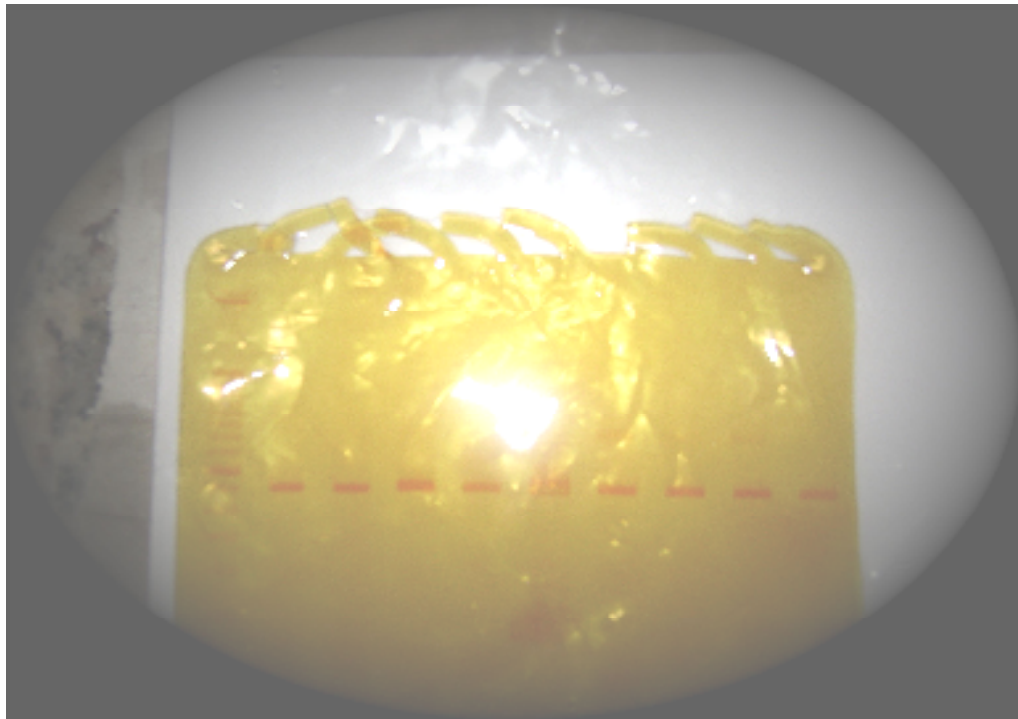


Figura 6. Foto de gel após revelação, apresentando a formação das bandas para detecção e genotipagem do HPV, em material obtido de caso do presente estudo.

3.11. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A associação dos parâmetros entre os grupos foi feita usando o Teste do χ^2 (qui-quadrado) e exato de Fisher, quando necessário. Para o cálculo de sobrevida utilizou-se o método de Kaplan-Meier e o teste de log-rank para comparação das médias de sobrevida entre os fatores prognósticos para câncer de colo uterino. Para sobrevida global foi considerado como morte no estudo o óbito da paciente, independente de sua causa. Para sobrevida associada ao câncer o critério aplicado foi o evento (recidiva da doença local/regional ou metastática). Pacientes que, por ocasião da última visita médica, estavam vivas e/ou foram a óbito após 60 (sessenta) meses de seguimento foram consideradas censuradas.

Considerou-se o $p < 0,05$ como significativo para todos os testes. Foi utilizado para a análise estatística o software *Windows Statistical Package for Social Sciences* versão 15.0 (SPSS[®], Chicago, III).

3.12 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O Projeto de pesquisa intitulado *Tipos de HPV e câncer do colo uterino: Impacto no prognóstico das pacientes com tumores nos estádios iniciais* foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Associação de Combate ao Câncer em Goiás (CEP/ACCG), protocolo 027/07 (Anexo 3).

4. Resultados

A idade das pacientes do estudo variou de 26 a 64 anos, sendo a média observada de 40,00, com desvio padrão de 8,95 anos. O seguimento médio foi de 67 meses, variando de 04 a 134 meses, a mediana de 73 meses e o desvio padrão de 44,14.

Das 86 (oitenta e seis) pacientes estudadas, oito apresentaram recidiva da doença e dessas, quatro pacientes faleceram no período estudado. Apenas uma paciente teve diagnóstico de neoplasia intra-epitelial III de vagina durante o seguimento clínico, o qual teve remissão espontânea. O diagnóstico de NIVA III ocorreu dois anos após tratamento de recidiva tumoral pélvica. Tal recidiva foi tratada com radioterapia. Atualmente encontra-se sem evidência de doença.

As características clinicopatológicas e demográficas das 86 pacientes selecionadas para o estudo são apresentadas na Tabela 01.

Tabela 1 - Características demográficas e clínico-patológicas das pacientes com câncer de colo uterino Ecl submetidas a histerectomia radical.

Características	Pacientes (n. 86)	
	Nº	%
Idade (anos)		
Mediana	40	
Varição	26 a 64	
≤ 30-	05	
30 –50	67	
> 50	18	
Estadiamento Clínico (FIGO): IB. ₁	77	89,5
IB. ₂	09	10,4
Tipo Histológico		
Carcinoma Espinocelular	75	87,2
Adenocarcinoma	07	8,13
Adenoescamoso	03	3,48
Outros	01	1,16
Grau de Diferenciação: Grau I	00	00
Grau II	61	70,9
Grau III	19	22,0
Metástases Linfáticas: Sim	05	5,81
Não	80	93,0
Invasão Angiolinfática: Sim	18	20,9
Não	51	59,3
Tratamento Inicial:		
Cirurgia Exclusiva	64	74,4
Cirurgia + Radioterapia	16	18,60
RT + Cirurgia	06	6,97
Recidiva da Doença: Sim	08	9,30
Não	76	88,37
Tratamento na Recidiva:		
Radioterapia	02	2,32
Quimioterapia	02	2,32
Radioterapia + quimioterapia	00	00

Em relação à genotipagem, foi detectado isoladamente o HPV 16 em trinta amostras e o HPV 18 em apenas cinco amostras. Ambos os tipos de HPV foram detectados em vinte e uma amostras. Em vinte e duas amostras não foram detectados nenhum dos tipos virais tipados.

O HPV 18 foi detectado em 84,6% dos tumores do tipo histológico carcinoma espino-celular (vinte e dois casos), em 7,7% dos tumores do tipo adenocarcinoma (dois casos) e em 7,7% do tipo histológico adenoescamoso (dois casos). No tipo indiferenciado não foi detectado em nenhum caso. Já em relação ao HPV 16, o mesmo foi detectado em 85,2% dos tumores do tipo carcinoma espinocelular (quarenta e seis casos), em 9,3% dos tumores do tipo adenocarcinoma (cinco casos) e em 5,6% nos tumores do tipo adenoescamoso (três casos).

Em relação ao grau de anaplasia, nos tumores positivos para o HPV 18, a prevalência do grau II (moderadamente diferenciado) foi de 70,8% (dezessete casos) e para o grau III (acentuadamente diferenciado) foi de 25% (seis casos).

Para os tumores positivos para o HPV 16, a prevalência do grau de anaplasia II foi de 66% (33 casos), no grau III foi de 32% (dezesseis casos) e no grau I foi de 2% (um caso).

No grupo estudado foram encontrados apenas cinco casos com comprometimento dos linfonodos pélvicos pela neoplasia. O HPV 18 foi detectado em dois casos, num total de 7,7%. Já o HPV 16 foi detectado nos outros dois casos (5,6%).

A invasão linfovascular associada ao HPV 18 foi observada em 29,4% dos sessenta e tres casos em que esse dado esteve presente para análise. Em

relação ao HPV, 16 a invasão linfovascular esteve presente em 66,7% dos sessenta e seis casos em que esse dado esteve presente para análise.

A maioria das recidivas ocorreu até 30 meses após o término do tratamento inicial, sendo que a sobrevida livre de doença em 60 meses foi de 91% (Figura 7). A oitava recidiva não está representada na curva de sobrevida devido ao fato de ter ocorrido após os sessenta meses.

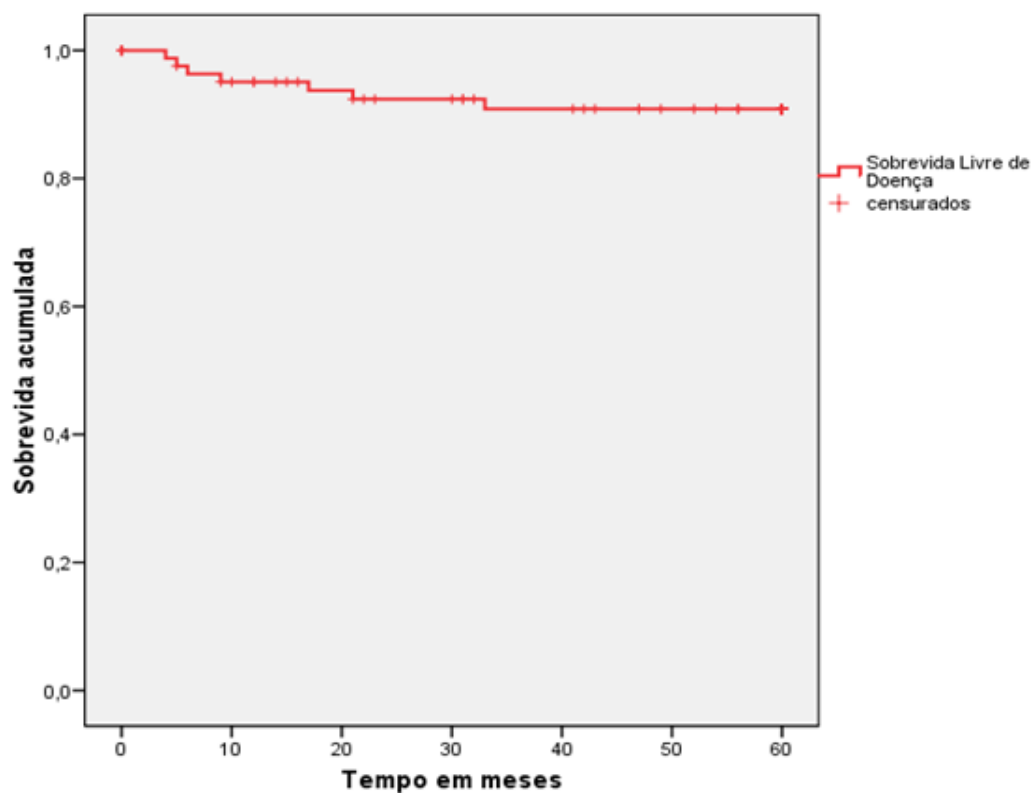


Figura 7. Sobrevida livre de doença das pacientes portadoras de câncer de colo uterino, Ec I, submetidas à histerectomia radical.

A sobrevida global em 60 meses no grupo estudado foi de 95% (Figura 8).

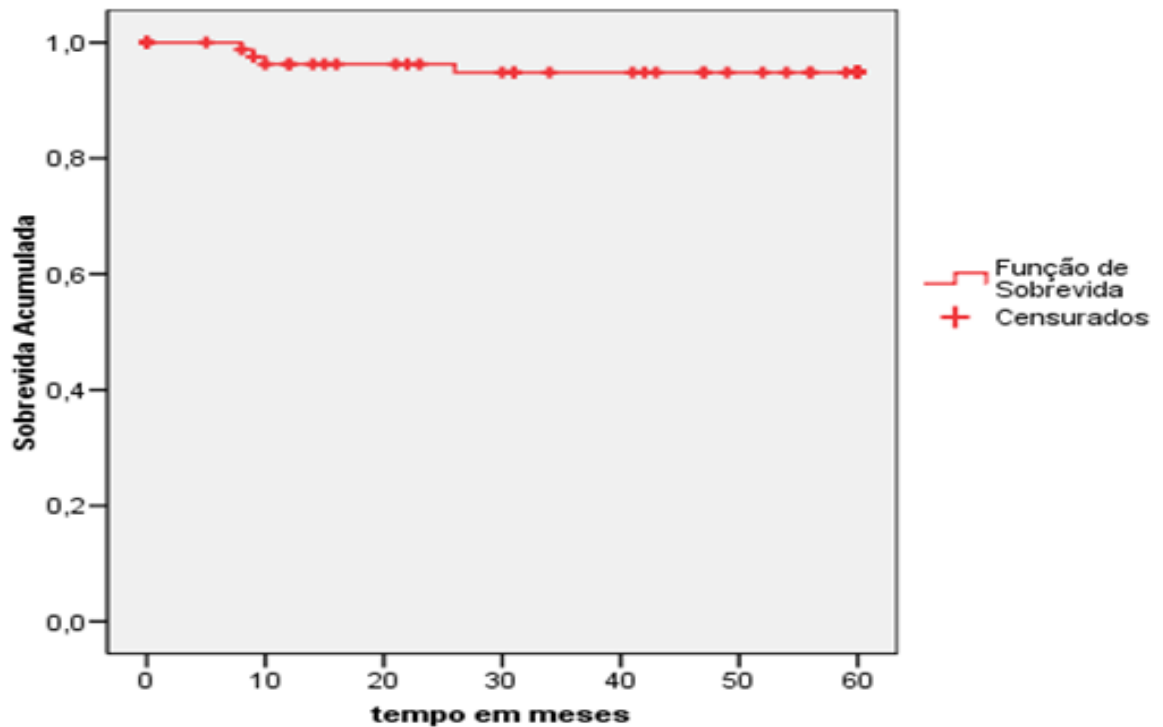


Figura 8. Análise de sobrevida global das pacientes portadoras de câncer de colo uterino, Ec I, submetidas à histerectomia radical.

A sobrevida livre de doença aos 60 meses para as pacientes que apresentaram e não apresentaram positividade para o HPV 16 foi de 92% e as que não apresentaram positividade para HPV foi de 88% (não significativo), conforme mostrado na figura 9.

Em relação à positividade ou negatividade do HPV 18, a sobrevida livre de doença aos 60 meses foi de 83% e 93% respectivamente, não havendo diferença significativa entre os grupos (Figura 10).

A sobrevida global para as mulheres que apresentaram positividade para o HPV 16 foi de 94%, e para as não apresentaram positividade para o HPV 16 essa taxa foi de 96% (NS).

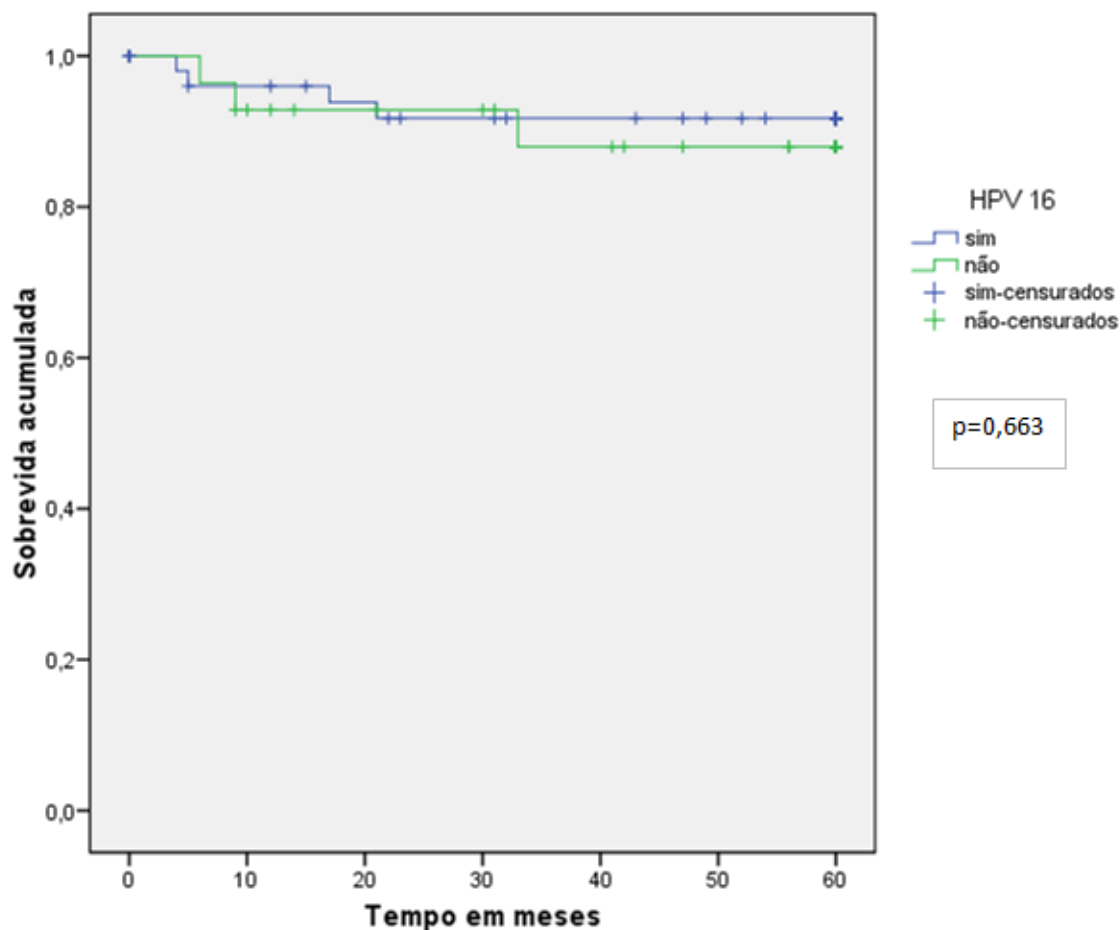


Figura 9. Sobrevida livre de doença de acordo com a presença ou não de HPV 16.

As mulheres que apresentaram positividade para o HPV 18 tiveram sobrevida global aos 60 meses de 91% e as que não apresentaram positividade tiveram sobrevida global de 96% (NS).

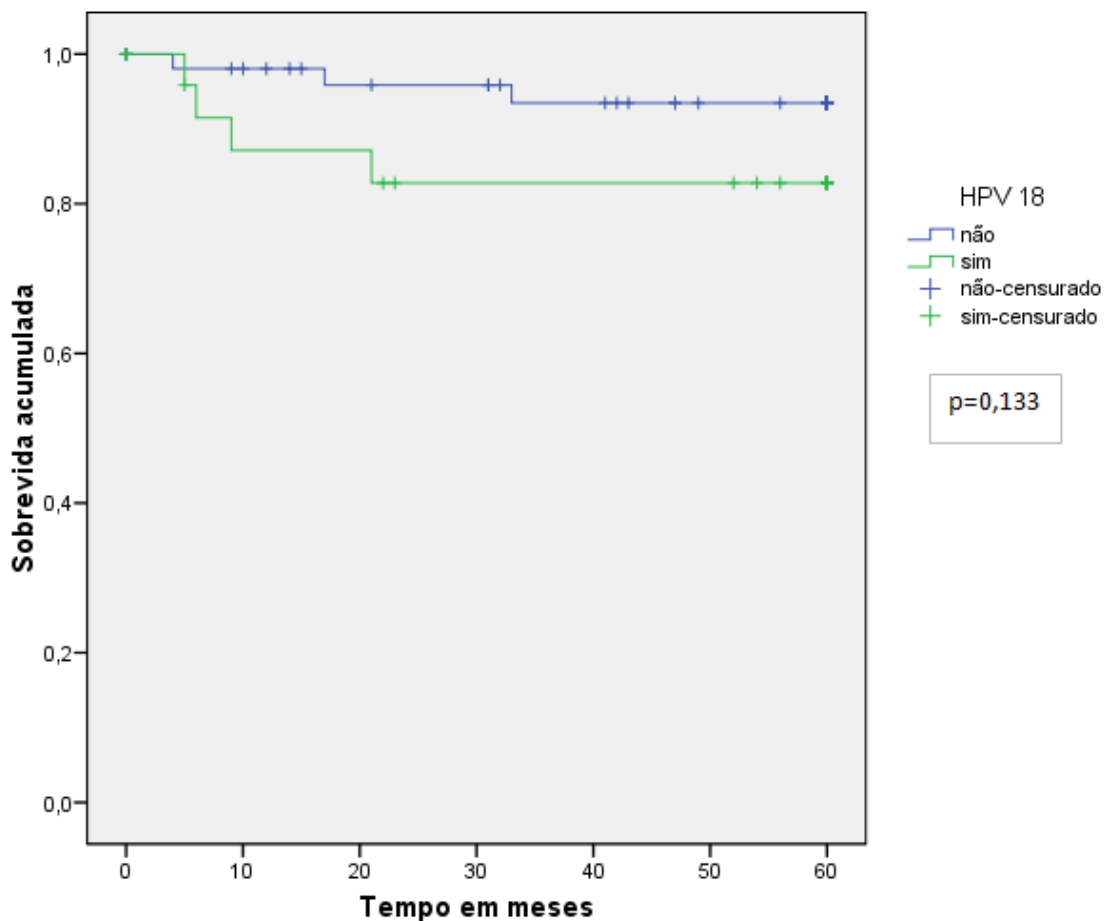


Figura 10 - Sobrevida livre de doença de acordo com a presença ou não de HPV18.

Ao ser analisada a sobrevida livre de doença, de acordo com as demais variáveis independentes, observou-se que nenhum dos fatores estudados esteve associado à recidiva do câncer de colo uterino.

Em relação à sobrevida global pôde ser observado que nenhum dos fatores estudados influenciou essa variável, conforme mostrado na tabela 2.

Tabela 2 – Análise univariada segundo presença ou ausência de recidiva, de acordo com características clínico-patológicas e tipo de HPV em mulheres com câncer de colo uterino EC IB.

Tabela de análise univariada.

Variável	Recidiva				p**	RR (IC 95%)
	Sim		Não			
	N	%	N	%		
Idade Grupo						
Até 39 anos	5	13,5	32	86,5		1
40 a 59 anos	3	6,5	41	93,5	0,283	2,240 (0,498 - 10,064)
Estadiamento Clínico						
IB ₁	7	9,3	68	90,7		1
IB ₂	1	12,5	7	87,5	0,572	0,721 (0,077 - 6,735)
Gestações						
1 a 3 gestações	2	9,1	20	90,9		
mais de 4 gestações	6	10	55	90	0,635	0,900 (0,168 - 4,832)
Paridade						
1 a 3 partos	1	3,1	31	96,9		1
mais de 4 partos	7	14	43	86	0,141	0,198 (0,023 - 1,694)
Tipo Histológico						
CEC	7	9,7	65	90,3		1
Não CEC	1	9,1	10	90,9	0,947	1,077 (0,120 - 9,705)
Linfonodos						
Nenhum	7	9	71	91		
mais de 1	1	25	3	75	0,342	3,381 (0,309 - 36,996)
Tratamento						
Histerectomia	5	8,1	57	91,9		1
outros tratamentos	3	14,3	18	85,7	0,604	0,526 (0,114 - 2,422)
HPV 16						
negativa	3	10,7	25	89,3		1
positiva	5	9,8	46	90,2	0,898	1,104 (0,243 - 5,007)
HPV 18						
negativa	5	9,8	46	90,2		1
positiva	3	12	22	88	0,769	0,797 (0,175 - 3,640)

*celula com valor zero não tem como testar.

** teste exato de fischer

5. Discussão

O presente estudo trata-se de uma coorte retrospectiva para avaliar a influência dos tipos de HPV 16 e 18 sobre o prognóstico das mulheres portadoras de câncer invasor do colo uterino, em estágio clínico inicial. Neste estudo foram incluídas exclusivamente as pacientes em EC IB, que foram submetidas a histerectomia radical com linfadenectomia pélvica em uma única instituição na cidade de Goiânia, no período de 1992 a 2003. Foram também analisadas as características clínico-patológicas das mulheres estudadas. O método laboratorial utilizado para a detecção do HPV foi o PCR. O material pesquisado foi obtido de blocos de parafina que continham fragmentos tumorais dos casos selecionados para a pesquisa.

A taxa de sobrevida global em 60 meses foi alta, como é esperado para os tumores em estágio inicial (Chi *et al.* 2003). Aos 60 meses observou-se 95% de sobrevida global, o que pode estar relacionado ao fato de que na amostra estudada apenas 10.4% foram estadiados como IB₂, tumores com tamanho superior a 4 cm, de acordo com o estadiamento da FIGO. Os tumores com menor volume de doença apresentam altas taxas de sobrevida aos cinco anos, em torno de 90%, enquanto que naqueles tumores com maior volume tumoral a sobrevida pode cair para 70% em cinco anos (Delgado *et al.* 1990; Burghardt *et al.* 1992) Dessa forma, considerando os aspectos acima abordados, espera-se cerca de 20% de recidiva da doença para os tumores em estágios iniciais,

incluindo o EC IIa, mesmo quando adequadamente tratados (Delgado *et al.* 1990; Wang *et al.*, 1999).

No estudo ora apresentado houve apenas oito casos de recidiva tumoral, perfazendo um total de 9,3%, o que pode ser explicado por esta amostra conter em sua maioria (89,5%) tumores no EC IB, ou seja, lesões clinicamente menores que quatro centímetros, restritas ao colo uterino. Tais recidivas ocorreram principalmente até 30 meses após o término do tratamento, o que está de acordo com os dados da literatura, que apontam que em 90% dos casos as recidivas ocorrem nos dois primeiros anos após o término do tratamento (Hart *et al.* 1997).

Não foi encontrado também número significativo de casos com envolvimento de linfonodos pélvicos pela neoplasia; apenas cinco casos, perfazendo um total de 5,5% e dos oito casos recidivados, a metástase linfática pélvica estava presente em apenas uma paciente. A metástase linfática é considerada um dos fatores prognósticos mais importantes, podendo influenciar no tempo de sobrevida, a qual por sua vez é influenciada pela invasão angiolinfática, pelo aumento do tamanho do tumor e pela profundidade da invasão estromal, de acordo com estudo realizado pelo GOG (Delgado *et al.* 1990, Fregnani *et al.*, 2006). Possivelmente o número reduzido de recidivas, no estudo em questão, tenha sido também em decorrência do baixo número de linfonodos comprometidos.

O tipo histológico mais prevalente foi o carcinoma espinocelular, com 84,4% dos casos estudados, seguido pelo adenocarcinoma e adenoescamoso encontrados em 12,4% dos casos estudados, dado consistente com os da

literatura (Burger *et al.* 1995; Bosch *et al.* 1996; Lai *et al.*, 2007). Ainda persistem controvérsias se o tipo histológico adenoescamoso influenciaria negativamente no prognóstico das mulheres portadoras desse tumor. Enquanto há autores que acreditam nessa hipótese (Gallup *et al.* 1985), outros advogam não haver evidências de que o carcinoma adenoescamoso pioraria o prognóstico das mulheres portadoras de tumores com esse tipo histológico (Yazigi *et al.* 1990). O tipo histológico adenocarcinoma não esteve associado a uma maior possibilidade de recidiva tumoral e a um pior prognóstico no grupo estudado, tendo havido apenas um caso em que houve recidiva tumoral.

O HPV tipo 18 só esteve associado ao adenocarcinoma em um caso e em dois casos ao adenoescamoso. É possível que a não inclusão de 20 casos de adenocarcinoma, em decorrência de não ter sido possível recuperar os respectivos blocos de parafina no setor de anatomia patológica, possa ter interferido nos resultados finais.

Portanto, no presente estudo, o tipo de HPV não mostrou interferência em relação à sobrevida livre de doença e global, nem pareceu influenciar em relação à possibilidade de maior chance de recidiva.

Em apenas uma paciente do presente estudo foi diagnosticada NIVA III durante o seguimento, e o aparecimento da NIVA III ocorreu três anos após a recidiva pélvica da doença tratada com radioterapia de resgate e apresentou remissão espontânea. Neste caso não houve positividade para nenhum dos tipos virais estudados. Mulheres que foram tratadas por lesões de alto grau, e que foram consideradas livres do HPV, ainda estão em risco de desenvolverem novas lesões de alto-grau em período superior a dois anos após o tratamento

inicial e 76% das mulheres que desenvolvem lesões de alto-grau ou câncer apresentavam status negativo para HPV no seguimento clínico (Strander *et al*, 2007).

Alguns fatores prognósticos para o câncer do colo uterino já estão bem definidos. Entre eles estão o estadiamento clínico, comprometimento dos linfonodos por células tumorais, envolvimento parametrial e invasão do espaço linfovascular (Fuller *et al*.1989; Benedet *et al*. 2000; Fregnani *et al*. 2006; Lai *et al*. 2007). No entanto, vários pesquisadores têm procurado esclarecer o verdadeiro papel que o tipo de HPV pode exercer sobre a evolução tumoral (Bosch *et al*. 1995; Nakagawa *et al*. 1996; Schwartz *et al*. 2001; Graflund *et al*. 2004; Wright *et al*. 2005; Lai *et al*, 2007).

Os resultados obtidos são conflitantes. Em estudo epidemiológico multicêntrico não foi encontrada nenhuma relação entre o tipo de HPV e o prognóstico quando se analisaram globalmente todos os casos de câncer do colo uterino, incluindo todos os estádios clínicos. Porém quando foram analisados especificamente os tumores em estágio inicial (EC IB e IIA), cujas portadoras foram tratadas com histerectomia radical e linfadenectomia pélvica, observou-se que as portadoras do vírus HPV18 tendiam a ter pior evolução clínica (Bosch *et al*. 1995). Em outro estudo, a presença do HPV 18 nos casos de carcinoma inicial do colo do útero esteve associada a um prognóstico significativamente mais pobre, quando comparado àquelas mulheres portadoras do vírus tipo 16, após o pareamento com outros fatores de relevância como o estadio clínico, status linfonodal e tipo histológico (Nagakawa *et al*. 1996). No entanto, em estudo conduzido em mulheres russas não se observou influência

no tipo de HPV no prognóstico das mulheres estudadas, as quais apresentavam tumores estadiados nos EC I e II, embora nesse caso não tenha sido feita uma análise específica quanto ao tipo de tratamento empregado, como no estudo citado anteriormente. Nesse estudo foi detectado HPV em todos os casos estudados (van Muyden *et al.* 1999), corroborando a hipótese de que não haja câncer do colo uterino HPV negativo (Walboomers *et al.* 1996; van Muyden *et al.* 1999).

Tem sido observado que os tumores positivos para HPV 16 disseminavam-se mais freqüentemente para os linfonodos pélvicos e paramétrios, do que os tumores HPV 16 negativos (Girardi *et al.* 1992) e que o HPV 16, e não o 18, influenciou negativamente no prognóstico das pacientes submetidas a histerectomia radical com linfadenectomia pélvica (Pilch *et al.* 2001). No entanto, no presente estudo a presença do HPV 16, embora mais prevalente, não teve influência quanto às características acima relacionadas. Em outro estudo foi observado que as pacientes portadoras de câncer do colo uterino, positivos para HPV, apresentaram um taxa significativamente maior de metástases linfáticas, do que aquelas em cujos tumores não foi detectada a presença do HPV (Garzetti *et al.* 1998), fato que também foi observado em outro estudo que também constatou uma associação significativa do comprometimento linfonodal e do espaço linfovascular à presença especificamente dos tipos de HPV 16 e 18 (Pilch *et al.* 2001) A presença do HPV 16 e 18 não pareceu ter influenciado a sobrevida global e livre de doença no estudo ora apresentado. Em seis casos os HPV 16 e 18 não foram encontrados, o que implica na possibilidade de infecção por outros tipos virais

menos freqüentes ou em virtude de integração do genoma viral (Walboomers *et al.* 1999).

A infecção múltipla por HPV esteve associada a uma resposta pior à radioterapia e com um pior prognóstico em pacientes com câncer localmente avançado do colo uterino (Bachtiary *et al.* 2002). No entanto, no grupo analisado no estudo ora apresentado, a infecção concomitante pelo HPV 16 e 18 não teve influência desfavorável em relação ao prognóstico das pacientes.

Noutro estudo, quando foram correlacionados os casos de câncer inicial do colo uterino com o hábito do tabagismo evidenciou-se que as mulheres portadoras de câncer do colo uterino que eram portadoras do HPV 18 ou 45, os quais são genotipicamente semelhantes, apresentaram duas vezes mais possibilidades de morrerem em consequência de sua doença (Wright *et al.* 2005).

Foi publicado estudo retrospectivo para avaliação do papel do HPV 18 na evolução clínica nos estádios clínicos I e IIA, com expressiva casuística em uma única instituição, em Taiwan, que foram submetidas a histerectomia radical com linfadenectomia pélvica. Detectou-se a presença do HPV em 95.1% dos casos, sendo encontrado o HPV 16 em 63.8% e o HPV 18 em 16.5% das amostras avaliadas, com um seguimento médio de 77 meses. Na análise multivariada dos fatores prognósticos já estabelecidos e a positividade para o HPV 18, observou-se uma relação significativa com a recidiva tumoral (Lai *et al.* 2007).

Nos últimos anos vários estudos tentaram estabelecer o tipo viral 18 como um fator prognóstico para uma evolução clínica desfavorável. Neste

sentido o presente estudo procurou selecionar um grupo mais homogêneo de pacientes portadoras de câncer do colo uterino inicial, restrito ao estágio clínico Ib, para avaliar se o tipo viral 18 poderia influenciar negativamente no prognóstico de suas portadoras. Todavia houve uma dificuldade na obtenção de um número adequado de casos devido a um inesperado número de prontuários (230) que não puderam ser localizados pelo SAME do HAJ e também por fato semelhante ocorrido no Setor de Anatomia Patológica, no qual não foi possível recuperar os blocos de parafina dos respectivos tumores em 68 casos elegíveis para o estudo, fato que certamente contribuiu para obtenção insatisfatória de casos para a análise pretendida.

Não foi possível identificar em nenhum dos fatores analisados significância estatística relacionada à recidiva da doença, possivelmente em decorrência do número exíguo da amostra e de sua homogeneidade.

Apesar dos métodos terapêuticos disponíveis como a cirurgia radical, a quimioterapia e a radioterapia, algumas pacientes mesmo em estágio inicial apresentarão recidiva tumoral tanto local como à distância e poderão vir a falecer em consequência da mesma, visto que os resultados terapêuticos são pobres nessas circunstâncias (Bellone *et al.* 2007). Novas linhas terapêuticas que possam ser utilizadas para reduzir o risco de recidiva ou metástase são aguardadas com esperança. Uma delas é a terapêutica câncer-específica, conhecida como CRADs, adenovirus replicativos condicionais, cujo efeito é altamente seletivo sobre as linhagens celulares positivas para HPV (Delgado-Enciso 2007). Atualmente outra linha em desenvolvimento está relacionada ao uso de células dendríticas, as quais são potentes células apresentadoras de

antígeno, capazes de induzir resposta primária de células T e que geram expectativas em todo o mundo, para o tratamento imunoterápico de vários tumores malignos, com especial ênfase na oncoproteína E7 dos HPV 16 e 18(Bellone *et al.* 2007).

6. Conclusão

1. A prevalência do HPV 16 no grupo estudado foi de 65,3% e a prevalência do HPV 18 foi de 33,3%. A prevalência dos casos em que houve infecção por ambos os vírus, HPV 16 e 18, foi de 26,9%.

2. A presença do HPV 16 e 18 não esteve relacionada com o tipo histológico, com o grau de anaplasia, com a invasão vascular e com o comprometimento linfonodal.

3. A sobrevida livre de doença, aos sessenta meses, não foi influenciada pela presença do HPV 18 e do HPV 16.

4. A sobrevida global, aos sessenta meses, não foi influenciada pela presença do HPV 18 e do HPV 16.

7.Referências Bibliográficas

Bachtiary B, Obermair A, Dreier B, Birner P, Breitenecker G, Knocke T-H, Selzer E, Potter R 2002. Impact of multiple HPV infection on response to treatment and survival in patients receiving radical radiotherapy for cervical cancer. *Int J Cancer*. 102:237-243.

Bellone S, Percorelli S, Cannom MJ, Santin AD 2007. Advances in dendritic-cell-based therapeutic vaccines for cervical cancer. *Expert Rev Anticancer Ther*. 7: 1473-86.

Beral V, Hannaford P, Kay C. 1988. Oral contraceptive use and malignancies of the genital tract. *Lancet*. 1331.

Bosch FX, Maños MM, Muñoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, Schiffman MH, Moreno V, Kurman R, Shah K V. 1995. Prevalence of Human Papillomavirus in Cervical Cancer: a Worldwide Perspective. *J Natl Cancer Inst*. 87: 796-802.

Buckley JD, Harris RW, Doll R, Vessey MP, Williams PT 1981. Case-control study of the husbands of women with dysplasia or carcinoma of cervix uteri. *Lancet*. 2:1010.

Burger RA, Monk B J, Kurosaki T, Anton-Culver H ,Vasilev SA, Berman ML, Wilczinski SP 1996. Human papillomavirus type 18: Association with poor prognostic in early stage cervical cancer. *Natl Cancer inst.* 88: 1361-8.

Cameron JE, Hagensee ME 2007. Human papillomavirus infection and disease in HIV+ individual. *Cancer Treat Res.* 133: 185-213.

Carvalho CRN, Ribalta LCL. Papilomavírus Humano: Considerações Gerais, Epidemiologia e Importância dos Co-fatores na Carcinogênese. *In: Martins NV, Ribalta JCL, Editores. Patologia do Trato Genital Inferior. São Paulo: Roca, 2005, 216 a 226.*

Carr J, Gyorfi T 2000. Human papillomavirus epidemiology, transmission and pathogenesis *Clin.Lab Me.* 20: 235-255.

Castellsagué X, Bosch FX, Muñoz N, Meijer CJLM, Shah HV, Sanjosé S, Eluf-Neto J, Ngelangel AC, Chichareon S, Smirh FS, Herrero R, Francheschi S 2002. Male circumcision, penile human papillomavirus infection and cervical cancer in female partners. *N Eng J Med* April 11: 346 (15): 1105-1112.

Castellsagué X, Bosch FX, Munhoz N 2002. Enviromental co-factors in HPV carcinogenesis. *Virus Research.*89: 191-199.

Castro FA, Haimila K, Pasanen K, Kaasila M, Patama T, Partanen J, Surcel HM, Pukkala E, Lehtinem M 2007. Geographic distribution of cervical cancer-associated human leucocyte antigens and cervical cancer incidence in Finland. *Int J STD AIDS*. 18:672-9.

Cavalcante SMB, Zardo LG, Passos MRL, Oliveira LHS 2000. Epidemiological aspects of human papillomavirus infection and cervical cancer in Brazil. *J Infect*. 40: 80-87

Chi DS, Abu-Rustum NR, Hoskins WJ. Cancer of the cervix. *In*: Rock JA, Jones HW, Editors. *TE LINDE'S OPERATIVE GYNECOLOGY*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2003, 1373 a 1444.

Cincestav. [HTTP://:www.cinvestav.mx](http://www.cinvestav.mx) ; Acessado em 27/08/2008.

Corrêa C M 2007. Prevalência e multiplicidade do Papilomavirus Humano (HPV) na cérvix uterina de mulheres infectadas pelo vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), em estudo multicêntrico. Dissertação de mestrado. Ciências da Reprodução, Patologia mamária e Ginecológica e Perinatologia. Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas.

Curado MP, Martins E, Freitas-Junior R, Silva EMB: Incidence of cervix cancer in Goiânia. A descriptive analyse 1988 – 2002. Final Program and Abstracts. 27^a

Annual Meeting of the International Association of Cancer Registries. IACR 2005
Theme: Cancer in low-resource populations. Entebbe, Uganda. 13-15.

Datta NR, Kumar P, Singh S, Gupta D, Srivastava A, Dhole TN 2006. Does retreatment Human Papillomavirus (HPV) titer predict radiation response and survival outcomes in cancer cervix? A pilot study. *Gynecol Oncol.* 103:100-5.

Delgado G, Bundy B, Zaino R, Sevin BU, Creasman WT, Major F 1990. Prospective surgical-pathological study of disease-free interval on patients with stage IB Squamous cell carcinoma of the cervix: a Gynecology Oncology Group study. *Gynecol Oncol.* 38: 352-7.

De Villiers EM, Fauquet C, Braker TR, Bernard H-U, zur Hausen H 2004. Classification of papillomaviruses. *Virology.* 324: 17-27.

Delgado-Enciso I, Cervantes-Garcia D, Martinez-Dávila IA, Ortiz-López R, Alemany-Bonastre R, Silva-Platas CI, Lugo-Trampe A, Barrera-Saldaña HA, Galván-Salazar HR, Coronel-Tene CG, Sánchez-Santillán CF, Rojas-Martinez A 2007. A potent replicative delta-24 adenoviral vector driven by the promoter of human papillomavirus 16 that is highly selective for associated neoplasms. *J Gene Med* 9: 852-61.

D'Souza Gypsyamber, Kreimer AR, Viscidi R, Pawlita M, Fakhry C, Koch WM, Westra WH, Gillison ML, 2007. Case-control Study of Human Papillomavirus and Oropharyngeal Cancer. *N Engl J Med*; 356: 1944-56.

Frazer I F, Cox JT, Mayeaux Jr EJ, Franco LE, Moscicki A-B, Palefsky JM, Ferris DG, Ferenczy AS, Villa LL 2006. Advances in prevention of cervical cancer and other human papilloma virus-related diseases. *Pediatr Infect Dis J*. 25: 565-581.

Fregnani JH, Latorre MR, Novik PR, Lopes A, Soares FA 2006. Assessment of pelvic lymph node micrometastatic disease in stages Ib and IIa of carcinoma of the uterine cervix. *Int J Gynecol Cancer*. 16: 1188-94.

Frisch M, Biggar RJ, Goedert JJ 2000. Human papillomavirus-associated cancers in patients with human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome. *J Nat Cancer Inst*. 92: 1500-2000.

Fuller AF, Elliott N, Kosloff C, Hoskins WJ, Lewis JL 1989. Determinants of increased risk for recurrence in patients undergoing radical hysterectomy for stage IB and II A carcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol*. 33: 34 -9.

Gallup DG, Harper RH, Stock RJ 1985. Poor prognosis in patients with adenosquamous cell carcinoma of the cervix. *Obst Gynecol*. 65:416-22.

Garzetti GG, Ciavattini A, Lucarini G, Goteri G, Menso S, De Nictolis M 1998. The role of human papillomavirus DNAs in cervical carcinoma with 72 Kilodalton metalloproteinase immunostaining. *Cancer*. 82: 886-91.

Girardi F, Fuchs P, Haas J 1992. Prognostic importance of human papillomavirus type 16 DNA in cervical cancer. *Cancer*. 69: 2502-4.

Gonçalves MA, Donadi EA 2004. Immune cellular response to HPV: current concepts. *Braz J Infect Dis*. 8:1-9.

Gram IT, Macaluso M, Stalsberg H 1992. Oral contraceptive and the incidence of cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Obstet Gynecol*. 167:40.

Graflund M, Sorbe B, Sigurdardóttir S, Karlsson M 2004. HPV-DNA, vascular space invasion, and their impact on the clinical outcome in early-stage cervical carcinomas. *Int J Gynecol Cancer*. 14: 896-902.

Gregoire L, Cubilla AL, Reuter VE, Haas GP, Lancaster WD 1997. Preferential association of human papillomavirus with high-grade histologic variants of penile-invasive squamous cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst*. 87:1705-1709.

Hart K, Han I, Deppe G, Malviya V, Malone JJr, Christensen C 1997. Postoperative radiation for cervical cancer with pathologic risk factors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 37:833-8.

Ho GYF, Biernan R, Beardley L, Chang CJ, Burk RD, Klein S, Kadish AS, Chang CJ, Palan P, Basu J, Tachesy R, Lewis R, Romney S 1998. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med.* 338: 423-428.

Huang HJ, Huang SL, Lin CY, Lin RW, Chao FY, Chen MY, Chang TC, Hsueh S, Hsu KH, Lai CH 2004. Human papillomavirus genotyping by a polymerase chain reaction-based method in cervical carcinoma treated with neoadjuvant chemotherapy plus radical surgery. *Int Gynecol Cancer.* 14: 639-49.

Yazigi R, Saldstad J, Munhoz AK, Choi DJ, Nguyen PD, Risser R 1990. Adenosquamous carcinoma of the cervix: prognosis in stage Ib. *Obstetric Gynecol.* 75 :1012-5.

Jansen K, Shaw AR 2004. Human papillomavirus vaccines and prevention of cervical cancer. *Ann Rev Med.* 55: 319-331.

Jones MW, Kounelis S, Papadaki H, Bakker A, Swalsky PA, Woods J, Finkelstein SD 2000. Well-differentiated villoglandular adenocarcinoma of the uterine cervix: oncogene/tumor suppressor gene alterations and papillomavirus genotyping. *Int J Gynecol Pathol.* 19: 110-117.

Kaplan, ELMP 1958. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc.* 53: 457.

Kjaer SK, van den Brule, Paull G, Svare E I, Sherman ME, Thonsem B L, Suntum M, Bock JE, Poll P A, Meijer CJLM 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow-up study. *BMJ* 325.

Kuper H, Boffetta P, Adami H O 2002. Tobacco use and cancer causation: association by tumor type. *J Int Med.* 252: 206-224.

Lai CH, Chang CJ, Huang HJ, Hsueh S, Chao A, Yang J-E, Lin G-T, Huang S-L, Hong J-H, Chou H-H, Wu T-I, Huang K-G, Wang C-C, Chang T-C 2007. Role of human papillomavirus genotype in prognosis of early stage cervical cancer undergoing primary surgery. *J Clin Oncol.* 25: 3628-34.

Logan WPS 1953. Marriage and childbearing in relation to cancer of the breast and uterus. *Lancet* II: 1199.

Maciag PC, Schletcht NF, Souza PSA, Franco EL, Villa^{2a} LL, Petzel-Erler ML 2000. Major histocompatibility complex class II polymorphisms and risk of cervical cancer and human papillomavirus infection in Brazilian women. *Cancer epidemiol Bio Prev.* 9: 1183-1191.

Madeleine MM, Daling JR, Schwartz SM, Shera K, McKnight, Carter JJ, Wipf GC, Critchlow CW, McDougall JK, Porter P, Galloway DA 2001. Human papillomavirus and long-term oral contraceptive use increase the risk of adenocarcinoma in situ of the cervix. *Cancer Epidemiol Biomarker Prev.* 10: 171-177.

Meisels A & Fortin R 1976. Condylomatous Lesions of Cervix and Vagina Cytologic Patterns. *Acta Cytol.* 20: 505-509.

Meigs JV 1945. The Wertheim operation for carcinoma of the cervix. *Am J Obstet Gynecol* 49: 542.

Ministério da saúde do Brasil. Instituto Nacional do Câncer. Câncer do colo do útero. Disponível em http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?ID=326.

Monsonogo J 2007. Prevention of cervical cancer (II): prophylactic HPV vaccination, current knowledge, practical procedures and new issues. *Presse Med* 36: 640-66.

Montesano R, Hall J 2001. Environmental causes of human cancers. *Eur J Cancer.* 37: S67-S82.

Moreira MAR, Longato-Filho A, Toromarus E, Queiroz G, Jubé LF, Pinto SA, Schimitt FC 2006. Investigation of human papillomavirus by hybrid capture II in

cervical carcinomas including 113 adenocarcinomas and related lesions. *Int J Gynecol Cancer*. 16: 586-590.

Moreno V, Bosch FX, Munoz N, Meijer CJLM, Shah HV, Waalboomers JAMM, Herrero R, Francheschi S 2002. Effect of oral contraceptives on risk of cervical cancer in women with human papillomavirus infection: the IARC multicentric case-control study. *The Lancet*. 359: 1085.

Moriarty AT, Wilbur D. Those gland problems in cervical cytology: Faith or fact? Observations from the Bethesda 2001 Terminology Conference 2003. *Diagn Cytopathol*. 28: 171-4.

Moscicki A, Shiboski S, Broering J, Jay Naomi, Powel K, Clayton L, Darragh TM, Brescia R, Kanowitz S, Miller S, Stone J, Hanson E, Palefsky J 1998. Natural history of papillomavirus infection as measured by repeated DNA testing in adolescent and young woman. *J Pediatr*. 132: 277-284.

Munhoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Tafur L, Izarzugarza I, Gili M, Liladiu P, Navarro C, Martos C, Ascunze N 1992. The causal link between human papillomavirus and invasive cervical cancer: a population-based case-control study in Colombia and Spain. *Int J Cancer*. 52: 743-749.

Munhoz N, Bosch FX, Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV 2003. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cancer. *N Engl J Med.* 348: 518-27.

Nagai Y, Toma T, Moromizato H, Maehama T, Asato T, Kariya K, Kanazawa k 2004. Persistence of Human papilomavirus Infection as a Predictor for recurrence in carcinoma of the cervix after radiotherapy. *Am J Obstet Gynecol.* 191: 1907-13.

Nakagawa S, Yoshikawa H, Onda T, Kawana T, Iwamoto A, Taketani Y 1996. Type of Human Papillomavirus is related to clinical features of cervical carcinoma. *Cancer.* 78: 1935-41.

Nobeyama H, Sumi T, Misugi F, Okamoto E, Hattori K, Matsumoto Y, Yasui T, Honda K-I, Ishiro O 2004. Association of HPV infection with prognosis after neoadjuvant chemotherapy in advanced uterine cervical cancer. *Int J Med.* 101-105.

Parkin DM, Muir CS, Whelan SL, Ferlay J, Teppo L, Thomas DB 2002. Cancer incidence in five continents. Lyon (France) IARC. *Sci Publi* n°155.

Padilla-Paz LA 2005. Human papillomavirus vaccine: History, immunology, current status, and future prospects. *C Obstet Gynecol.* 48: 226-40.

Palefsky JM 2003. Cervical human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia in women positive for human immunodeficiency virus in the era of highly active antiretroviral therapy. *Current Opinion Oncology*. 15: 382-388.

Peters WA 3rd, Liu PY, Barret RJ 2nd, Stock RJ, Monk BJ, Berek JS, Souhami L, Grigsby P, Gordon W Jr 2000. Concurrent chemotherapy and pelvic radiation therapy compared with pelvic radiation therapy with pelvic alone as adjuvant therapy after radical surgery high risk early stage cancer of the cervix. *J Clin Oncol*. 18: 1606-13.

Pilch H, Ganzel S, Schäuffer U, Tanner B, Brockerhoff P, Maeurer M, Höckel M, Hommel G, Knapstein PG 2001. The presence of HPV DNA in cervical cancer: correlation with clinical-pathologic parameters and significance: 10 years experience at the department of obstetrics and gynecology of the Mainz University. *Int J Gynecol Cancer*. 11: 39-48.

Pintos J, Blackm MJ, Sadeghi N, Gladiriav P, Zeitouni AG, Viscidi RP, Herrero R, CoutiÃ©e F, Franco EL 2008. Human papillomavirus infection and oral cancer: a case-control study in Montreal, Canada. *Oral Oncology*. 44: 242-50.

Poletti PA, Halfon A, Marti MC 1998. Papillomavirus and anal carcinoma. *Int J Colorectal Dis*. 13: 108-111.

Rabelo-Santos SH, Zeferino L, Villa LL, Sobrinho JL, Amaral RG, Magalhães AV 2003. Human papillomavirus prevalence among Goiânia, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 98: 181-184.

Rambout L, Hopkins L, Hutton B, Fergusson D 2007. Prophylactic vaccine against human papillomavirus infection and disease in women: a systematic review of randomized controlled trials. *CMAJ.* 177 : 469 – 479.

Reeves WC, Brinton LA, Brennes MM, Quiroz E, Rauls WE, De Britton RC 1985. Case-control study of cervical cancer in Herrera Province, Republic of Panama. *Int J Cancer.* 36: 55.

Rigoni-Sterne, D 1842. Fatti statistici relativi alle malattie cancerose che seroirono di base alle poche cose dette dal dot. G Severe Progr *Patol Terap* 2: 507.

Rojel J 1953. The interrelation between cervical cancer and syphilis. *Acta Pathol Microbiol Scand.* 97: 1.

Rose Ragin, CC & Taioli E 2008. Second Primary head and neck tumor risk in patients with-SEER data analysis. *Head Neck.* 30: 58-66.

Rolón PA, Smith JS, Muñoz N, Klug SJ, Herrero R, Bosch X, Llamas F, Meur CJLM, Walboomers JMM 2000. Human papillomavirus infection and invasive cervical cancer in Paraguay. *Int J Cancer.* 85: 486-491.

Sarkar FH, Crissman JD 1990. Detection of human papilloma virus DNA sequences. *Biothechniques*. 2: 180-5.

Sarkar FH, Miles BJ, Plieth DH, Crissman JD 1992. Detection of human papillomavirus in squamous neoplasm of the penis. *J Urol*. 147: 389-92.

Schiffman M, Kjaer SK. Chapter 2: Natural History of anogenital human Papillomavirus Infection and Neoplasia. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2003; 31:14.

Schwartz SM, Daling JR, Shera KA, Madeleine MM, Mcknight B, Galloway DA, Porter PI, McDougal JR 2001. Human papillomavirus and prognosis of invasive cervical cancer: A population-based study. *J Clin Oncol*. 19: 1906-1915.

Singh RK, Maulik S, Mitra S, Mondel R, Basu SP, Raychwdhury S, Panda CK 2006. Human papillomavirus prevalence in postradiotherapy uterine cervical carcinoma patients correlation with recurrence of the disease. *Int Gynecol Cancer*. 16: 1048-1054.

SPAIS/SES-GO- Superintendência de Políticas de Atenção Integral à Saúde/ Secretaria de Estado de Goiás 2006; *Boletim epidemiológico*, ano 7 nº 24 jan/fev e março.

Strander B, Ryd W, Wallin K-L, Wårleby B, Zheng B, Milson I, Gharizadeh B, Pourmand N, Anderson-Ellström A 2007. Does HPV-Atatus 6-12 months after treatment of high grade dysplasia in uterine cervix predict long term recurrence? *EJC*. 43: 1849-1855.

Towne JE 1955. Carcinoma of the cervix in nulliparous and celibate woman. *Am J Obstet Gynecol*. 69: 606.

Ursin G, Peters RK, Henderson BE, d'Ablaing G3rd, Monroe KR, Pike MC 1994. Oral contraceptive use and adenocarcinoma of cervix. *Lancet*. 344: 1390-4.

van Muyden RCPA, Harmsel BWA, Smedts FMM , Hermans J, Kuijpers J C, Raikhlin N T, Petrov S, Lebedev A, Ramaekers FCS, Trimbos JB, Kleter B, Quint QGV 1999. Detection and typing of human pappillomavirus in cervical carcinomas in Russian women. *Cancer*. 85: 2011-6.

Viscidi RP, Schiffman M, Hildesheim A, Herrero R, Castle PE, Bratti MC, Rodriguez AC, Scerman ME, Wangs S, Clayman B, Burk RD 2004. Seroreactivity to human papillomavirus (HPV) types 16, 18 or 31 and risk of subsequent HPV infection: results from a population-based study in Costa Rica. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 13: 324-327.

Wang CJ, Lai CH, Huang HJ, Hong JH, Chou HH, Huang KG 1999. Recurrent cervical carcinoma after primary radical surgery. *Am J Obstet*. 181: 518-24.

Waggoner SE 2001. Cervical cancer. *Lancet*. 361: 2217-2225.

Waggoner SE, Fuhrman B, Darcy K, Parham G, Lucci JA, Monk BJ 2003. Influence of smoking on progression-free and overall survival in women with stage II-B, III-B and IVA cervical carcinoma: a Gynecologic Oncology Group (GOG) study. *Proc Soc Gynecol Oncol* 71.

Walbbomers JMM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snuders PJ, Peto J, Meijer CJM, Muñoz N 1999. Human Papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 189: 12-19.

Waterhouse J, Muir C, Shammugaratnam K 1982. Cancer Incidence in five continents. Lyon: International Agency for Research on Cancer.

Winkelstein W 1977. Smoking and cancer of uterine cervix: hypothesis *Am J Epidemiol* 106: 257.

Winkestein W, Shillitoe E J, Brand R 1984. Further comments on cancer of uterine cervix, smoking and herpesvirus infection. *Am J Epidemiol*. 119: 1

Wright NH, Vessey MP, Kenward B 1978. Neoplasia and dysplasia of the cervix uteri and contraception. *Br J Cancer*. 38: 273.

Wright JD, Li J, Gerard DS, Zhang Z, Huettner PC, Powell MA, Gibb RK, Herzog TJ, Mutch DG, Trinkaus KM, Rader JS 2005. Human papillomavirus type and tobacco use as predictors of survival in early stage cervical carcinoma. *Gynecol Oncol.* 98: 84-91.

Yamazawa K, Matsui H, Seki K et al 2000. Human papillomavirus-positive well differentiated adenocarcinoma of the uterine cervix: a case report and review of the literature. *Gynecol Oncol.* 77: 473-477.

Young RH, Scully RE 1989. Villoglandular papillary adenocarcinoma of the uterine cervix. A clinicopathological analysis of 13 cases. *Cancer* 63: 1773-1779.

Zielinski CD, Rozendaal I, Voohorst FJ 2003. HPV testing can reduce the number of follow up visits in women treated for cervical intraepithelial neoplasia grade 3. *Gynecol Oncol.* 91: 67-73.

Zhou J, Sun XY, Stenzel D, Farzer IH 1991. Expression of vaccinia recombinant HPV 16 L1 and L2 ORF proteins in epithelial cells is sufficient for assembly of HPV vireo-like particles. *Virology.* 185: 251-257.

Zunzuneghi MV, King MC, Coria CF, Charlet J 1986. Male influence on cervical cancer risk. *Am J epidemiol.* 123: 302.

8. Anexos


3.1. Anexo 1 – parecer do Comitê de Ética

Goiânia, 14 de agosto de 2008.

DECLARAÇÃO

Comitê de Ética em Pesquisa da Associação de Combate ao Câncer em Goiás

Declaramos para os devidos fins, que o projeto de pesquisa da pesquisadora Dra. Rossana de Araújo Catão Zampronha, “*Tipos de HPV e câncer do colo uterino: Impacto no prognóstico das pacientes com tumores nos estados metastás*”, foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Associação de Combate ao Câncer, em 13 de setembro de 2007. O referido projeto não foi encaminhado para a CONEP – Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, por se tratar de área temática III.


DRA. JULIANA CASTRO DOURADO PINEZI
Coordenadora do CEP/ACCG



ASSOCIAÇÃO DE COMBATE AO CÂNCER EM GOIÁS

162) 3878-7000 | 3243-7000
Rua 299, nº 256, St. Universitário
Goiânia - Goiás - Brasil - CEP 74.505-070
www.accg.org.br

Anexo 2- FICHA DE PESQUISA CLÍNICA

Tipos de HPV e câncer do colo uterino: Impacto na sobrevida das pacientes com tumores em estádios iniciais.

01) Número do prontuário

02) Iniciais da paciente

03) Idade ao diagnóstico()anos completos.

04) Gestações

05) Paridade

06) Estádio clínico ao diagnóstico (FIGO) [] 6.1.Ib ; 6.2 Ib2

Número de identificação do exame anatomopatológico

07) Tipo histológico do tumor [] 7.1. CEC; 7.2 Adenocarcinoma; 7.3. Adenoescamoso;
7.4 Indiferenciado; 7.5. Outros.

08) Grau de anaplasia do tumor [] 8.1.I; 8.2.II; 8.3.III; -1. Desconhecido.

09) Invasão linfovascular: [] 9.1 Sim ; 9.2. Não; -1 Desconhecido.

10) Linfonodos pélvicos comprometidos: [] 10.1.Sim ; 10.2.Não; -1 Desconhecido.

11) Número de linfonodos comprometidos []; se desconhecido -1.

12) Tratamento inicial: [] 12.1 Histerectomia Radical; 12.2. Radioterapia pré-operatória e cirurgia 12.3. Cirurgia + Radioterapia pós-operatória.

13) Recidiva da doença: [] 13.1Sim ; [] 13.2. Não ; () 13.3 Desconhecido

14) Estado na última visita [] 14.1. Viva sem doença; [] 14.2. viva com doença; ()
14.3 Morta sem doença; () 14.4. Morta com doença; ()14.5 Desconhecido.

15) Intervalo livre de doença do término do tratamento [] meses.

16) Sobrevida global do término do tratamento [] meses

17) Tratamento de resgate pós-recidiva: [] 17.1 Radioterapia; 17.2 Quimioterapia;
17.3 Outros.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)