



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA – UNICEUB
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE – FACES
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

ZILENE PINTO DE ARAÚJO

**ONCOGÊNESE POR PAPILOMAVÍRUS HUMANO
PAPANICOLAU CONVENCIONAL E EM MEIO LIQUIDO**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado no formato de artigo científico ao UniCEUB como requisito para a conclusão do Curso de Bacharelado em Biomedicina.

Orientador: Prof. DR. Bruno Silva Milagres.

BRASÍLIA

2015

ONCOGÊNESE POR PAPILOMAVÍRUS HUMANO

PAPANICOLAU CONVENCIONAL E EM MEIO LIQUIDO

Zilene Pinto de Araújo¹

Bruno Silva Milagres²

RESUMO

O câncer de colo do útero é um importante problema de saúde pública no Brasil. É uma doença de crescimento lento e silencioso, sendo necessária a detecção precoce. Segundo a Organização Mundial de Saúde, é o tipo tumor mais frequente entre as mulheres no mundo. A infecção pelo HPV é a principal causa para o aparecimento desse tipo de tumor, mas não isoladamente, tendo a presença de cofatores associados para o que ocorra seu desenvolvimento. Os tipos de HPVs 16 e 18, pelo seu potencial oncogênico, são associados ao câncer cervical. Este trabalho foi feito através de uma revisão narrativa, e seu objetivo foi descrever o mecanismo a respeito do câncer de colo do útero associados ao HPV, citando o Papanicolau e a vacina contra o HPV como os principais métodos de diagnóstico e prevenção, e também apontar as dificuldades para execução dessas ações e programas. Palavras-chave: Oncogênese. Câncer cervical. HPV. Papanicolau convencional. Citologia de meio líquido.

ABSTRACT

Cervical cancer is an important health issue in Brazil. It is a disease of slow and silent growth, thus necessary the early detection. According to the World Health Organization, it is the most frequent kind of tumor among women in the world. The HPV infection is the leading cause to the appearance of this type of tumor, though not isolatedly, having the presence of associated cofactors to its development. The HPVs type 16 and 18, due their oncogenic potential, are associated to cervical cancer. This work was made through a narrative review, and its objective was to describe the mechanism towards cervical cancer associated to HPV, indicating the Pap test and HPV vaccine as the main methods of diagnostic and prevention, and also sign the execution difficulties of those actions and programs. Keywords: Oncogenesis. Cervical cancer. HPV. Conventional Papanicolaou. Liquid based cytology.

¹Graduanda do curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília – UniCEUB.

²Doutor em Biologia Celular e Molecular – UFOP, Egresso do EPISUS, consultor da OPAS – Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública – CGLAB do Ministério da Saúde e professor do curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília – UniCEUB.

1. INTRODUÇÃO

A infecção genital por papilomavírus humano (HPV) é a causa principal para o desenvolvimento do câncer de colo de útero, mas não o suficiente, sendo necessários fatores de risco que contribuem para a evolução da doença (WALBOOMERS et al., 1999). O HPV é um vírus de DNA de fita dupla com aproximadamente 8000 pares de base em seu genoma, não possui envelope lipídico medindo aproximadamente 55 nanômetros, sendo considerada uma doença sexualmente transmissível encontrada com uma frequência muito alta em indivíduos sexualmente ativos, estudos apontam que essa frequência esteja em torno de 80% da população feminina mundial (TEIXEIRA et al., 2002).

Hoje mais de 200 tipos de HPV já foram identificados por análises das sequências de DNA, porém apenas 40 tipos de HPV infectam o trato genital e pelo menos 20 estão associados ao carcinoma de colo de útero (MUNOZ et al., 2003). Para avaliar os HPVs e o potencial oncogênico são feitas classificações, onde, HPVS 6, 11, 42,43 e 44 são de baixo risco o que leva a lesões verrucosas benignas, os tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 58, 59, 66, 68 e 70 são de alto risco o que podem levar ao câncer cervical, porém os tipos 16 e 18 classificados como carcinogênicos em humanos (BOSCH; 2003; MUNOZ et al., 2003). Porém parte das infecções por HPV é assintomática e podem se resolver com o tempo, regredindo espontaneamente em até 80% dos casos. Contudo em 20% das mulheres, a infecção acaba persistindo, podendo evoluir para câncer cervical. Em 10% dos casos em mulheres que tenham um risco elevado de desenvolver o câncer, estas deverão ser encaminhadas para fazer o diagnóstico precoce possibilitando o acompanhamento e tratamento, visando à cura completa das lesões precursoras (BOSCH et al., 2008; HUDELIST et al., 2004).

A forma de transmissão do HPV ocorre por contato direto com a pele ou mucosa já infectada, sendo o meio mais comum em (80%) dos casos ocorrem de relações sexuais, a penetração do vírus ocorre por micro lesões nas células das camadas profundas de células menos diferenciadas do epitélio escamoso onde ainda ocorre atividade mitótica (HARWOOD et al., 2000).

O HPV é agente etiológico de 100% dos casos de câncer de útero, 85% dos tumores de canal anal, 70% de tumores da vagina, 50% tumores do pênis, 44% de tumores de vulva e 20% dos tumores de cabeça e de pescoço (GILLISON, 2004).

Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA) e o Ministério da Saúde, em 2014 no Brasil houve 15.590 casos novos de câncer cervical, como mostrado na tabela 1, estimando um risco de 15,33 casos a cada 100 mil mulheres (INCA, 2014).

A infecção pelo HPV tende a ter persistência e progressão de acordo com o genótipo do vírus (ROSAS, 2010). E ainda existem outros fatores que estão associados para o desenvolvimento do câncer de colo do útero tais como a precocidade de início da vida sexual, multiparidade e a co-infecção pelo HIV e o tabagismo (KHAN et al., 2005).

Quase todas as infecções são assintomáticas ou inaparentes, sendo em sua maioria transitória. São apresentadas das seguintes formas: na forma clínica as lesões são notadas em formas de verrugas ou lesões exofílicas são chamados de condilomas, e a subclínica não é possível visualizar a olho nu, sendo necessária a aplicação de ácido acético a 2,5%, ou da solução de lugol, também conhecido como teste de Schiller, para que as alterações do colo uterino possam ser visualizadas, e nas infecções latentes o DNA do vírus só poderá ser detectado por meio de biologia molecular (BRASIL, 2013).

Em 90% dos casos de câncer da cérvix, progridem da Neoplasia Intra-Epitelial Cervical (NIC) que estão divididas em NIC I, NIC II e NIC III seguindo cada uma no seu grau de malignidade e progressão, porém nem toda NIC chega ao carcinoma invasor. Quando estas lesões são diagnósticas a tempo podem ser tratadas, é possível sua cura em 100% (INCA, 2006). O controle do câncer de colo uterino é feito através da análise microscópica de alterações do esfregaço cervical (exame Papanicolau). Este serve para detectar precocemente lesões precursoras ou neoplasia, dados apresentados pelo INCA e MS dão conta que em países onde esse exame foi realizado dentro das diretrizes preconizadas pelos mesmos, foi possível obter uma redução significativa da incidência e mortalidade pelo câncer cervical de até 90% (LINHARES; VILLA, 2006).

O conjunto de todos esses fatores levou a pensar em prevenção, tendo o Papanicolau como o principal meio de diagnóstico e rastreamento primário. Também apontar as dificuldades que esse método convencional vem trazendo ao longo dos anos, pela sua sensibilidade que está sempre abaixo da média esperada pelo número de amostras insatisfatórias, mostrando também a citologia de meio líquido como aposta para utilização pelo SUS.

O objetivo deste trabalho foi abordar a relação do Papilomavirus Humano e no desenvolvimento do câncer de colo de útero, e apontar a importância da citologia oncótica (Papanicolau) como principal meio de prevenção, fazendo a implantação de tecnologias novas como a citologia de meio líquido, que em 1999 foi trazida pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL) a

CML que vem sendo apontada pelos especialistas como melhor opção de redução significativa no número de amostras insatisfatórias e diminuição de falsos negativos.

Sua diferença é que em sua especificidade chega a 100 % e sensibilidade a 87% se contrapondo a citologia convencional que tem 51% de sensibilidade e 98% de especificidade. Diante disso, se faz necessário avaliar os dois métodos, verificando as diferenças dos resultados de cada um. A fim de reduzir o número de falsos-positivos e de falsos- negativos nos resultados da citologia convencional, e possibilitar uma cobertura mais homogênea em todas as regiões e principalmente reduzir a incidência de câncer cervical no Brasil.

2. METODOLOGIA

Este trabalho foi realizado por intermédio de uma revisão bibliográfica, no formato de narrativa. A revisão narrativa ao mesmo tempo em que é utilizada para descrever o estado da arte de um assunto específico, sob o ponto de vista teórico ou contextual, não fornece a metodologia para a busca das referências, nem as fontes de informação utilizadas, ou critérios usados na avaliação e seleção dos trabalhos, dando, portanto mais liberdade ao autor (BERNARDO; JANETE, 2004). Foi desenvolvida por meio de pesquisa nas bases de dados eletrônicos nacionais e internacionais, como: Scientific Electronic Library On-line (SCIELO), Scholar Google (GOOGLE ACADÊMICO), Instituto Nacional do Câncer (INCA) e Ministério da Saúde (MS), foram selecionados artigos, nas línguas portuguesa e inglesa, publicados no período entre 2000 a 2015.

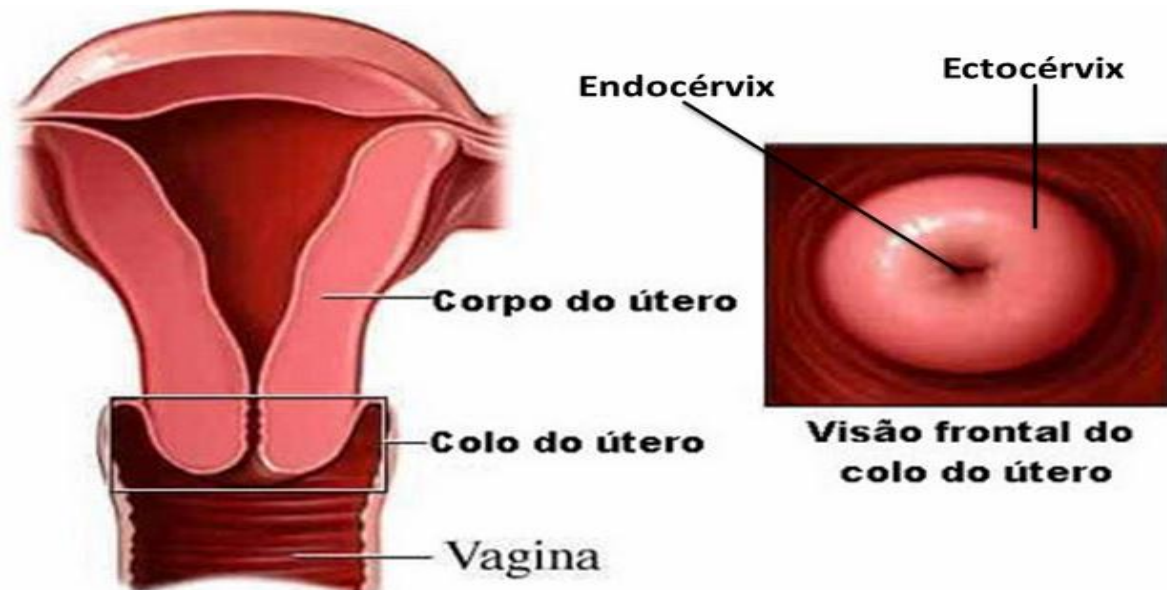
Para as pesquisas dos artigos têm-se as palavras-chave: HPV, Diagnóstico, Saúde da Mulher, Papanicolau, câncer, colo de útero, carcinogênese, condiloma, genoma, junção escamo colunar e biologia molecular.

3. DESENVOLVIMENTO

O colo do útero para o oncologista ginecológico representa foco para desenvolvimento de malignidade, porém o carcinoma de colo é o único câncer genital que pode ser prevenido pelas técnicas de rastreamento, e também por ser um exame de custo mais acessível e permite detecção e tratamento e cura na fase pré-maligna (NIC I) (FERNANDO et al., 2011). O colo do útero é dividido em ectocérvice (porção vaginal) que é visível a olho nu e é revestido por camadas de células denominadas epitélio escamoso estratificado não queratinizado, e na endocervice que fica na parte interna do colo coberta por epitélio colunar que secretam muco (KUMAR et al., 2005).

Na figura 1, mostra a posição da junção-escamo colunar (JEC), que fica entre os dois epitélios escamosos e colunares, que passam por transformações devido às fases vividas dentro do ciclo fisiológico e morfológico feminino na adolescência, menopausa e gravidez, promovendo a maturação e proliferação destes epitélios, a endocervice por ação destes fatores sofre uma ectopia o que leva a uma eversão do epitélio colunar sobre a ectocérvice fazendo com que este fique mais localizado na parte externa do colo do útero tornando-o mais vulnerável, pois fica em contato direto com canal vaginal que está exposto constantemente ao pH ácido da vagina, infecções por vírus, bactérias e também por traumas, e passa por transformações graduais, este processo recebe o nome de metaplasia e a área que sofre a ação deste processo é chamada de “Zona de transformação” (KUMAR et al., 2005).

Figura 1: Anatomia do útero.

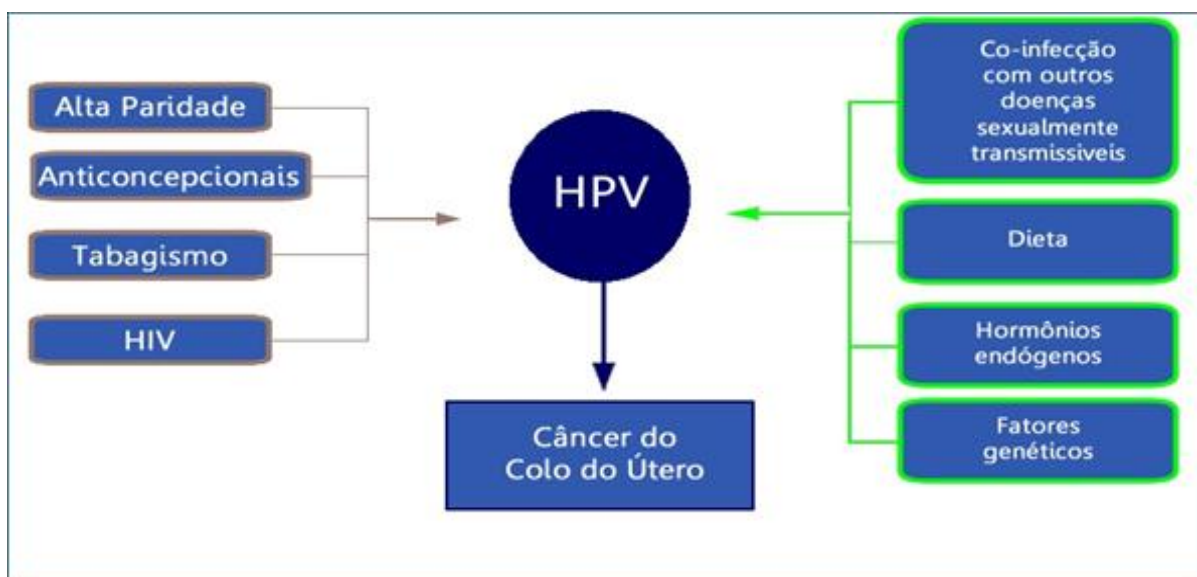


Fonte: Labpath.blogspot.com.br/carcinoma-do-colo-do-útero.

O câncer de colo de útero atualmente é um importante problema de saúde pública, principalmente em países em desenvolvimento. Estudos mostram que sua ocorrência é de 80% dos casos diagnosticados, tendo uma alta incidência e altas taxas de mortalidade sendo considerado o terceiro em prevalência nas mulheres. Trata-se de uma doença de evolução lenta e sua prevenção pode ser feita com a identificação das lesões atípicas do epitélio uterino precocemente (DIOGÊNES; VARELA; BARROSO, 2006).

Os métodos utilizados na identificação do HPV são o exame de Papanicolau, histopatologia, colposcopia que se utilizam os testes de Schiller ou do Ácido acético e também pelos métodos moleculares que identificam a presença de DNA do vírus do HPV nos tecidos. O tratamento tanto no Brasil quanto no mundo é realizado por meio de ações essencialmente terapêuticas, sendo de alto custo e muitas vezes inviabiliza sua cura porque nem todas as regiões têm esses tratamentos disponíveis. Contudo o Ministério da saúde vem mudando as estratégias e combinando ações preventivas de promoção e proteção á saúde. Segundo estudos do INCA diz que existe a relação entre o HPV e a carcinogênese no colo do útero, segundo estes dados à infecção pelo HPV é a causa necessária, mas não única para causar câncer cervical (INCA, 2011). Os fatores de riscos e de cofatores como apresentam na Figura 2 contribuem para o desenvolvimento do câncer cervical, nas co-infecções o HIV e/ou *Chlamydia trachomatis*, estão entre as mais frequentemente associadas (BRAGAGNOLO et al., 2010) .

Figura 2: Fatores Associados e envolvidos na carcinogênese do HPV



Fonte: Adaptado de CASTELLSAGUE; MUNOZ; CHAPTER, 2003.

O fumo eleva o risco de câncer cervical, a detecção dos metabolitos do tabaco foi detectada em secreções vaginais em níveis bem superiores as que são encontradas no sangue, o mesmo não ocorre em mulheres não tabagistas onde o risco analisado nas mulheres expostas ao tabaco aumenta de 2 a 5 vezes, o que diminui o limiar de imunidade celular (CASTLE et al, 2002). Mulheres com múltiplos parceiros sexuais apresentam riscos bem maiores que as que se relacionam apenas com uma pessoa, porém o comportamento do parceiro também influencia no contágio pelo HPV e outras DSTs como a Chlamydia, herpes simples e presença de verrugas genitais (CASTELLSAGUE et al., 2006).

Dentre os fatores nutricionais, segundo o Instituto nacional do cancro Americano, a subnutrição pela diminuição de ingesta de vegetais e frutas principalmente as que têm vitaminas A, E, C e betas carotenos e também aos alimentos que possuem ácido fólico aumentam a oxidação celular e diminuição do sistema imunológico o que aumenta a chance do risco de neoplasias Intra-Epitelial (NIC) (NEWS-MEDICAL. NET, 2011).

Em indivíduos que são portadores da imunodeficiência humana (HIV), ou com imunossupressão pós- transplantes, estes possuem um risco acrescido de infecção por HPV, pois se encontram muito mais sujeitos em desenvolver doenças associadas a este vírus (PALEFSKY; HOLLY, 2003).

Com relação à primeira gravidez e numero de paridade, estes podem se somar ao comportamento sexual de promiscuidade e cuidados com higiene pessoal, porém não se pode estabelecer somente a relação alta paridade com o câncer cervical, o que se pode afirmar é que com o número maior de partos leva a manutenção da zona de transformação na ectocérvice por períodos mais longos o que também leva a exposição mais prolongada ao vírus do HPV (ALVES, 2003).

Contudo, nem todos estes fatores e cofatores tem comprovação de que sua associação ao HPV possa influenciar ao desencadeamento do câncer cervical, como é o caso de uso de contraceptivos orais, pois até o momento não existe evidencias concretas de cooperação entre os hormônios esteroides e a infecção pelo HPV na evolução da carcinogênese. O que demonstra é a presença de altos níveis de progesterona e estradiol que podem sugerir uma predisposição na transformação de tumor associado ao HPV (HALBE, 2000).

Em sua grande maioria as infecções pelo HPV são assintomáticas. E parte das infecções é transitória e autolimitada com resolução espontânea em até 80% dos casos em um período de 1 a 2 anos, em 20% das infecções poderão torna-se persistentes levando ao câncer *in situ*, e apenas 0,1% chegam ao câncer invasivo, na classificação das lesões e do tipo de

HPV podemos defini-las em baixo, intermediário e alto risco, bem como a associação com a gravidade das lesões. No quadro 1, podemos visualizar cada classificação com associação e gravidade de cada uma delas (PARELLADA; PEREYRA, 2005).

Quadro 1: Classificação, tipos e associações com lesões cervicais do HPV

Classificação em função da associação com lesões graves	Tipos de HPV	Associação com lesões Cervicais
Baixo risco	6, 11, 42, 43 e 44	20,2% em NIC de baixo grau, praticamente inexistentes em carcinomas
Risco intermediário	31, 33, 35, 51, 52 e 58	23,8% em NIC de alto grau, mas em apenas 10,5% dos carcinomas invasores.
Alto risco	16	47,1% em NIC de alto grau ou carcinoma invasor
	18, 45, 56	6,5% em NIC de alto grau e 26,8% em carcinoma invasor

Fonte: Adaptado de Manual de DST/AIDS, 1999/INCA.

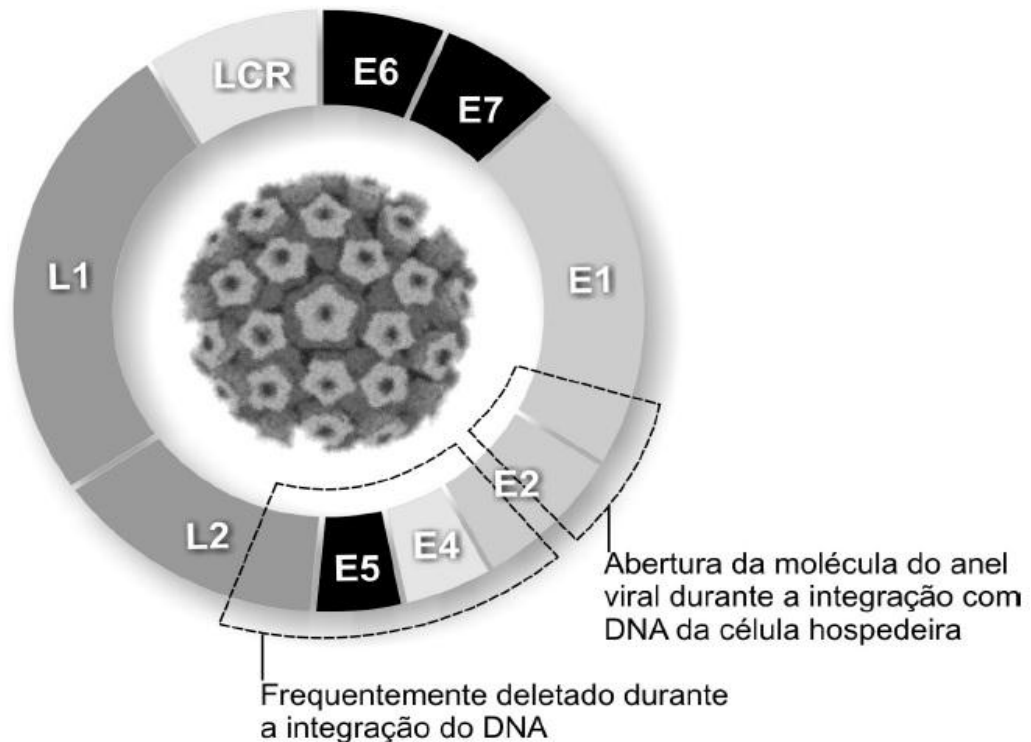
3.1. Estrutura genômica e replicação

O HPV é um vírus com DNA de dupla fita, não possui envelope lipídico, medindo aproximadamente 50 a 55 nm de diâmetro, e seu genoma mede aproximadamente 8000 pares de base (SCHIFMAN; CASTLE, 2003).

O genoma viral conforme está na Figura 3, é dividido em oito regiões conhecidas como ORF (Open Reading Frames) são as fases de leitura aberta e uma chamada de região não codificadora, as regiões de leitura aberta encontram-se organizadas em três regiões que compreendem em: região precoce “early” que contem os genes E1, E2, E4, E5, E6 e E7 e são responsáveis pela replicação viral e possui também a propriedade para transformação oncogênica, a região tardia “late” contem os genes L1 e L2 que são responsáveis pela

codificação de proteínas do capsídeo viral e as regiões LCR, chamadas de região reguladora da expressão do gene e replicação do genoma (RIVEIRA et al., 2002).

Figura 3: Representação esquemática do genoma do HPV mostra o arranjo dos genes precoces E, e os genes do capsídeo L1e L2 e a região reguladora (LCR).



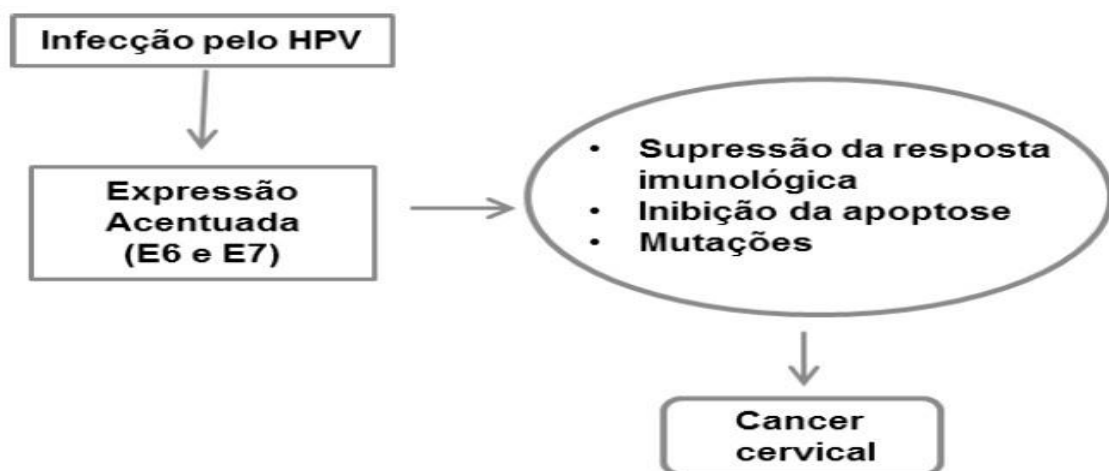
Fonte: Adaptado de BRANCA, et al., 2006.

O DNA viral se apresenta em duas formas, epissomal onde o DNA viral continua em forma circular dentro da célula do hospedeiro e não se integrando ao DNA da mesma, sendo encontrado nas lesões verrucosas nos genitais e pele, este tipo de lesão é apenas encontrada em lesões de baixo grau. E na forma integrada onde o DNA do vírus se integra e se lineariza com DNA do hospedeiro, por sofrer a perda do gene E2 pela quebra de seu DNA viral seu local de quebra ocorre, entre a região E1 e L1 começando o processo de transcrição dos genes E6 e E7 que são sintetizadas provocando a inativação dos genes supressores de tumores, que são os genes p53, que impede a apoptose e pRb, levando a uma maior atividade celular sem reparos dos danos aumentando a frequência das mutações, dos rearranjos cromossômicos e das aneuploidias, estes aumentos de eventos mutacionais é a causa que pode levar ao câncer cervical (STANLEY, 2010).

Os genes E1 e E2 codificam proteínas que estão envolvidas na replicação do DNA viral e também no controle da transcrição onde o vírus ainda encontra-se na forma epissomal, e a E4 se expressa nos estágios tardios da infecção e participa da alteração na matriz intracelular, na maturação e liberação de novas partículas virais como a formação de coilócitos, que são formações de grandes vacúolos perinucleares. Quando ocorre o aumento da proliferação celular induzida pela E6 e E7 e ao desenvolvimento do câncer cervical, ocorre à perda de expressão da E2 (HUMBERT; SEDMAM; SCHILLER, 1992; ALBA et al., 2009).

Na infecção inicial das células basais pelo HPV os genes precoces E1 e E2 que são responsáveis pela ativação e manutenção viral são ativados, e logo se dá a produção de 100 cópias de DNA viral epissomal por célula infectada, essas cópias são mantidas em células indiferenciadas da camada basal ao curso da infecção, então essas células infectadas com HPV continuam se dividindo e a cada ciclo de vida, e uma das células filhas permanece na camada basal se mantendo de forma não diferenciada apenas como, reservatório de DNA do vírus, e a outra célula filha migra para as camadas superficiais do epitélio iniciando o processo de diferenciação e maturação celular (DOORBAR, 2005).

Figura 4: Mecanismos carcinogênicos do HPV



Fonte: Adaptado de YUGAWA; KIYONO (2009).

Se houver a progressão de lesões não tratadas o genoma do HPV pode se integrar ao genoma da célula hospedeira e destruir o gene E2 e levar a superexpressão dos oncogêneses E6 e E7, conforme está na figura 4 a cima, o que leva a transformação celular e ao

desenvolvimento do câncer cervical. Contudo, os mecanismos de como os produtos desses genes agem não foi completamente esclarecido, que demonstra na verdade é que possivelmente essa ação ocorra da interação com proteínas reguladoras do ciclo celular. O que se pode concluir é que com a expressão desregulada do gene E6, leva à degradação da p53 que é um supressor de tumores que tem papel fundamental para a ocorrência da apoptose dentro do ciclo de vida, e com a perda dessa função as células transformadas se desenvolvem sem limites. Já a ação da E7 leva a inibição da atividade da (proteína do retinoblastoma) pRB que tem função de parada do ciclo, e na da degradação da p53 e a soma da expressão dos oncogenes E6 e E7 o que pode levar ao câncer cervical (SCHIFFMAN et al., 2007).

3.2. Câncer de colo do útero

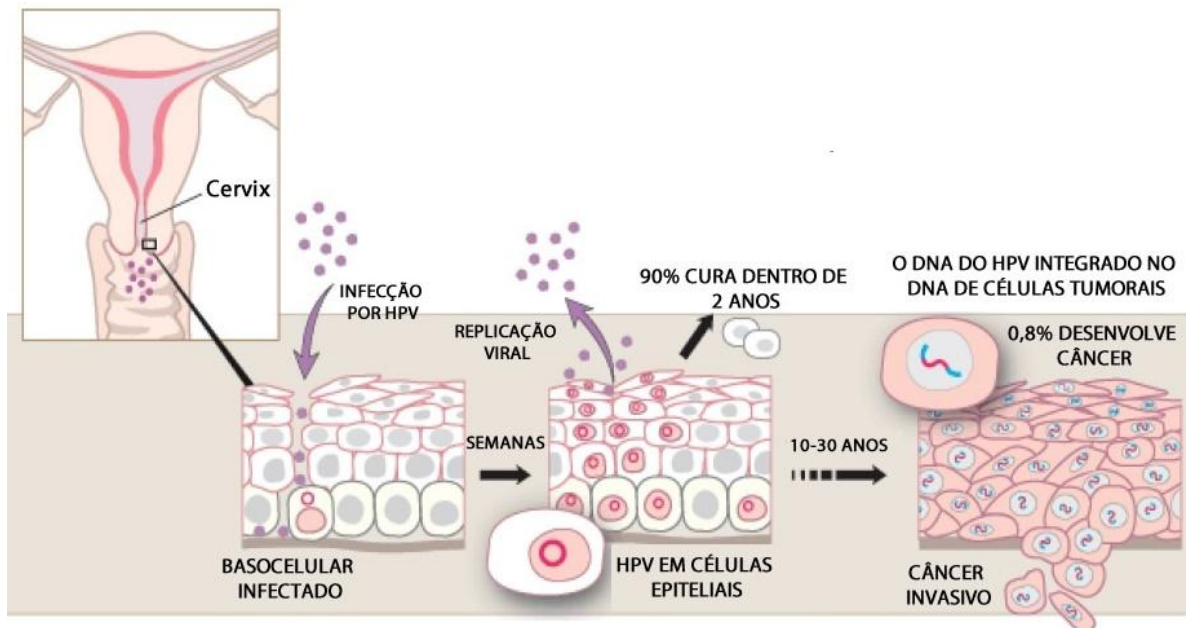
O câncer é o resultado de alterações que levam ao crescimento celular, descontrolado pelo organismo comprometendo órgãos e tecidos adjacentes. O câncer uterino decorre das transformações intraepiteliais progressivas que podem levar a um câncer invasivo, num período de até 20 anos (BRASIL, 2002). Em sua maioria o câncer de colo adoece mulheres em idade reprodutiva e também não reprodutiva, tendo início aos 30 anos com risco aumentado até seu pico máximo entre 50 e 60 anos, observando uma prevalência maior na faixa etária que vai dos 35 aos 45 anos, onde as mulheres estão em maior atividade sexual. As taxas de prevalência mais elevadas estão nas regiões onde o rastreamento das neoplasias é mais deficiente. (BRASIL, 2002).

Segundo o Ministério da Saúde, o desenvolvimento da neoplasia da cérvix uterina ocorre a partir do epitélio escamoso normal e posteriormente seguido das fases de transformação das camadas do epitélio (BRASIL, 2009).

Quando ocorre essa desordenação nas camadas mais basais do epitélio estratificado, como está indicada na figura 5, essa displasia recebe a classificação de Neoplasia Intraepitelial cervical que é compreendida em graus I, II e III, sendo a NIC I pode vir a ocupar 1/3 do epitélio pelas anormalidades celulares, mas ainda assim classificada como de baixo risco com quase nenhuma chance de evoluir para câncer cervical invasor não necessitando de propedêutica e tratamentos agressivos. Na NIC II o epitélio fica comprometido em até 3/4 de sua espessura, e NIC III ocorre uma displasia muito acentuada, com alterações que tomam quase toda espessura do epitélio, e ao ultrapassar os limites da membrana basal, a neoplasia já é invasiva acometendo também os tecidos vizinhos ao epitélio e órgãos adjacentes ou

distantes, estas sim são necessárias medidas mais específicas voltada a conduta de tratamento, onde em sua maioria é excepcional, ou seja, nesta paciente é realizada a conização que é realizada por alças da cirurgia de alta frequência (CAF) ou com laser (LIMA et al, 2011).

Figura 5: Representação esquemática do ciclo de vida e expressão das proteínas precoces E1, E2, E4, E5, E6 e E7 e proteína tardias L1 e L2 e progressão para carcinoma invasivo.



Fonte: adaptado de The Nobel Committee for Physiology or Medicine 2008.

Para que ocorra a progressão maligna é essencial que ocorra a integração do DNA do HPV no genoma da célula hospedeira, nesta fase ocorre à perda de material genético do vírus, juntamente com a ruptura do gene E2 que é responsável pela repressão da transcrição dos genes virais E6 e E7. Tendo como consequência a imortalidade das células infectadas por falta de regulação na expressão das oncoproteínas virais E6 e E7 (SYRJANEN; SYRJANEN, 2000). A proteína E6 se une a proteína supressora de tumor p53, alterando sua capacidade funcional estimulando sua degradação e com números baixos nos tumores falham na parada do ciclo celular em G1, levando ao dano celular, e a proteína E7 promove a inativação da pRb o que leva a proliferação e atividade mitótica celular (RAPP; CHEN, 1988).

Quando ocorre essa combinação das proteínas E6 e E7 dos HPVs de alto risco acontece também à abolição de alguns pontos essenciais de checagem do ciclo celular, resultando em um acúmulo de mutações em genes celulares diversos, toda essa transformação

leva ao longo do tempo á transformação maligna das células ocorrendo uma expressão continua das oncoproteínas dos HPVs de alto risco. A proteína E5 do HPV de alto risco, quando se junta a E6 e E7 promove a hiperproliferação de células infectadas facilitando a progressão do câncer (DIMAIO; MATTOON, 2001). Estudos apontam que 20% de NIC I (Neoplasia intraepitelial de baixo grau) progredem para NIC II (Neoplasia intraepitelial de alto grau) e 30% destas progredirão para NIC III (lesão intraepitelial de alto grau) e 40% dos casos vão evoluir para câncer invasivo (PETO et al., 2004).

3.3. Preventivo por Papanicolau/ Rastreios oncológicos

No Brasil a atenção primária á saúde (APS), é definida como um conjunto de ações na promoção e proteção em saúde, prevenção de agravos, diagnóstico, tratamento, reabilitação e manutenção da saúde na coletividade e individualidade de quem a procura, e é realizada por meios de ações gerenciais e sanitárias (BRASIL, 2009). Segundo o Ministério da Saúde, a prevenção primária do câncer cervical está relacionada à prevenção da infecção pelo HPV que é o principal fator de risco para o câncer uterino, onde todas as aplicações de prevenção são adotadas, estimulando o uso de preservativos para prevenção das doenças sexualmente transmissíveis (DSTs) e também na detecção precoce do câncer cervical, levando todas as informações e esclarecimentos sobre o rastreamento, identificação da população feminina na faixa etária prioritária, identificando as mulheres com risco aumentado. Na atenção secundária, a unidade é a referencia para confirmação diagnóstica e tratamento ambulatorial das lesões precursoras. (BRASIL, 2002). Na atenção terciária já engloba os serviços de apoio diagnóstico e terapêutico hospitalar e junto com a atenção secundária, torna-se referencia para atenção primária, porém, com relação nos casos de câncer a atenção terciária dará maior respaldo para que todos os procedimentos sejam realizados em centros de alta complexidade, onde possa oferecer os tratamentos cirúrgicos, quimioterápicos e radioterápicos, dados que estão disponíveis na portaria do MS/SAS nº 741, de 19 de dezembro de 2005, que regulamenta e habilitação de hospitais e centros de assistências de alta complexidade em oncologia (INCA, 2001).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a realização do exame citopatológico é a estratégia que é adotada para o rastreamento de câncer da cérvix ainda na fase subclínica, contudo, atingir a cobertura é um desafio muito importante para alcançar a meta, uma vez que se dá em âmbito da atenção primária, mas essa meta às vezes fica

comprometida porque nem sempre é possível levar essas informações e as campanhas ao público alvo, uma vez que isso se dá por uma sequência de intervenções que vão desde a identificação do público alvo e vai até a vigilância após o tratamento. Se os programas seguissem de forma organizada, seguindo a cadeia adequadamente instituída, seriam de fato mais eficazes do que simplesmente rastreios oportunistas (não organizados e não monitorados) (INCA, 2015).

No Brasil a qualidade dos exames citopatológicos é definida pela portaria da Secretaria de Políticas de Saúde/Secretaria de Atenção a Saúde (SPS/SAS) nº 92 de 16/10/2001. Desde então, o indicador de percentual de amostras insatisfatórias tem sido utilizado para avaliar a qualidade dessas coletas e dos preparos das lâminas e mostrou-se estável entre 2002 e 2008, com valor inferior a 1,2%, menor que o parâmetro da OMS que é de 5% (BRASIL,2013).

A Região Norte possui o maior indicador acima da média nacional, mas apresenta uma queda de 3,4% para 1,5% para o mesmo período, contudo, alguns estados das Regiões Norte e Nordeste mais de 30% dos municípios apresentam um índice de amostras insatisfatórias acima de 5%, nestas regiões onde apresentam seus números com tamanha diferença se deve ao fato de que o rastreamento é feito de forma deficitária e sua cobertura não se dá conforme é preconizada para o público alvo, também pela baixa sensibilidade que apresenta o exame de citologia convencional “Papanicolau” (BRASIL, 2013).

Estes números apresentados pelo INCA apontam que as variações regionais refletem diretamente na incidência do câncer de colo do útero no Brasil. Onde que na Região Norte, o câncer do cólon de útero é mais frequente, com (23,57/100 mil) de todos os casos de câncer feminino, e na Região Centro-Oeste ele é o segundo tumor mais frequente, com (22,19/100 mil), na Região Nordeste chega a (18,79/100mil), na Região Sul (15,87/100 mil) e por último a Região Sudeste que ficou com (10,15/ 100 mil). Nestes estudos ainda se pode concluir que, sua incidência é maior em países em desenvolvimento quando se compara aos países desenvolvidos, com estimativa de 265 mil óbitos de mulheres no ano de 2012, sendo que 87% destes aconteceram nos países em desenvolvimento. (INCA, 2012).

Em países onde a cobertura ultrapassa 50% do exame de Papanicolau que é realizado a cada três anos apresentam taxas inferiores a três mortes por 100 mil mulheres por ano, e para aqueles que conseguem atingir uma cobertura de 70% o número de mortes é igual ou menor que duas mortes por 100 mil mulheres por ano (ANTTILA et al, 2009).

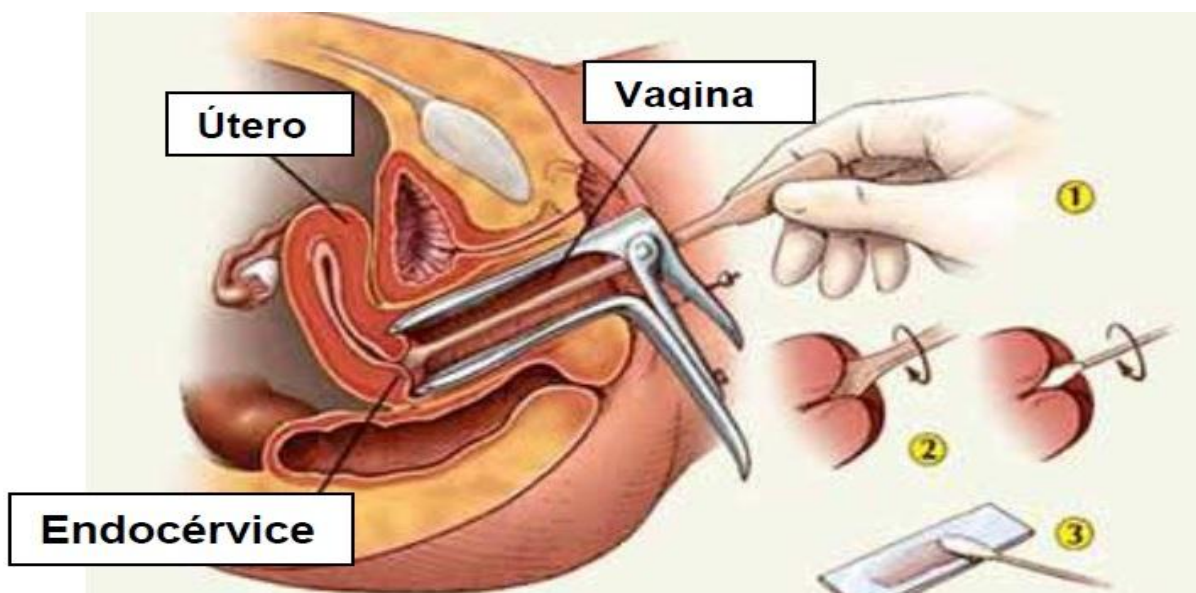
O exame citopatológico ou Papanicolau como é mais conhecido é sem dúvidas o mais utilizado hoje para rastreamento do câncer cervical e pode ser feito de duas formas:

convencional ou citologia em meio líquido onde a CML ainda não é realizada pelo SUS apenas em clínicas particulares e em fase experimental para comparativos das duas técnicas pelo instituto Adolfo Lutz, segundo a OMS, para que ocorra uma redução significativa da mortalidade é necessário que a cobertura do exame preventivo atinja pelo menos 80% do público alvo. Isto se faz necessário, para que possa ser garantido o diagnóstico e tratamento correto dos casos que apresentarem alterações (INCA, 2014).

O Ministério da Saúde faz recomendação de que mulheres na faixa etária de 25 a 65 façam o exame anualmente. Após dois exames negativos, com intervalo de um ano cada, o rastreamento só será feito novamente em três anos (INCA, 2014).

Mas se o resultado aponta um resultado sugestivo de infecção por HPV ou lesão de baixo grau, a orientação dada a paciente é de que ela repita o exame de Papanicolaou em seis meses e se o resultado persistir como o anterior, a conduta será dada pelo médico. E a realização da colposcopia já será indicada. Em alguns casos podem ocorrer de ter um resultado apresentando uma amostra insatisfatória, então essa paciente deverá ser convidada a repetir o exame entre seis e doze semanas (INCA, 2011). O exame de citologia convencional (CC) é seguro e realizado em poucos minutos, a análise é feita por microscopia de esfregaços que são retirados de raspados das células epiteliais do colo do útero e as células podem ser fixadas direto na lâmina, como mostra na figura 6, onde são utilizados dois dispositivos, uma espátula de Ayres e uma escova endocervical (BRASIL, 2013).

Figura 6: Coleta do exame de Papanicolaou



O método convencional foi duramente criticado, por apresentar altas taxas de falsos negativos, com variação de 5% a 70%, esses inconvenientes podem ser desde amostras insuficientes, preparações inadequadas de esfregaços, qualidade de fixação das amostras e/ou erro de interpretação das lâminas, falta de padronização e de treinamento nos procedimentos de rotina, o que acabou por instigar o desenvolvimento de novas técnicas, buscando melhores resultados e diminuindo os falsos- negativos (ORTIZ et al., 2008).

Diante de tantas divergências e desgaste por parte de pacientes e altos custos com repetição dos exames citológicos, o Instituto Adolfo Lutz que é o principal laboratório de saúde pública em parceria com laboratórios e conveniados do SUS, começou a utilizar o exame de citologia em meio líquido com custo reduzido e financiado pelo MS. Por esses motivos a CML, vem sendo utilizada com maior frequência, por apresentar melhor fixação, e homogeneidade do material celular, na figura 8, o passo a passo de citologia de meio líquido onde que a partir da figura 2 demonstrada na figura 8, começa todo processo que é feito de forma automatizada onde o único momento que o profissional faz sua parte é na coleta do material da endocervice e ectocérvice da paciente (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2011).

Figura 8: Passo a passo da citologia de meio líquido

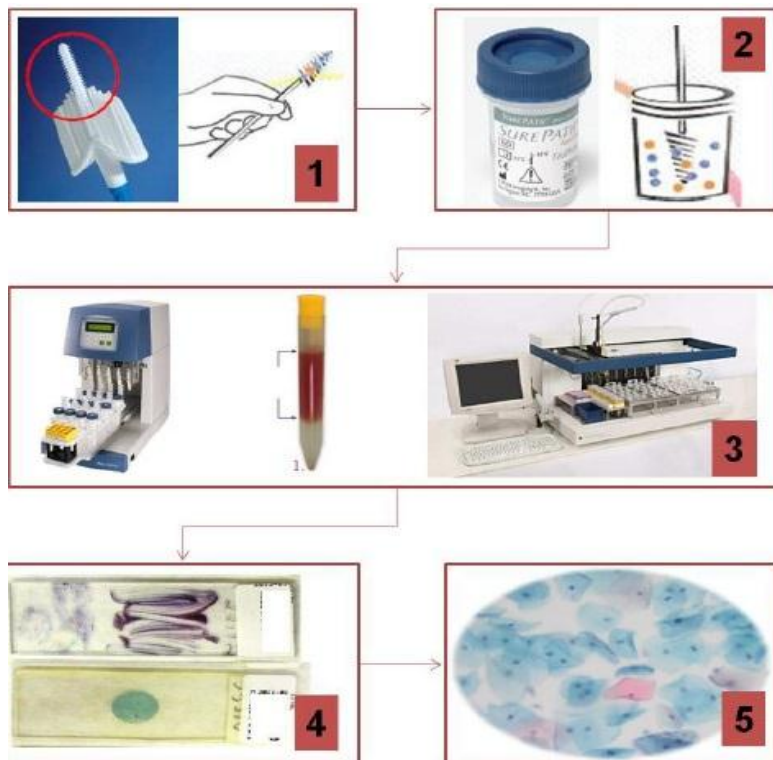


Figura 2. Etapas da coleta pela técnica de citologia em meio líquido

1 – Obtenção das amostras com a escova endocervical. As células ficam aderidas às cerdas da escova.

2 – A ponta da escova é depositada em um frasco contendo líquido preservativo, não havendo descarte de células colhidas. O frasco é encaminhado ao laboratório

3 – Todo o processo de confecção e coloração das amostras é realizado de forma automatizada.

4 – Comparação entre uma lâmina confeccionada pela CC (acima) e pela CML (abaixo).

5 – Amostra de células pela técnica de CML.

Com diminuição significativa de material não celular e a utilização de apenas um dispositivo, que é uma escova que logo após a coleta das células endocervicais e ectocervicais do útero da paciente, têm sua ponta destacada e colocada em um frasco meio líquido a base de metanol a fim de evitar o ressecamento celular, reduzindo o número de hemácias e de células inflamatórias, proporcionando uma melhor leitura e diminuindo o quantitativo de exames insatisfatórios em relação ao citológico convencional. O diferencial é que dessa amostra também pode ser feita a detecção do DNA viral, utilizando técnicas moleculares bem como para diagnóstico de DSTs como a Chlamydia, Gonorréia e HPV e obtenção de amostras permitindo a leitura automatizada (IAL, 2010). Foi observado pela as equipes da secretária de Estado da rede pública, que os pontos mais críticos nos exames preventivos e detecção precoce de neoplasias foram exatamente a falta de padronização e treinamento nestes procedimentos de rotina, coleta e na orientação dos profissionais envolvidos (IAL, 2013).

Nas mulheres que forem diagnosticadas com lesões intraepiteliais do colo do útero no rastreamento, são encaminhadas a uma unidade secundária para fazer o diagnóstico e extensão e grau da lesão, mas a CML ainda não está disponível na rotina do SUS, por causa do custo elevado em relação ao da citologia convencional (INCA, 2006).

A coilocitose ou atipia coilocitótica é o principal achado que evidencia a transformação celular causada pelo HPV, o que configura essa transformação é atipia nuclear e a formação de halo perinuclear e atipia nuclear, discariose, paraceratose e a multinucleação, com este quadro apresentado é necessário fazer a identificação do tipo viral com técnicas moleculares onde a captura híbrida e a reação de polimerase em cadeia (PCR) são as mais utilizadas (ABRÃO, 1995). Vale lembrar que o exame citopatológico não detecta a infecção pelo HPV e nem seu tipo, mas ainda é de muita valia para diagnosticar precocemente o câncer de colo do útero, porque seu resultado mostra claramente as células em transformação (BRASIL, 2002).

Segundo o MS, a vigilância dos indicadores citados anteriormente deve contribuir para que ocorra uma avaliação e adequação do acesso da população alvo ao exame de Papanicolau, permitindo que também possam ser analisadas as desigualdades geográficas e temporais pela busca deste acesso, e assim promover ações e ofertas do serviço e também para o planejamento da gestão e avaliação das políticas de saúde de atenção à mulher (BRASIL, 2013).

No Brasil existem aproximadamente seis milhões de mulheres com idade entre 35 e 49 anos que ainda não realizaram o exame de Papanicolau, o que é preocupante porque é nesta faixa onde ocorrem mais casos de câncer uterino. Pode-se perceber que ocorrem

distorções com relação às recomendações preconizadas, ou por falta de informação correta, por medo ou vergonha, muitas vezes também acontece que nem mulheres nem os profissionais compreendem bem ou não confiam nos resultados que são pautados em evidências científicas quanto às recomendações, isso repercute de forma muito preocupante na estratégia de rastreamento o que pode atrapalhar no rastreamento de mulheres mais suscetíveis a doença (VALE et al., 2010)

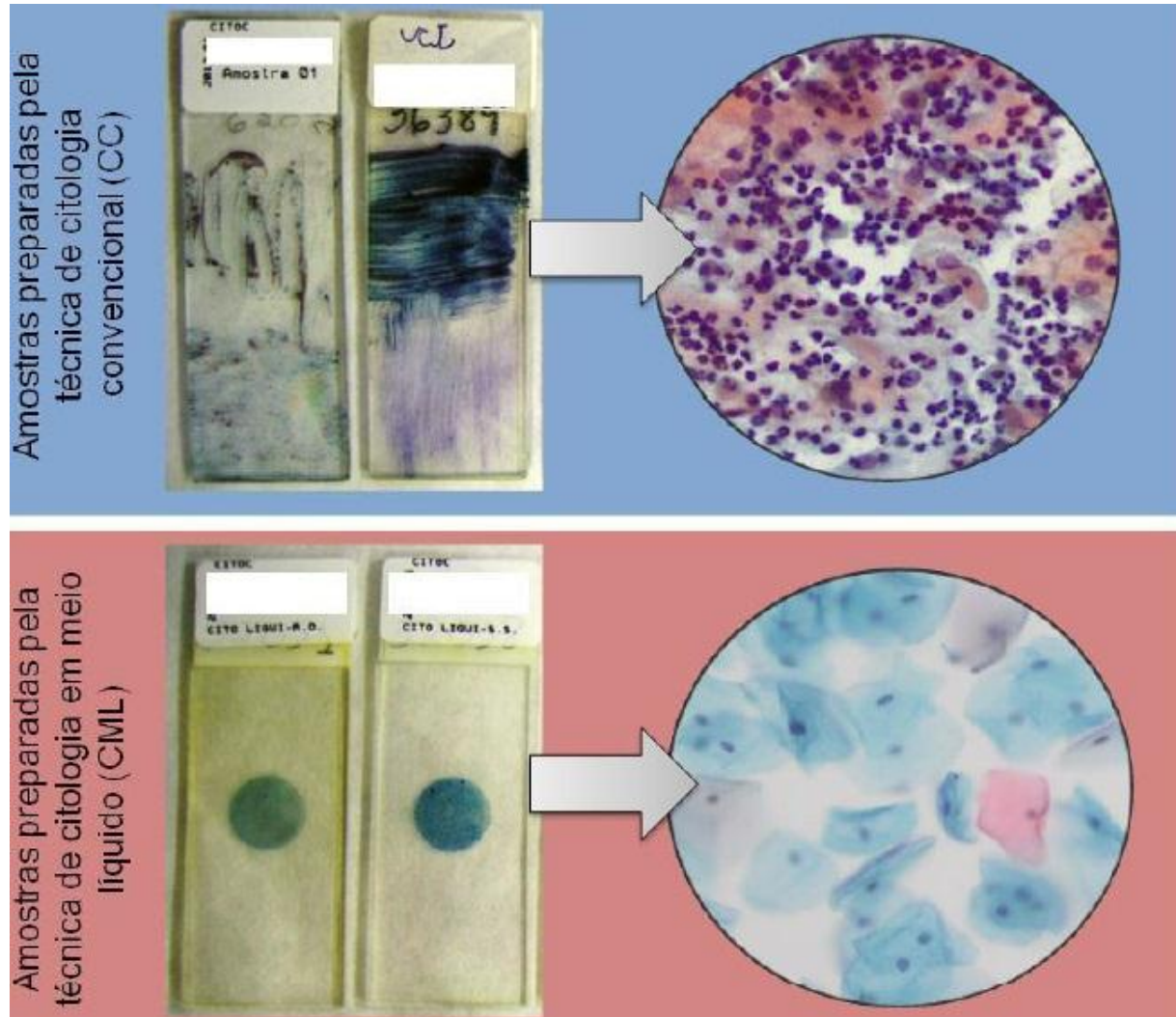
Os programas de ações a saúde criados pelo governo e custeados pelo SUS, precisam passar por reformulações visando implantar tecnologias de ponta em exames para o rastreamento do câncer de colo uterino, porque ainda não tem nem o controle das mulheres que realizaram os exames tão pouco se houve periodicidade estabelecida, o mesmo não acontece em países desenvolvidos, onde trabalha fazendo todas as previsões e sempre busca novas tecnologias para que o sistema funcione de forma a diminuir cada vez mais a incidência dessas doenças (DIAZ et al,2010).

A diferença entre as duas técnicas destaca-se a coleta e fixação celular, os dados que existem na literatura dão conta que cerca de 66% das limitações da CC estão relacionados a etapa de colheita e distribuição e fixação da lamina como foi demonstrado na figura 6, nestes estudos também apontam que 80% do material coletado do colo do útero e da endocervice não é transferido para lâmina, ou seja, apenas 20% é utilizado na duas formas de distribuição da técnica na lâmina. O mesmo não ocorre na CML, pois só se utiliza uma escova endocervical modificada e somente neste momento que o profissional faz manipulação e todo restante é feito de forma automatizada conforme indicou na figura 8, e ainda tem um percentual reduzido de amostras insatisfatórias de 3,5% da citologia convencional para 0,25%, isto só reforça que devem ocorrer mudanças na metodologia e treinamento dos profissionais que atuam nesta área, além disso, houve um aumento de 1,82% para 3,48% do percentual das lesões pré-neoplásicas de baixo grau e para as atípicas de significado indeterminado um percentual de 4,52% para 6,98% (IAL, 2008).

O que se pode concluir é que os resultados da pesquisa feitos pelo IAL evidenciaram os benefícios que a implantação da CML poderia trazer para rastreamento das lesões precursoras do câncer cervical, possibilitando o recebimento de seus diagnósticos com maior rapidez e qualidade, objetivando a uma conduta mais adequada para cada paciente, e facilitando o entendimento dos médicos e profissionais a fim de trazer mais conforto e segurança nos tratamentos que podem ser sugeridos para cada caso. Na figura 9 é possível visualizar as diferenças entre as lâminas da citologia convencional e a de meio liquido, onde

fica bem clara a homogeneidade das lâminas bem como a eliminação de artefatos e sobreposição de material, interferentes da confecção e coloração (IAL, 2008).

Figura 9: Diferença entre lâminas da citologia convencional e da citologia de meio líquido



Fonte: (IAL,2013)

3.5. Interpretação do Diagnóstico Citológico

Até que chegasse a um consenso ideal para a interpretação da citologia esfoliativa, ocorreram mudanças significativas para apontar com certeza do que se tratava ser uma inflamação inespecífica, ou realmente uma alteração cancerosa. Na época essa classificação foi importante para a racionalização da conduta, nas interpretações, definindo qual seria a melhor conduta a fim de evitar mutilações desnecessárias. Quando foi estabelecida a etiologia

do câncer de colo, foi necessária uma reavaliação e alteração da classificação da OMS (ANTTILA et al.,2009). No quadro 2, apresenta as nomenclaturas cito patológicas e histológicas , que estão sendo usadas desde o início da realização do exame para diagnóstico das lesões cervicais escamosas e de suas equivalências (INCA, 2011).

O sistema TBA (The Bethesda System) que em 1988 foi estabelecida como uma forma mais racional e simples para relatar os resultados de citologias cervicais e foi prontamente adotada por muitos citologistas, então os termos ASC-US (células glandulares atípicas de significado indeterminado), LGSIL (neoplasia intraepitelial cervical de baixo grau), HGSIL (neoplasia intraepitelial cervical de alto grau), que logo se popularizou e começou a ser chamada de HSIL e LSIL. Atualmente, o sistema Bethesda mais utilizado mundialmente, porque estabelece bem a normalidade, alterações reativas, infecciosas e anormalidades do epitélio escamoso (KOSS,1989).

Quadro 2: Correlação entre sistemas de nomenclatura de alterações em citologia oncológica

Classificação citológica de Papanicolaou (1941)	Classificação histológica da OMS (1952)	Classificação histológica de Richart (1967)	Classificação Citológica Brasileira (2006)
Classe I	-	-	-
Classe II	-	-	Alterações benignas
-	-	-	Atipias de significado indeterminado
Classe III	Displasia leve	NIC I	Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL)
	Displasia moderada e acentuada	NIC II e NICIII	Lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL)
Classe IV	Carcinoma <i>in situ</i>	NIC III	HSIL AIS
Classe V	Carcinoma invasor	Carcinoma invasor	Carcinoma invasor

Fonte: Diretrizes pra rastreamento do câncer do colo do útero, 2011.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O papilomavírus humano (HPV) provoca uma infecção genital crônica no colo do útero, que levam a alterações morfo-citológicas. O diagnóstico precoce é fundamental para uma conduta médica correta, a fim de evitar tratamentos radicais, o exame de Papanicolau é um método de rastreamento de suma importância, pois se for feito de forma correta visando atender o público alvo, e reduzir o número de lesões pré-neoplásicas, em até 80% de sua incidência e assim reduzindo também a chance de transformação maligna.

No Brasil a meta ainda não foi alcançada enquanto que em países desenvolvidos essa meta chega ultrapassar em algumas regiões, tendo em vista que a citologia convencional aponta um número muito grande de falsos negativos e amostras insatisfatórias em seus resultados, a medida mais plausível que aponto seria trazer a citologia de meio líquido para o SUS, para atendimento nacional e melhorar as ações em todos os níveis de atenção, primária, secundária e terciária, visando à obtenção de diminuição de casos de câncer cervical.

E para que esse desafio seja vencido e que se obtenha a melhor meta com melhor custo-benefício esse sistema deve incluir:

1. Recrutamento da população alvo por meio de sistemas informatizados de base populacional.
2. Adoção das recomendações tendo como base evidências científicas, incluindo e definindo a população alvo e também dos intervalos entre as coletas, na elaboração de guias clínicos para manejo dos casos suspeitos.
3. Recrutamento das mulheres que ainda não fizeram o rastreamento.
4. Abordagem certa e necessária para mulheres com exames que apresentaram alterações nos exames.
5. Educação através de campanhas publicitárias em meios de comunicação.
6. E garantia de qualidade dos procedimentos realizados em todos os níveis de atenção e cuidados.

Estas medidas devem ser adotadas, principalmente pelo fato de que no Brasil a CML ainda não está disponível na rede pública, apenas o IAL faz a utilização desta técnica em São Paulo em parceria com MS.

Mas é também notável que houve crescimento quanto ao interesse da comunidade científica em relação ao desenvolvimento da doença, devido ao aumento de casos diagnosticados o que é muito positivo para aprimoramento das técnicas já existentes bem como o preparo de todos os profissionais envolvidos desde o atendimento básico profilático

ao tratamento da doença. Desafios esses que não excluem e que são lançados também aos Biomédicos que cada vez mais ocupam seu espaço em conscientização das mulheres quanto à profilaxia, prevenção e diagnóstico de doenças.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRÃO, F. S.; **Tratado de Oncologia Genital e Mamaria**, 1, ed. São Paulo: Roca, 1995.

ALBA, A; CARARACH, M.; RODRÍGUES, C. C. The Human Papillomavirus (HPV) in Human Pathology: Description, Pathogenesis, Oncogenic Role, Epidemiology and Detection Techniques. **The Open Dermatology Journal**, Espanha, v. 3, n. 1, p. 90-102, Jan. 2009.

ALVES, T. Prevenção do cancro do colo do útero. **Revista Portuguesa de Clinica Geral**, Lisboa v.19, n. 5, p. 455-460. Abr. 2003.

ANTTILA. A., et al. Cervical cancer screening policies and coverage in Europe. **Jornal Europe of Cancer**. 2009; v. 45, n.15, p. 2649-2655. Ago.2009.

ARANTES, R. C. et al., Processo saúde-doença e promoção da saúde: aspectos históricos e conceituais. **Revista de Atenção Primária à Saúde**, Juiz de Fora, v. 11, n. 2, p. 189- 198 abr./jun. 2008.

BARRON, B. A.; RICHART, R. M. A statistical modelo f the natural history of cervical carcinoma based on a prospective study of 557 cases. **Jornal of the National Cancer Institute**, Washigton, v. 41, n. 6, p. 1343-1353, Dec. 1968.

BAYAS, J. M.; COSTAS, L.; MUÑOZ, A. Cervical cancer vaccination indications, efficacy and side effects. **Gynecology Oncology**, Madrid, v. 110, n. 3, p. 11-14, Set. 2008.

BOSCH, F. X.; SANJOSE, S.; CHAPTER. Human papillomavirus and cervical cancer-burden and assessment of causality. **Jornal of the National Cancer Institute Monographs**, Washigton, v. 3, n. 31, p. 3-13, Set. 2003.

BRAGAGNOLO, A. L.; ELI, D.; HAAS, P. Papiloma Vírus Humano (HPV). *Revista Brasileira Analise Clínica*. Rio de Janeiro, v. 42, n. 2, p. 91-96, Jan. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Controle dos canceres do colo do útero e de mama**. Brasília, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. **Estimativa 2010**: incidência de câncer no Brasil/Instituto Nacional de Câncer, Rio de Janeiro, INCA, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. **Estimativa 2014**: incidência de câncer no Brasil/Instituto Nacional de Câncer, Rio de Janeiro, INCA, 2014.

BRASIL. **Prevenção do Colo do Útero**. Ministério da Saúde. Manual Técnico. Profissionais da Saúde, Brasília: 2002.

CASTLE, P. E. et al., prospective study of high grade cervical neoplasia risk among human papillomavirus infected women. **Journal of the national cancer institute**, States United, v.94, n. 18, p. 1406-1414, Sep. 2002.

CASTELLSAGUÉ, X. et al., worldwide human papillomavirus etiology of cervical adenocarcinoma and its cofactors: implications for screening and prevention. **Journal of the national cancer institute**, States United, v.98, n. 5, p. 303-315, Mar. 2006.

DANIELA, E. et al. Campanha de prevenção de câncer cervical: estudos no Instituto Adolfo Lutz mostram a necessidade de avaliação na faixa etária. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 67, n, 1, p. 64-67, Mar. 2008.

DIAZ, M. et al. Cost-effectiveness of human papillomavirus vaccination and screening in Spain. **European journal of Cancer**, Inglaterra, v. 46, n. 16, p. 2973-2985, nov. 2010.

DIMAIO, D.; MATTOON, D. Mechanisms of cell transformation by papillomavirus E5 proteins. **Oncogene**, New Haven, v.20, n. 54. P, 7866-7873, Nov. 2001.

DIÓGENES, M. A. R.; VARELA, Z. M. V.; BARROSO, G. T. Papillomavirus humano: repercussão na saúde da mulher no contexto familiar. **Revista Gaúcha Enfermagem**, Porto Alegre, v. 27, n. 2,p, 266-73, Jun. 2006.

DOORBAR, J. The papillomavirus life cycle. **Jornal Clinical Virology**, Londres, v.32, suplemento. P, 7-15, Fev. 2005.

FERNANDO, F. et al., **Rotinas em Ginecologia**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011.

GILLISON, M. L. Human papillomavirus associated head neck cancer is a distinct epidemiologic, clinical, and molecular entity. **Seminars in Oncology**, Baltimore, v. 31, n. 6, p. 744-754, Dec. 2004.

GUSTAFSSON, L. et al., International incidence rates of invasive cervical cancer after introduction of cytological screening. **Cancer Causes Control**, Oxford, v. 8, n. 5, p. 755-763, Set. 1997.

HALBE, H. W. **Tratado de Ginecologia**. 3.ed. São Paulo: Roca, 2000. P. 612-623.

HARWOOD, C. A. et al., Human papillomavirus infection and non-melanoma skin cancer in immunosuppressed and immunocompetent individuals. **Journal of Medical Virology**, New York, v. 61, n. 1, p. 289-297, Jul. 2000.

HUBBERT, N. L.; SEDMAN, S. A.; SCHILLER, J. T. Human papillomavirus type 16 E6 increases the degradation rate of p53 in human keratinocytes. **Journal of Virology**, Estados Unidos, v. 66, n. 10, p. 6237-6241, Out. 1992.

HUDELIST, G.; MANAVI, M.; PISCHINGER. Physical state and expression of HPV DNA in benign and dysplastic cervical tissue: different levels of viral integration are correlated with lesion grade. **Gynecology Oncology**, v. 92, n. 3, p. 873-880, Mar. 2004.

INCA, Instituto Nacional do Câncer. **Deteção Precoce**. 2001. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/acoes_programas/site/home/nobrasil/programa_nacional_controle_cancer_colo_uterio/deteccao_precoce>. Acesso em 8 setembro de 2015.

INCA, Instituto Nacional do Câncer. **Diretrizes Brasileiras para o Rastreamento do Câncer do colo do útero**. Disponível em: http://www1.inca.gov.br/inca/arquivos_rastreamento_cancer_colo_uterio.pdf>. Acesso em 18 novembro 2015.

Instituto Nacional de Câncer (Brasil). Estimativa 2010: **incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA; 2009.

INCA. Instituto Nacional do Câncer, 2010. Disponível em: <<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/inca/portal/home>>. Acesso em 5 agosto de 2015.

Instituto Nacional de Câncer (Brasil). Estimativa 2014: **incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA; 2014.

INCA. Instituto Nacional do Câncer, 2010. Disponível em: <<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/inca/portal/home>>. Acesso em 3 outubro. 2015.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (Brasil). **Nomenclatura brasileira para laudos cervicais e condutas preconizadas: recomendações para profissionais de saúde**. 2. ed. Rio de Janeiro: INCA, 2006.

KANESHIMA, E. M. et al. Importância da aplicação de critérios morfológicos não clássicos para o diagnóstico citopatológico de Papillomavirus humano (HPV) previamente detectado por PCR. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, São Paulo, v. 35, n. 1, p. 29-33, 2003.

KHAN, M. J. et al. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. **Journal of the National Cancer Institute**, United States, v. 97, n. 14, P. 1072-1079, Jul. 2005.

KOSS, L. G.; The Papanicolaou test for cervical câncer detection. A triumph and a tragedy. **Journal of the American Medical Association**, Estados Unidos, v. 3, n. 261, p. 737-743, Fev.1989.

KUMAR, V. et al., **Bases Patológicas das Doenças**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

LIMA M. I. M. et al. Conization with Loop electrosurgical excision procedure in cervical intraepithelial neoplasia. **LEEP or LEEP-CONE. FEMINA**, v. 39, n. 04, p. 183-188, Abr. 2011.

LINHARES, A. C.; VILLA, L. L. Vaccines against rotavirus and human papillomavirus (HPV). **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 82, n. 3, p. 25-34, Jul. 2006.

MD, SAUDE. **Informações médicas para pacientes**. Disponível em: <http://www.mdsaude.com/2014/09/exame-papanicolau.html>. Acesso em: 09 de setembro de 2015.

MUNOZ, N. et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. **The New England Journal Medicine**, Boston, v. 348, n.6, p. 518-527, Fev. 2003.

NEWS-MEDICAL. NET. **Cervical-cancer. Prevention**. Disponível em: <http://www.news-medical.net/health/cervical-cancer.prevention.aspx>. Acesso em 2 de dezembro 2015.

ORTIZ, J.O. et al. Comparación de la toma de citología cervical con calidad satisfactoria con el método Cervex-brush o Cervex-mex. **Ginecología y Obstetricia de México**, México, v. 76, n. 12, p. 381-385, Dez. 2008.

PARELLADA, C. I.; PEREYRA, E. A. G. Papilomaviruses Humana. **Tratado de Infectologia**, 3, ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

PALEFSKY, J. M.; HOLLY, E. A. Immunosuppression and co-infection with HIV. **Journal of the National Cancer Institute Monographs**, n. 31, p. 41-46. 2003.

PETO, J. et al., Cervical HPV infection and neoplasia in a large population-based prospective study: the Manchester cohort **British Journal of Cancer**, Inglaterra, v. 91, n. 5, p. 942-953, Ago. 2004.

RAMA, C. H. et al., Detecção sorológica de anti-HPV 16 e 18 e sua associação com os achados do Papanicolau em adolescentes e mulheres jovens. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 52, n.1, p.43-47, Jan/Fev. 2006.

RAPP, L.; CHEN, J. J. The Papillomavirus E6 Proteins. **Biochimica and Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1378, n. 1, p. 1-19, 1998.

RIVERA, R.Z.; AGUILERA, J.T.; LARRAIN, A.H. Epidemiologia del virus Papiloma Humano (HPV). **Revista Chilena de Obstetricia e Ginecologia**, Santiago, v.67, n.6, p. 501-506, 2002.

SCHIFFMAN, M.; CASTLE, P. E. SCHIFFMAN. Human Papillomavirus **Epidemiology and Public Health**. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, Northfield, v.127, n. 8, p. 930-934, Ago. 2003.

SCHIFFMAN, M. et al., **Human papillomavirus and cervical câncer**, Londres, v. 370, n. 9590, p. 890-907, Set. 2007.

STANLEY, M. Pathology and epidemiology of HPV infection in females. **Gynecologic Oncology**, United States, v. 117, n. 2, p. 5-10, Maio. 2010.

SYRJANEN, K. J.; SYRJANEN, S. M. **Papillomavirus infections in human Pathology**, John Wiley e sons Ltd, New York , p. 1-615, 2000.

TEIXEIRA, et al., Avaliação do parceiro sexual e risco de recidivas em mulheres tratadas por lesões genitais induzidas por Papilomavírus Humano (HPV). **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 5, p. 315-320, Jun. 2002.

VALE, et al., Avaliação do rastreamento do câncer do colo do útero na Estratégia Saúde da Família no Município de Amparo, São Paulo, **Caderno de Saúde Pública**, v. 26, n. 2 , p. 383-390.Fev. 2010.

WALBOOMENS, et al., Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. **Jornal of Pathology**, Londres, v. 189, n.1, p. 12-19. Set. 1999.

WOODMAN, C.B.J.; Collins, S.I; Young, L.S, The natural history of cervical HPV infection. Unresolved issues. **Nature Review Cancer**, Inglaterra, v. 7, n.1, p. 11-22. Jan. 2007.

ZUR-HAUSEN, pappilomavirus anb cancer: fron basic studeints to clinical application. **Nature Review Cancer**. Londres, v. 2, n. 5, p. 342-350. May 2005.