**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO**

MA. DEL ROCIO ROCHA RODRIGUEZ

***Fatores associados ao desenvolvimento de
Lesões Cervicais em Mulheres Mexicanas***

RIBEIRÃO PRETO

2008

MA. DEL ROCIO ROCHA RODRIGUEZ

***Fatores associados ao desenvolvimento de
Lesões Cervicais em Mulheres Mexicanas***

Tese apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutorado em Enfermagem Fundamental, junto ao Departamento de Enfermagem Geral e Especializada, inserido na linha de pesquisa: Doenças Infecciosas - problemática e estratégias de enfrentamento.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula Morais Fernandes

RIBEIRÃO PRETO

2008

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE

FICHA CATALOGRÁFICA

Rocha, Rodriguez Ma. Del Rocio

***Fatores associados ao desenvolvimento de
Lesões Cervicais em Mulheres Mexicanas***

Ribeirão Preto, 2008.

134 p.1,5 IL; 30 cm

Dissertação apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Doenças Infecciosas - problemática e estratégias de enfrentamento.

Orientadora: Fernandes, Ana Paula Moraes

1HPV. 2 HIV-1. 3 Enfermagem.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Ma. Del Rocio Rocha Rodriguez

Fatores associados ao desenvolvimento de Lesões Cervicais em Mulheres Mexicanas

Tese apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutorado em Enfermagem Fundamental, junto ao Departamento de Enfermagem Geral e Especializada,

Aprovada em: _____

Banca Examinadora

Profa. Dra. Ana Paula Morais Fernandes

Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto. Assinatura: _____

Prof.Dr. Pedro Fredemir Palha

Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto. Assinatura: _____

Profa. Dra. Maria José Clapis

Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto. Assinatura: _____

Prof.Dr. Eduardo Antonio Donadi

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Assinatura: _____

Prof. Dr. Edson Garcia Soares

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

A todas as pessoas, que nos momentos difíceis que surgiram no decorrer do doutorado estiveram presentes e me fizeram sentir sempre acompanhada. De maneira especial agradeço:

Agradeço à Profa. Dra. Ana Paula Moraes Fernandes por ter aceitado o desafio desta orientação, e pela paciência, compreensão, amizade e apoio.

Dr. Ruben Lopez Revilla, Biol. Mireya Sanchez Garza, e laboratório do Biología Molecular no Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT).

Às autoridades, profissionais e pacientes do Conselho de AIDS em Guanajuato (COGUSIDA) e ao Conselho Estatal de AIDS em San Luis Potosí (COESIDA), México pela colaboração na etapa de coleta de dados do presente estudo.

Às Instituições que permitiram a realização do convenio de Doutorado: Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto de Universidade de São Paulo e Escola de Enfermagem de Celaya da Universidade Autónoma de Guanajuato.

A todos os professores e funcionários de a EERP-USP pelo acolhimento e oportunidade de realizar um intercambio de costumes e cultura.

Às autoridades da Escola de Enfermagem e da Universidad Autónoma de San Luis Potosí, pela vontade política na contribuição de formação de Doutores para o México e a oportunidade de dar um passo mais na minha busca de aprimoramento profissional e pessoal.

Às autoridades locais de San Luis Potosí e, a nível nacional, o PROMEP, pelo apoio financeiro para a realização do presente estudo.

A todas as colegas e amigas que estiveram por perto nos momentos em que mais precisei e com as quais compartilhamos momentos de desafios e conquistas.

DEDICATÓRIA

AO MEU DEUS

Pela fortaleza, inteligência e coragem que me deu para o objetivo que hoje estou cumprindo!

A TODA MINHA FAMÍLIA

De maneira especial ao meu pai *Antônio* e mãe *Isabel*, pelo amor, apoio e guia que recebi desde meu nascimento até os dias de hoje, representando um papel importante nos objetivos alcançados.

Meus irmãos, cunhadas e sobrinhos, por todo o carinho, ajuda, apoio, mesmo na distância, para conseguir dar um passo mais no longo caminho da vida profissional e sua grande contribuição no meu crescimento como pessoa.

Aos meus queridos e inesquecíveis amigos Monica, Karla, Paco, Edelaine, Lucas e Jhonas.

Por ter me deixado livre o suficiente para fazer minhas escolhas e por ter me cobrado na hora certa para que eu não esquecesse daquilo que escolhi.

O Anjo Mais Velho

O dia mente a cor da noite
E o diamante a cor dos olhos
Os olhos mentem dia e noite a dor da gente

Enquanto houver você do outro lado
Aqui do outro eu consigo me orientar
A cena repete a cena se inverte
enchendo a minha alma d'aquilo que outrora eu deixei de acreditar

tua palavra, tua história
tua verdade fazendo escola
e tua ausência fazendo silêncio em todo lugar

metade de mim
agora é assim
de um lado a poesia o verbo a saudade
do outro a luta, a força e a coragem pra chegar no fim
e o fim é belo incerto... depende de como você vê
o novo, o credo, a fé que você deposita em você e só

Só enquanto eu respirar
Vou me lembrar de você

O Teatro Mágico
Composição: Fernando Anitelli

RESUMO

Rocha, R.R. Fatores associados ao desenvolvimento de Lesões Cervicais em Mulheres Mexicanas. 2008. 134 f. Tese (Doutorado) – Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

A compilação mais recente dos dados mundiais indica que anualmente 466.000 novos casos de câncer cervical são detectados em todo mundo. A infecção pelos tipos oncogênicos do papilomavírus humano (HPV), constitui importante fator de risco para o desenvolvimento do câncer do colo uterino. Em mulheres portadoras do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1), tem sido demonstrado o aumento na prevalência e persistência da infecção por HPV oncogênicos, justificando o aumento da susceptibilidade destas mulheres para o desenvolvimento das lesões cervicais, lesões precursoras do câncer do colo uterino. Citocinas são importantes na defesa contra a infecção pelo HPV e o nível de sua produção é geneticamente determinado. A predominância de citocinas do padrão do tipo Th1, como o TNF-alfa, está associada com a regressão das lesões cervicais. Neste estudo foram analisados os fatores comportamentais, imunológicos e virais, possivelmente, associados ao desenvolvimento das lesões cervicais em 66 mulheres mexicanas, portadoras ou não da infecção pelo HIV-1, apresentando lesões cervicais. Assim, aspectos sócio-demográficos e hábitos sexuais, a identificação e a tipificação do HPV, e a detecção do polimorfismo da região promotora do TNF foram analisados.

Ao avaliar os aspectos sócio-comportamentais, a maioria das mulheres estava casada legalmente ou em união consensual no momento da entrevista, com nível educacional fundamental e nível sócio-econômico baixo. Associado a isso, a maior porcentagem dos maridos eram migrantes dos Estados Unidos da América (EUA), em busca de emprego e melhores condições financeiras. O grupo de pacientes com HIV-1 que referiram utilizar a camisinha só algumas vezes ou nunca e que relataram possuir entre 2-3 parceiros sexuais foi maior do que o grupo de mulheres sem o HIV-1. Adicionalmente, os parceiros sexuais de mulheres com o HIV-1 mantinham outras parcerias sexuais, sendo estas heterossexuais e/ou homossexuais. Todas as pacientes arroladas no presente estudo apresentavam infecção ativa por HPV e lesões cervicais de baixo grau. Os HPV oncogênicos, como os do tipo 16/18 e 35, foram significativamente mais freqüentes entre as HIV positivas em comparação às

não portadoras dessa infecção. Relativo às comparações do polimorfismo do TNF, a frequência do genótipo TNF-308 não mostrou diferenças significantes entre os grupos de pacientes. O gene da região promotora do TNF na posição -238 também foi avaliado e observamos que o alelo TNF-238G, associado à alta produção dessa citocina, apresentou significativo aumento de sua frequência entre as pacientes com o HIV-1 em relação às pacientes sem o HIV-1.

Estes resultados sugerem que as condições sócio-culturais e hábitos sexuais estão envolvidos com a vulnerabilidade para a aquisição do HIV e HPV em mulheres mexicanas. Embora as portadoras do HIV apresentem infecção ativa por HPV oncogênicos, a presença do alelo -238G, relacionado com a alta produção do TNF-alfa, pode estar associado com a não progressão das lesões cervicais. Entretanto, esta interpretação deve ser realizada com cautela, pois algumas mulheres que apresentavam resultados de lesões cervicais de baixo grau morreram de câncer cérvico uterino. Este fato revela a fragilidade das análises e avaliações ginecológicas nos serviços de saúde referidos neste estudo e sugere que a alternativa de utilizar técnicas de biologia molecular para a identificação e tipificação dos tipos oncogênicos do HPV seja uma estratégia importante para os programas de prevenção do câncer do colo do útero.

Descritores: 1- HPV 2- HIV-1 3- TNF 4- Lesões Cervicais

ABSTRACT

Rocha, R.R. Factors associated with the development of cervical lesions in Mexican women. 2008. 134 p. Doctoral Dissertation – University of São Paulo at Ribeirão Preto College of Nursing, Ribeirão Preto, 2008.

The most recent compilation of global data indicates that, every year, 466,000 new cases of cervical cancer are detected around the world. Infection by oncogenic types of the human papillomavirus (HPV) constitutes an important risk factor for the development of colon cancer. In women with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1), an increased prevalence and persistence of infection by oncogenic HPV has been demonstrated, justifying these women's increased susceptibility to the development of cervical lesions, which precede colon cancer. Cytokines are important in the defense against infection by HPV and its production level is genetically determined. The predominance of th1 cytokines, such as TNF-alfa, is associated with the regression of cervical lesions. This study analyzed behavioral, immunological and viral factors that may be associated with the development of cervical lesions in 66 Mexican women, infected by HIV-1 or not and presenting cervical lesions. Sociodemographic aspects and sexual aspects, HPV identification and typification and the detection of polymorphism in the region that promotes TNF were analyzed.

With respect to socio-behavioral aspects, most women were legally married or lived in consensual union at the time of the interview, with basic education and low socioeconomic level. Moreover, most husbands were migrants from the United States (USA) who were looking for a job and better financial conditions. The group of HIV-1 patients who mentioned using a condom sometimes or never had having 2-3 partners was larger than the group of women without HIV-1. In addition, the sexual partners of women with HIV-1 had other hetero and/or homosexual partners. All patients included in this research presented active infection by HPV and low-grade cervical lesions. Oncogenic HPV, such as types 16/18 and 35, were significantly more frequent among HIV-positive than among HIV-negative patients. As to the comparisons of TNF polymorphism, the frequency of the TNF-308 genotype did not show significant differences between the patient group. The gene of the TNF promoting region in position -238 was also assessed. It was found that the TNF-

238G allele, associated with high production levels of the cytokine, presented a significant increase in frequency among patient with in comparison with those without HIV-1.

These results suggest that sociocultural conditions and sexual habits are involved in Mexican women's vulnerability to infection by HIV and HPV. Although the HIV patients present active infection by oncogenic HPV, the presence of the -238G allele, related with the high production of TNF-alpha, can be associated with the non progression of the cervical lesions. However, this must be interpreted with caution, as some women with low-grade cervical lesion results died of colon cancer. This fact reveals the fragility of gynecological analyses and assessments at the health services mentioned in this research and suggest the alternative of using molecular biology techniques for the identification and typification of HPV as an important strategy for colon cancer prevention programs.

KEY WORDS: 1- HPV 2- HIV-1 3- TNF 4- cervical lesions

RESUMEN

Rocha, R.R. Factores asociados al desarrollo de Lesiones Cervicales en Mujeres Mexicanas. 2008. 134 f. Tesis (Doctorado) – Escuela de Enfermería de Ribeirão Preto, Universidad de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

Las cifras mundiales más recientes indican que anualmente 466,000 nuevos casos de cáncer cervical en las mujeres son detectados en todo el mundo. Una historia previa de ITS, incluyendo una infección por el VIH-1 también fue consistentemente citada en la literatura como factor de riesgo para el desarrollo de cáncer cervical, por esto, en este estudio transversal y comparativo en 66 mujeres mexicanas de las cuales 40 eran portadoras de la infección por el VIH-1 y 26 sin infección por el VIH-1; atendidas en la Secretaria de Salud del Estado de Guanajuato seguidas junto a los programas del Consejo Estatal del SIDA en Guanajuato (COGUSIDA) y al Consejo Estatal del SIDA en San Luis Potosí (COESIDA), México. En este grupo de mujeres se realizó la identificación de factores de riesgo comportamentales, inmunológicos y virales para el desarrollo de las lesiones cervicales así como, la identificación y tipificación de VPH en muestras obtenidas de cuello uterino, y la detección de polimorfismos de la región promotora de TNF.

De los resultados obtenidos en las 66 mujeres, la edad variaba entre los 16 a 60 años (media =35 años), 23 (34,8%) mujeres estaban casadas en el momento de la entrevista, de las mujeres con VIH-1 25 (62,5%) tuvieron parejas sexuales que migraron a Estados Unidos por lo menos una vez en su vida, así el numero de mujeres positivas para VIH-1 que tuvieron inicio de su vida sexual después de los 17 años de edad fue mayor que en las mujeres sin infección por VIH-1 ($p= 0,0009$; $RR=2,0$); un numero significativamente mayor de pacientes portadoras de VIH-1 refirió haber tenido la ultima relación sexual hace más de 6 meses ($p=0,0005$; $RR=1,9$). En relación a las Infecciones de Transmisión Sexual (ITS) en los grupos de mujeres portadoras o no de la infección por VIH-1 mostraron un aumento significativamente mayor de ocurrencia de múltiples ITS en el grupo de portadoras de VIH-1 comparado al grupo de mujeres sin esta infección ($p=0,0001$; $RR=infinito$), las 66 pacientes fueron identificadas como portadoras de la infección por el VPH y los análisis mostraron que el grupo de mujeres con VIH-1 presentaron aumento

significativamente de la co-infección por el VPH tipo 18 ($p=0,02$; $RR=0,45$) y el tipo 35 ($p=0,003$; $RR=1,8$) en comparación al grupo de mujeres sin VIH-1, además encontramos la presencia de la infección por los tipos 16 y/o 18 que fue significativamente menor entre las no portadoras de VIH-1 ($p=0,006$; $RR=0,57$). De los polimorfismos de TNF, las frecuencias encontradas en los grupos estudiados mostraron que el TNF-238, o el alelo 238*G se presentó significativamente aumentado entre las pacientes con VIH-1 cuando fueron comparados a las pacientes sin VIH-1 ($p=0,00163$, $OR= 0,7335$). Por los resultados obtenidos en este trabajo concluimos que: condiciones socio-culturales y hábitos sexuales están involucrados con la vulnerabilidad para la adquisición del VIH y VPH en mujeres mexicanas, los datos encontrados en este estudio refuerzan que la alternativa de utilizar técnicas de biología molecular para la identificación y tipificación de los tipos oncogénicos de VPH sea una estrategia importante para los programas de salud de la mujer.

Palabras Clave: 1- HPV 2- HIV-1 3- TNF 4- Lesiones Cervicales

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Mapa gênico da região de classe III do Complexo Principal de Histocompatibilidade Humano, apresentando 760.000 pares de base.....	34
Figura 2-	Ciclo de replicação do HIV e mecanismo de ação dos anti-retrovirais.....	44
Figura 3-	Produtos de DNA amplificados visualizados através da eletroforese em gel de agarose.....	51
Figura 4-	Diagrama de fluxo do método de tipificação de HPV-AR mediante passos de digestão sucessiva do produto de E6/E7 de ~250 pb com as enzimas de restrição.....	55
Figura 5-	DNA do sangue obtido de PCR nas 66 amostras de mulheres portadoras ou não do HIV-1. C+- controle positivo, C- controle negativo, amostras 3-26 DNA obtido de pacientes sem o HIV-1, amostras 27-64 DNA obtido de mulheres portadoras do HIV-1.....	57
Figura 6-	Gel de poliacrilamida 10% mostrando a mobilidade eletroforética dos polimorfismos dos SNPs -308 do gene TNF. A banda de 456 pb é referente ao controle interno da reação (genes da Hemoglobina Humana, iniciadores HBBA.S/HGBA.A). As bandas de 259 pb representam o polimorfismo G/A da região promotora -308 do gene TNF.....	61

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1-** Comparações das freqüências do uso de diferentes classes de anti-retrovirais relacionadas ao esquema terapêutico adotado entre as pacientes com HIV-1..... 70
- Gráfico 2-** Distribuição das freqüências dos alelos do TNF-308 entre o grupo de pacientes com ou sem a HIV-1..... 78
- Gráfico 3-** Distribuição das freqüências dos alelos do TNF-238 entre o grupo de pacientes com ou sem a HIV-1..... 79
- Gráfico 4-** Distribuição das freqüências dos genótipos do TNF-308 entre o grupo de pacientes com ou sem a HIV-1 e controle..... 80
- Gráfico 5-** Distribuição das freqüências dos genótipos do TNF-238 entre o grupo de pacientes com ou sem a HIV-1 e controle..... 81

LISTA DE QUADROS

Quadro 1-	Categorias clínicas do sistema de classificação do CDC em pessoas infectadas pelo HIV-1.....	46
Quadro 2-	Quantificação da carga viral das 40 pacientes portadoras do HIV-1.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Enzimas utilizadas para a digestão	52
Tabela 2-	Tipos de HPV identificados pela reação	53
Tabela 3-	Tampões utilizados nas digestões.....	53
Tabela 4-	Relação dos iniciadores utilizados para detecção dos polimorfismos dos SNPs -308 do gene TNF.....	58
Tabela 5-	Relação dos iniciadores utilizados para detecção dos polimorfismos dos SNPs -238 do gene TNF.....	59
Tabela 6-	Reagentes utilizados para a amplificação dos SNPs -308 e -238 do TNF.....	59
Tabela 7-	Condições de amplificação do SNP –308 e –238 do TNF.....	60
Tabela 8-	Condições específicas para eletroforese de cada loco.....	60
Tabela 9-	Caracterização das pacientes incluídas no estudo, segundo idade, gravidade das lesões cervicais, tipo de HPV, <i>status</i> sorológico para a infecção pelo HIV-1 e tipo de Infecção por transmissão sexual (ITS), por ocasião da realização do estudo...	65
Tabela 10-	Idade de início da atividade sexual em pacientes portadoras ou não da infecção pelo HIV-1.....	71
Tabela 11-	Número de parceiros sexuais entre pacientes portadoras ou não do HIV-1.....	71
Tabela 12-	Conhecimento sobre a atividade sexual extraconjugal dos parceiros sexuais de pacientes portadoras ou não do HIV-1.....	72
Tabela 13-	Frequência de relações sexuais das pacientes portadoras ou não do HIV-1.....	73
Tabela 14-	Uso do condom nas últimas relações sexuais entre pacientes portadoras ou não do HIV-1.....	73
Tabela 15-	Comparações das frequências pelas infecções de transmissão sexual (ITS), em pacientes portadoras ou não da infecção pelo HIV-1.....	74
Tabela 16-	Frequências das infecções por diferentes tipos de HPV em pacientes com ou sem a infecção pelo HIV-1.....	76

Tabela 17-	Distribuição das frequências dos alelos do TNF-308 entre o grupo de pacientes com ou sem a HIV-1.....	78
Tabela 18-	Distribuição das frequências dos alelos do TNF-238 entre o grupo de pacientes com ou sem a infecção pelo HIV-1.....	79
Tabela 19-	Distribuição das frequências dos genótipos do TNF-308 entre o grupo de pacientes com ou sem a infecção pelo HIV-1.....	80
Tabela 20-	Distribuição das frequências dos genótipos do TNF-238 entre o grupo de pacientes com ou sem a infecção pelo HIV-1.....	81

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	22
1.1. PAPILOMAVÍRUS HUMANO	24
1.1.1. HPV DE BAIXO RISCO	24
1.1.2. HPV DE ALTO RISCO	25
1.1.3. VIAS DE TRANSMISSÃO DO HPV	25
1.2. FATORES DE RISCO	26
1.2.1. IDADE	26
1.2.2. NÍVEL SOCIOECONÔMICO	26
1.2.3. ATIVIDADE SEXUAL	26
1.2.4. TAMPÕES E ABSORVENTES HIGIÊNICOS	26
1.2.5. TABAGISMO	27
1.2.6. MENARCA PRECOCE	27
1.2.7. GRAVIDEZ	27
1.3. IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA COMO FATOR DE RISCO	28
1.3.1. MECANISMOS DE RESPOSTA IMUNE	30
1.3.1.1. SISTEMA IMUNE DE MUCOSA	30
1.3.1.2. RESPOSTAS IMUNOLÓGICAS CONTRA A INFECÇÃO PELO HPV	30
1.4. ASSOCIAÇÃO ENTRE CITOCINAS E LESÕES CERVICAIS	31
1.4.1. ASSOCIAÇÃO ENTRE CITOCINAS, HIV-1 E LESÕES CERVICAIS	31
1.5. O FATOR DE NECROSE TUMORAL (TNF)	33
1.5.1. POLIMORFISMOS DO GENE TNF	34
1.5.2. FUNÇÃO BIOLÓGICA DO TNF	35
1.5.2.1. ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE TNF COM DOENÇAS	35
1.5.2.1.1. GENÓTIPOS TNF E CÂNCER	35
1.5.2.1.2. GENÓTIPOS TNF E CÂNCER DO COLO DO ÚTERO	35

2. OBJETIVOS E HIPÓTESES	37
2.1. OBJETIVO GERAL	38
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	38
2.3. HIPÓTESIS	38
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	39
3.1. DELINEAMENTO DO ESTUDO	41
3.2. POPULAÇÃO E LUGAR	41
3.2.1. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	42
3.2.2. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	42
3.3. COLETA DE DADOS	42
3.3.1. VARIÁVEIS DO ESTUDO	43
3.3.1.1. VARIÁVEIS SÓCIO-DEMOGRÁFICAS	43
3.3.1.2. VARIÁVEIS RELACIONADAS À INFECÇÃO PELO HIV-1 E HPV	43
3.4. PROCEDIMENTO DE COLETA DE DADOS	47
3.4.1. ASPECTOS ÉTICOS	47
3.5. PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS CERVICAL E SANGUÍNEA	48
3.5.1. COLETA DAS AMOSTRAS CERVICAIS	48
3.5.2. EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE DNA DAS AMOSTRAS CERVICAIS	49
3.5.3. QUANTIFICAÇÃO DO DNA DAS AMOSTRAS CERVICAIS	49
3.5.4. DETECÇÃO DO HPV	50
3.5.5. MISTURAS DE PCR PARA O PAR DE INICIADORES LC8S e E7AS	50
3.5.6. MISTURAS DE PCR PARA O PAR DE INICIADORES MY09 e MY11	50
3.5.7. REVELAÇÃO DOS FRAGMENTOS DE DNA EM GEL DE AGAROSE	51
3.5.8. TIPIFICAÇÃO DO HPV	52
3.5.8.1 MISTURAS DE DIGESTÃO COM <i>Ava II</i>	54
3.5.8.2 MISTURAS DE DIGESTÃO COM <i>Ava I</i>	54

3.5.8.3 MISTURAS DE DIGESTÃO COM <i>Bgl II</i>	54
3.5.8.4 MISTURAS DE DIGESTÃO COM <i>Rsa I</i>	54
3.5.8.5 MISTURAS DE DIGESTÃO COM <i>Acc I</i>	54
3.5.9.REVELAÇÃO DOS FRAGMENTOS DE DIGESTÃO EM GEL DE AGAROSE	56
3.5.10.COLETA DE SANGUE, EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE DNA EM AMOSTRAS SANGUÍNEAS	56
3.5.11.REVELAÇÃO DA VIABILIDADE DO DNA SANGUÍNEO EM GEL DE AGAROSE	57
3.6. TIPIFICAÇÃO DA REGIÃO PROMOTORA DO TNF	57
3.6.1. COLORAÇÃO COM NITRATO DE PRATA	60
3.7.PROCESSAMENTO DOS DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA	61
3.7.1.ESTIMATIVA DAS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DO TNF	62
4. RESULTADOS	63
4.1.CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA	64
4.2.FATORES DE RISCO	67
4.3.INMUNODEFICIENCIA ADQUIRIDA COMO FACTOR DE RISCO	68
4.4. INFECÇÃO PELO HPV	75
4.5.TIPIFICAÇÃO DO POLIMORFISMO DA REGIÃO PROMOTORA DO TNF-308 E TNF-238	77
5. DISCUSSÃO	82
6. CONCLUSÕES	90
7. APLICABILIDADE DE ENFERMAGEM	92
8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	94
9. ANEXOS	115
10. ARTIGO	124

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O câncer cervical apresenta enormes repercussões para as mulheres de todo mundo, e em especial para as dos países em desenvolvimento. A compilação mais recente dos dados mundiais indica que anualmente 466.000 novos casos de câncer cervical nas mulheres são detectados em todo mundo. Quase 80% dos casos ocorrem em países em desenvolvimento, onde os programas de prevenção e diagnóstico são muito pouco eficazes (CASTELLSAGUÉ, et al., 2006).

Nos países em desenvolvimento, a incidência do câncer cervical ocupa o segundo lugar como causa de morte feminina. Constitui um dos principais problemas de saúde em países em desenvolvimento como os da África, América Latina e do Caribe, incluindo México, país onde esta doença representa a neoplasia ginecológica mais comum, associada ao maior número de morte entre mulheres (SIERRA et al., 2003).

Lesões intra-epiteliais cervicais, também designadas como neoplasias intra-epiteliais cervicais (NIC), são lesões cervicais, precursoras do câncer do colo uterino, um dos tipos mais freqüentes de neoplasias em todo o mundo (PARKIN et al., 1999; CLIFFORD et al., 2003). Essas lesões cervicais são consideradas como um fenômeno único, contínuo e progressivo, caracterizadas por diversos graus de anomalias de diferenciação e maturação celular na espessura do epitélio cervical, até o comprometimento total do mesmo (ANDERSON et al., 1991; DE PALO & VECCHIONE, 1996). Assim, lesões de baixo grau, que também podem ser chamadas de displasia leve ou NIC-I, apresentam células com diferenciação alterada no terço inferior do epitélio. De modo similar, as lesões de alto grau, também designadas como displasia moderada ou acentuada, NIC-II ou NIC-III, ou ainda, carcinoma *in situ* (BROSO & BUFFETTI, 1993), apresentam células com diferenciação alterada nos 2/3 inferiores do estrato epitelial (displasia moderada e NIC-II), e quando ocupa mais de 2/3 ou toda a espessura do epitélio cervical são designadas de displasia acentuada, NIC-III e ainda de carcinoma *in situ* (DE PALO & VECCHIONE, 1996, FERNANDES et. al., 2004).

Estudos epidemiológicos e moleculares confirmaram que a presença da infecção cervical por alguns tipos de Vírus de Papiloma Humano (HPV) seja o fator precursor na patogênese do câncer cervical (FRANCO, 1995; ZUR HAUSEN, 1996; 2000).

1.1. PAPILOMAVÍRUS HUMANO

Os HPV são vírus epiteliotrópicos restritos. Atualmente, já foram descritos cerca de 130 diferentes genótipos, dos quais aproximadamente 36, podem ser transmitidos durante o contato sexual entre humanos (ZUR HAUSEN, 1996; 2002). São membros da família de papovaviridae, têm um diâmetro aproximado de 52-55 nm(nanômetros) de diâmetro e apresentam forma icosaédrica originada pelas proteínas capsulares, cujo material genético está representado por uma dupla fibra de DNA circular que possui ao redor de 8.000 pares de bases. Alguns tipos de HPV infectam, preferencialmente, determinados lugares anatômicos podendo ser divididos em infectantes de pele e de mucosa. Os tipos infectantes de mucosa são encontrados principalmente na região anogenital e aerodigestiva (ARENDS et al., 1998).

De acordo com o potencial oncogênico, os HPV podem ser classificados como de baixo ou de alto risco para o desenvolvimento do câncer. Raramente encontrados em lesões de câncer cervical invasivo, os tipos 6 e 11 freqüentemente são encontrados em lesões de baixo grau, e assim, classificados como HPV de baixo risco (TJONG et al., 2001). Por outro lado, os HPV de alto risco 16, 18, 31, 33, 45 e 56 são freqüentemente detectados em lesões de alto grau, em cerca 50 a 80% dos casos, e em câncer invasivo em cerca de 90% dos casos (DYSON et al., 1989; ARENDS et al., 1998, 1993; SCHIFTIMAN et al., 1993; VILLA, 1997; AL SALEH et al., 1998; SCHIFFMAN & CASTLE, 2003).

1.1.1. HPV DE BAIXO RISCO

Lesões intra-epiteliais cervicais que afetam só o terço inferior da espessura total do epitélio estão associadas à infecção por HPV de baixo risco, como os tipos 6 e 11, que quase sempre se relacionam com lesões benignas, como condilomas acuminados ou lesões intra-epiteliais de baixo grau, e muito poucas vezes se vinculam com cânceres de células escamosas dos órgãos genitais (PALEFSKY, 1995; PONTEN, 1998).

1.1.2. HPV DE ALTO RISCO

Os HPVs dos tipos 16, 18, 31, 45 e 58 se encontram associados às lesões cervicais de grau alto e no câncer invasivo da cérvix. Seqüências de DNA do HPV 16 também têm sido encontradas em todos os graus de neoplasias intra-epiteliais cervicais. Já o HPV do tipo 18 não tem sido encontrado em lesões de baixo grau, em contrapartida, apresenta-se fortemente associado a lesões de alto grau e ao câncer invasivo cervical, sugerindo maior agressividade (REEVES, 1989; RICHARDSON, 2003; FERNANDES, et al., 2005).

1.1.3. VIAS DE TRANSMISSÃO DO HPV

Algumas formas de transmissão do HPV tem sido descritas:

- Sexual (95% dos casos): Diversos estudos independentes mostraram que entre 60 a 66% das parceiras sexuais de portadores de verrugas genitais desenvolveram as mesmas depois de um período de incubação de três meses.
- Não sexual (5% dos casos): É provável que o HPV possa ser transmitido por fomites como toalhas, roupas íntimas e também através do instrumental ginecológico contaminado. Ainda que se desconheça quanto tempo o vírus vive fora do organismo, considera-se que a transmissão por fomites seja possível. O HPV pode também ser transmitido por via vertical (materno-fetal) através de secreções vaginais infectadas que contaminam a orofaringe e laringe do neonato (DE PALO et al., 1996).

Estima-se que, cerca de 10% a 20% de mulheres infectadas pelo HPV progridem para o câncer cervical, apresentando longo período de latência entre a infecção e o surgimento das lesões neoplásicas. Conseqüentemente, outros fatores de risco estão envolvidos na patogênese do câncer do colo uterino, entre eles o tipo do HPV, o tabagismo, outras infecções de transmissão sexual (IST), entre elas o HIV-1, e ainda, a participação de fatores imunológicos e genéticos (ARENDS et al., 1998; BRASIL, 2002; FERNANDES et al., 2004, 2005).

1.2. FATORES DE RISCO

1.2.1. IDADE

Início da atividade sexual antes dos 20 anos tem sido considerado como fator de risco elevado para o surgimento das lesões cervicais. Na puberdade e adolescência o epitélio cervical é mais proliferativo, a cérvix ainda não atingiu a maturidade estando mais susceptível à infecções e as alterações induzidas por agentes transmitidos sexualmente, entre eles o HPV (CASTAÑEDA et al, 1998). Assim, a frequência deste carcinoma é maior nas pacientes em que a vida sexual se iniciou antes dos 17 anos, e o risco relativo é 5 vezes superior em relação as mulheres com início das atividades sexuais com mais de 23 anos (DE PALO E VECCHIONE, 1996; FRANCO, 2003).

1.2.2. NÍVEL SOCIOECONÔMICO

Câncer cérvico-uterino tem maior prevalência em mulheres que vivem em más condições sanitárias, que carecem de hábitos higiênicos adequados e que apresentam costumes e possíveis comportamentos de risco à saúde, ademais, sua escassa integração social não lhes permite aproveitar os recursos de saúde disponíveis (LAZCANO et. al.,1999).

1.2.3. ATIVIDADE SEXUAL

Atividade sexual é um fator de risco importante para o desenvolvimento de câncer cervical (GONZÁLEZ et al, 2002). A frequência de lesões pré-neoplásicas e neoplásicas é maior nas mulheres com múltiplos parceiros sexuais (quatro vezes mais frequente em prostitutas), sendo que em mulheres com três ou mais parceiros sexuais por toda a vida, o risco relativo é 3 a 5 vezes superior ao das que referem só uma parceria.

1.2.4. TAMPÕES E ABSORVENTES HIGIÊNICOS

Tem sido sugerido que a utilização de materiais íntimos durante a menstruação pode corroborar para a infecção viral: 1) a inserção de tampões pode transportar o vírus da genitália externa para a vagina e colo uterino; 2) absorventes higiênicos podem reter e manter o vírus viável (KJELLBERG, 2000).

1.2.5. TABAGISMO

O tabagismo contribui para que a infecção pelo HPV persista. Identificou-se que componentes do fumo, como a nicotina, presentes no muco cervical de mulheres fumantes reduzem o número de células Langerhans no tecido cervical e provavelmente diminuem a imunidade local, com aumento do risco da instalação e persistência da infecção pelo HPV. O fumo é considerado um co-fator importante na patogênese do câncer cérvico-uterino (BOSCH, 1992).

1.2.6 MENARCA PRECOCE

Maior prevalência da infecção por HPV em mulheres com menarca antes dos 12 anos tem sido descrita (CASTAÑEDA et al. 1998).

1.2.7. GRAVIDEZ

A gravidez é um período transitório de imunossupressão, o que significa que há maior predisposição para a aquisição e persistência do HPV, decorrente da diminuição dos linfócitos T, bem como pelo efeito de hormônios esteróides próprios da gestação (CHIN-HONG, 2004).

Adicionalmente, a multiparidade é historicamente conhecida como um fator de risco importante para o câncer da cérvix, dois grandes estudos multicêntricos, tipo caso-controle, que foram desenvolvidos nas regiões metropolitanas dos EUA, demonstrou a associação entre multiparidade e risco aumentado para o surgimento do câncer cervical (BRINTON et al., 1987). Em países latino-americanos uma tendência linear para a forte relação entre multiparidade com o desenvolvimento do câncer cervical foi mais acentuada (BRINTON et al., 1989).

1.3. IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA COMO FATOR DE RISCO

A história prévia de IST, incluindo a infecção pelo HIV-1 também foi consistentemente citada na literatura como fator de risco para o desenvolvimento do câncer cervical (BRINTON et al., 1993; SCHIFFMAN & CASTLE, 2003).

No México, o Registro Nacional de aids, reporta até Novembro de 2007, registraram-se de maneira acumulada 107,625 casos de aids. Calcula-se que existam mais de 182.000 pessoas infectadas pelo HIV-1 em pessoas com 15 a 44 anos de idade. Destes, cerca de 99,9% dos casos foram decorrentes da transmissão via sexual. San Luis Potosí ocupa o 30º lugar em números de casos de aids no México, com incidência acumulada de 50 casos por 100.000 habitantes (BIBERFELD, 1997; COOMBS, 2003; MÉXICO, 2007).

Dois tipos de HIV foram identificados como agentes etiológicos da aids, HIV-1 e HIV-2. Os dois tipos virais são genética e antigenicamente diferentes (GELDERBLOM, 1999). O HIV-1 é considerado como o responsável pela epidemia mundial e o HIV-1-2 é endêmico na África Ocidental (Camarão, Costa do Marfim e Senegal), é raro encontrá-lo fora desta região, no entanto foi identificado em outras partes do mundo incluindo América do norte, mais especificamente nos USA e Canadá (HU et al., 1996).

A prevalência dos tipos oncogênicos do HPV entre mulheres portadoras da infecção pelo HIV-1 varia de acordo com a população estudada, grau de imunocomprometimento e técnicas de detecção viral, sendo constatadas prevalências que variam de 33% a 93% (MINKOFF et al., 2001). Múltiplos tipos de HPV foram detectados mais freqüentemente nas pacientes portadoras da infecção pelo HIV-1 (FERNANDES et al., 2004). A prevalência de HPV de tipos oncogênicos em pacientes portadoras da infecção pelo HIV-1 variou de 14,4% (HO et al., 1994), 67% (PETRY et al., 1994) até 93% (TWEDDEL et al., 1994), de acordo com a contagem de linfócitos T-CD4⁺ circulantes.

De forma geral tem sido aceito que a imunodeficiência celular desempenha um papel importante na permissividade e persistência da infecção ativa por HPV oncogênicos e a instalação das NIC (GONÇALVES et al., 2004).

Em mulheres imunocomprometidas, com sorologia positiva para o HIV-1, a concomitância de infecção pelo HPV e neoplasia anogenital é maior do que na população geral (GARZETTI et al., 1995). Estudos mostraram que 24% das pacientes soropositivas para o HIV-1 apresentaram infecção persistente pelo HPV em comparação a 4% das mulheres soronegativas para o HIV-1 (WILLIAMS et al., 1994; SUN et al., 1997). Já Tjong et al., (2001) relataram que aproximadamente um 50% das mulheres com a aids possuem citologia cervical anormal com suspeita de NIC, demonstrando que a imunodeficiência, em especial a redução do número de linfócitos T- CD4⁺ está associada com maior prevalência e persistência da infecção pelo HPV e instalação das NIC.

A alta frequência de lesões cervicais em mulheres com aids sugere que os linfócitos T-CD4⁺ estejam envolvidos no controle da progressão das lesões associadas à infecção pelo HPV (TWEDDEL et al., 1994). Ademais, em mulheres portadoras da infecção pelo HIV-1, a concomitância para a infecção pelo HPV e instalação das neoplasias intra-epiteliais cervicais (NIC) é maior do que na população geral, apresentando risco relativo de 6,6 vezes (MINKOFF et al., 2001). Por meio de análises imunohistoquímicas, Kobayashi et al. (2002) caracterizaram o tipo e a organização de células inflamatórias no cérvix de mulheres saudáveis e em lesões de alto grau de mulheres portadoras ou não do HIV-1. Esses autores mostraram que mulheres portadoras da infecção pelo HIV-1 com lesões de alto grau possuem organização celular, predominantemente, composta por linfócitos T-CD8⁺ apresentando função citotóxica ineficaz, sugerindo associação com a recorrência de lesões nestas mulheres.

Em 1992, Johnson et al., documentaram a estreita associação entre baixas contagens de células T-CD4⁺ (<200/mm³), presença de HPV (particularmente o tipo 18) e ocorrência de lesões cervicais. Entre essas pacientes, 50% eram portadoras de HPV do tipo 18. Corroborando esses achados, Minkoff et al. (2001) mostraram que mulheres portadoras da infecção pelo HIV-1, após o uso da terapia anti-retroviral e o restabelecimento do número de células T-CD4⁺, apresentaram redução da taxa de progressão e aumento da taxa de regressão das lesões cervicais, alterando o curso da infecção pelo HPV.

1.3.1. MECANISMOS DE RESPOSTA IMUNE

1.3.1.1 SISTEMA IMUNE DE MUCOSA

O sistema imune presente no trato genital inferior feminino (TGIF) parece ser a primeira linha de defesa contra as IST. No entanto, existem poucos estudos acerca dos mecanismos imunes ativos neste sítio (AHMED et al., 2001; STANLEY, 2001; TJIONG et al., 2001). Vários tipos celulares foram identificados no TGIF, entre eles os linfócitos T e B, as células Natural Killer, os macrófagos, as células dendríticas e os granulócitos encontrados nas tubas uterinas, útero, cérvix, vagina e vulva (KUTTEH & MESTECKY, 1994).

Apesar do pouco que se conhece sobre a fase aferente da imunidade de mucosa em relação ao HPV, uma alteração desta fase é evidenciada. Em análises dos infiltrados inflamatórios das displasias cervicais, tem sido descrito o número reduzido de células de Langherans em lesões de alto grau (VIAC et al., 1990). Desta maneira, a redução na quantidade de tais células pode, teoricamente, resultar em uma resposta imune aferente ineficiente (HART, 1997).

Poucos estudos têm relatado a resposta imune local por anticorpos contra o HPV. Os anticorpos locais que foram identificados apontam para a presença de IgA e IgG específicos contra várias estruturas do HPV, como o capsídeo e as proteínas E-2, E-7 e L-1, L-2 (DREYFUS et al., 1995; STANLEY, 2001).

1.3.1.2. RESPOSTAS IMUNOLÓGICAS CONTRA A INFECÇÃO PELO HPV

De forma geral, na resposta imune contra a infecção pelo HPV, ocorre o desenvolvimento de resposta imune humoral, caracterizada pela produção de anticorpos neutralizantes, predominantemente do isotipo IgG1 e IgA, direcionados ao capsídeo do HPV, que podem ser encontrados tanto circulantes quanto localmente, em esfregaços da região cervical (WANG et al., 1996, 2000). A soroconversão pode ocorrer logo após a infecção mas, geralmente, ocorre meses após a infecção pelo HPV (CARTER et al., 1996). Em estudo prospectivo, tem sido descrito que os níveis de anticorpos contra o HPV permanecem estáveis por mais de uma década (SHAH et al., 1997).

Quanto à resposta imune celular, diferentes tipos de infiltrados celulares são descritos nos vários tecidos cervicais. No estroma ocorre uma resposta de hipersensibilidade do tipo IV (tardio), com predominância de infiltração por linfócitos T-CD4⁺, enquanto que no epitélio são encontradas quantidades semelhantes de linfócitos T-CD4⁺ e T-CD8⁺ infiltrantes (VIAC et al., 1992; COLEMAN & STANLEY, 1994).

Em lesões provocadas pela infecção pelo HPV, queratinócitos presentes no estroma infectado e no infiltrado celular expressam nas suas superfícies moléculas ICAM-1 e HLA-DR (VIAC et al., 1992). Tais alterações são mediadas por citocinas pró-inflamatórias como IFN-gama, e em parte pelo TNF-alfa (MAJEWSKI et al., 1991).

1.4. ASSOCIAÇÃO ENTRE CITOCINAS E LESÕES CERVICAIS

As citocinas são proteínas ou glicoproteínas que atuam sobre as células alvo, principalmente as do sistema hematopoiético, controlando ou modulando a função dessas células para a resposta imune. Elas atuam diretamente sobre a célula alvo através de ligações a receptores celulares específicos, resultando na ativação de genes que levam à divisão mitótica, crescimento ou diferenciação, migração ou apoptose (BIDWELL et al., 1999).

O impacto da disfunção imune varia de acordo com o padrão de citocinas. O predomínio de citocinas do padrão Th1, como o Fator de Necrose Tumoral (TNF) está associado com a eliminação/resolução da infecção pelo HPV e regressão nas lesões cervicais (KADISH et al., 1997), enquanto que nas respostas apresentando padrão de citocinas do tipo Th2, com predomínio da IL-10, em geral, resulta no efeito supressor da imunidade mediada por células (GRAVITT et al., 2003).

1.4.1. ASSOCIAÇÃO ENTRE CITOCINAS, HIV-1 E LESÕES CERVICAIS

A principal disfunção do sistema imune associada à infecção pelo HIV-1 é a redução do número de linfócitos T-CD4⁺ e uma reversão na razão de CD4:CD8. Essas alterações precedem as manifestações clínicas da infecção (CRUESS et al., 2003), sendo relatada correlação inversa entre contagem de linfócitos T-CD4⁺ e gravidade das lesões cervicais (VERMUND et al., 1991; SPINILLO et al., 1992; HEARD et al., 2002).

Várias infecções virais no TGIF estão associadas com a infecção pelo HIV-1, tais como o vírus herpes simplex (HSV) e o HPV, sugerindo uma alteração na imunidade local (FEINGOLD et al., 1990; HOOK et al., 1992; SULIGOI et al., 2003; HOPFL et al., 2003). O papel da imunidade local para controlar a infecção pelo HPV e o subsequente desenvolvimento das lesões cervicais é mostrado, indiretamente, pela frequência aumentada de lesões associadas às infecções pelo HPV em pacientes que apresentam imunidade celular diminuída (PETRY et al., 1994; ELLERBROCK et al., 2000).

Fernandes et al. (2005), mostraram que a infecção pelos HPV 16 e HPV 18 predispõe ao predomínio de citocinas do padrão Th2, mostrado pelo aumento nos níveis intralesionais de IL-10 e redução de IFN-gama e TNF-alfa, respectivamente; e de acordo com o status da infecção pelo HIV-1, mulheres infectadas pelo HPV 16 e HIV-1 apresentaram mudança para o padrão Th2 de citocinas, verificada pelo predomínio de IL-10. Por outro lado, mulheres com HPV 16, mas não infectadas pelo HIV-1, apresentaram níveis aumentados de IFN-gama; em quanto que a infecção pelo HPV 18 parece ser mais agressiva do que pelo HPV 16, pois, independente da co-infecção pelo HIV-1, as pacientes infectadas pelo HPV 18 mostraram redução dos níveis intralesionais de citocinas do padrão Th1 (IFN-gama e TNF-alfa), adequadas para respostas antivirais e anti-tumorais. Observa-se uma inadequada resposta imune local com a mudança para o padrão Th2 de citocinas verificado em mulheres com a infecção pelo HIV-1, talvez isso possa explicar um possível mecanismo de predisposição, destas mulheres, para a progressão de lesões cervicais de alto grau; neste grupo mostro que, as avaliações realizadas acerca do polimorfismo de citocinas, em diferentes grupos de mulheres, não mostraram diferenças significativas.

1.5. O FATOR DE NECROSE TUMORAL (TNF)

O Fator de Necrose Tumoral (TNF) e a Linfotóxina- β (LT- β ou TNF- β) são citocinas envolvidas na resposta inflamatória. Os genes que codificam estas proteínas estão localizados dentro do Complexo Principal de Histocompatibilidade (CPH) em todas as espécies de vertebrados (HAJEER & HUTCHINSON, 2000; SPIES et al., 2003). O CPH compreende um segmento cromossômico de 4000 kilobases (kb) e é considerado a região mais polimórfica de todo o genoma; dentro dele são encontradas as regiões de classe I, II e III do complexo de Antígenos Leucocitários Humanos (HLA).

A região de classe I está localizada na porção mais telomérica do complexo HLA e contém os loci clássicos (HLA-A, -B, e -C), frequentemente avaliados em transplantes. No lado mais centromérico está a região de classe II onde estão os genes que codificam os antígenos HLA-DP, -DO, -DV, -DQ e -DR. Entre estas duas regiões está a região de classe III, caracterizada pela presença de genes que codificam fatores do sistema complemento (CARROLL et al., 1990; VERJANS et al., 1992), proteínas de Choque Térmico (HSP 70) e os genes codificadores do TNF e LT- β (Figura 1).

O gene TNF está localizado em 6p21.3, imediatamente ao lado do gene codificador da LT- β . Vários polimorfismos foram identificados dentro ou ao redor do loco TNF. Estudos indicam que estes polimorfismos têm relação com o nível de produção da citocina TNF, que apresenta mediação importante na resposta inflamatória (HAJEER & HUTCHINSON, 2000).

Figura 1- Mapa gênico da região de classe III do Complexo Principal de Histocompatibilidade humano, apresentando 760.000 pares de base. Os retângulos indicam os 59 genes expressos e conhecidos desta região, incluindo o TNF-alfa (MATSUZAKA et al., 2001).

1.5.1. POLIMORFISMOS DO GENE TNF

O loco TNF tem cerca de 12 kb de comprimento e contém várias áreas polimórficas. Diversas substituições únicas de nucleotídeos (*single nucleotide polymorphisms* -SNP) têm sido identificadas na região do TNF. Até o momento, foram descritos 9 SNPs no gene do TNF, sendo um na posição +489, outro na +70 e sete na região reguladora da transcrição do TNF, sendo -1031 T/C, -863 C/A, -857 C/T, -376 G/A, -308 G/A, -244 G/A e -238 G/A. Evidenciando maior importância as SNPs localizadas na região promotora do gene, nas posições -238 e -308, relacionadas em diversos estudos à susceptibilidade de doenças. Nessas posições é comum a presença de uma guanina (G). Em alguns alelos esta posição é substituída pela adenina (A). A presença de uma adenina (A) na posição -308 tem sido mostrada associada a um aumento no nível de transcrição de TNF (KROEGER et al., 1997).

1.5.2. FUNÇÃO BIOLÓGICA DO TNF

O TNF, e as linfotoxinas (LT- α ou LT- β) são citocinas que estão envolvidas nas reações imunitárias celulares e inflamatórias. Estas citocinas são produzidas principalmente por macrófagos e linfócitos ativados (MATTHIAS et al., 1998). A função biológica do TNF é complexa e está relacionada com a concentração e duração da exposição ao TNF (HAJEER & HUTCHINSON, 2000). Na situação aguda, a produção local de TNF é claramente benéfica. Ela aumenta a expressão de moléculas de adesão no endotélio vascular permitindo que células imunes, em particular neutrófilos e macrófagos, cheguem aos locais de inflamação e dano tecidual (BARBARA et al., 1996; GAMBLE et al., 1985); também ativa fagócitos para englobar e eliminar agentes infecciosos e debris celulares.

1.5.2.1. ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE TNF COM DOENÇAS

1.5.2.1.1. GENÓTIPOS TNF E CÂNCER

Há evidências de que o TNF tenha um potencial pró-tumorigênico no câncer de cabeça e pescoço por uma variedade de mecanismos, incluindo angiogênese tumoral, tecido conectivo e destruição óssea (HONCHEL et al., 1996; KNERER et al., 1996). Em estudos com pacientes com linfoma de Hodgkin, os níveis TNF foram maiores em pacientes com uma adenina na posição -308 (JUSZCZNSKI et al., 2002). Estudos também têm sido realizados com o intuito de verificar associações das posições -238 e -308 da região promotora do TNF no desenvolvimento de câncer gástrico. Jang et al. (2001) observaram que a frequência do alelo do TNF-238A era muito baixa no grupo com câncer gástrico.

1.5.2.1.2. GENÓTIPOS TNF E CÂNCER DO COLO DO ÚTERO

Em 2005, Bermudez et al., documentaram que em diversos tipos de cânceres se gera um microambiente tumoral, por causa da expressão ou repressão de diferentes genes (como Fas, ligante de Fas, citocinas e quimiocinas) importantes na resposta imune. Também se produzem citocinas imunossupressoras no ambiente tumor, as quais favorecem a progressão do processo neoplásico. Em virtude das citocinas terem funções pleiotrópicas, é difícil determinar a participação de uma citocina em particular na progressão do câncer cervical. Isto se deve à relação entre

diversas citocinas, fatores de crescimento e hormônios, que atuam simultaneamente do tumor.

Há dois mecanismos que podem explicar a participação das citocinas no desenvolvimento do câncer cervical: 1) É possível que as citocinas favoreçam o desenvolvimento tumoral ao interagir com fatores de proliferação celular, induzir a atividade angiogênica do tumor, e promover a metástase pelo incremento da adesão celular; 2) As citocinas, como mediadoras da resposta imune, podem inibir a expressão de moléculas e receptores, tanto das células da resposta imune como da célula tumoral. Tais moléculas e receptores estão envolvidos na identificação e destruição da célula tumoral.

Face ao conhecimento acumulado na literatura sobre a associação entre infecção por tipos oncogênicos do HPV, infecção pelo HIV e presença de lesões cervicais, e à escassez de estudos que abordassem a problemática dos fatores de risco para o desenvolvimento de lesões cervicais em mulheres mexicanas, portadoras ou não de infecção pelo HIV-1, este estudo teve como objetivo avaliar a influência de fatores comportamentais, imunológicos e virais para o desenvolvimento de lesões cervicais neste grupo de mulheres. Assim, conhecer os fatores de risco é extremamente relevante para o profissional de enfermagem no planejamento da assistência a este grupo de mulheres.

OBJETIVOS E HIPÓTESES

2. OBJETIVOS E HIPÓTESES

2.1. OBJETIVO GERAL

Descrever os fatores comportamentais, imunológicos e virais associados ao desenvolvimento das lesões cervicais em mulheres mexicanas portadoras ou não da infecção pelo HIV-1.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Caracterizar a população estudada de acordo com as características sócio-demográficas e hábitos sexuais;
2. Detectar a presença da infecção e os tipos de HPV em mulheres mexicanas, portadoras ou não do HIV-1, apresentando lesões cervicais;
3. Tipificar o polimorfismo da região promotora do Fator de Necrose Tumoral (SNPs -238 e -308) nesse grupo de mulheres mexicanas;
4. Detectar associações entre os tipos de HPV e os polimorfismos acima mencionados com o desenvolvimento das lesões cervicais nesse grupo de mulheres mexicanas.

2.3. HIPÓTESES

Estão os fatores comportamentais, imunológicos e virais associados ao desenvolvimento de lesões cervicais em mulheres portadoras ou não da infecção pelo HIV-1?

CASUÍSTICA E MÉTODOS

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

O método quantitativo procura formular hipóteses prévias e métodos específicos de verificação. Preocupa-se com a validade e confiabilidade, a fim de produzir generalizações explícitas ou formular leis (POLIT; HUNGLER, 2000).

Richardson (2003) menciona que o método quantitativo significa a seleção de procedimentos sistemáticos para a descrição e explicação de fenômenos; como seu nome indica, o método quantitativo se caracteriza pelo emprego de quantificação, tanto nas modalidades de coleta de informação, como no tratamento delas por meio de técnicas estatísticas.

A técnica da PCR (Reação em Cadeia da Polimerase - do inglês, *Polymerase Chain Reaction*) foi utilizada para tipificação do HPV e do polimorfismo da região promotora do TNF. Esta técnica permite a produção de milhares de cópias de um segmento específico de DNA *in vitro*. Esse segmento é delimitado pelos iniciadores (pequenas seqüências simples de oligonucleotídeos - de 15 a 30 bases) utilizados na reação, onde cada iniciador possui uma seqüência compatível e se liga ao DNA de amostra nas extremidades da seqüência de interesse. O DNA da amostra é desnaturado pelo calor, onde as pontes de hidrogênio que unem ambas as fitas (dupla fita de DNA) se rompem. Em seguida, os iniciadores se ligam ao DNA da amostra em seus trechos compatíveis, e uma DNA polimerase termo-estável acopla-se a esta seqüência temporária de fita dupla (formada pelo iniciador mais DNA da amostra desnaturado) e produz o complemento da fita de DNA com base na seqüência de nucleotídeos da amostra. Após vários ciclos de amplificação, milhares de cópias, que se iniciam e terminam com os iniciadores utilizados, são produzidas. Esta técnica, chamada reação em cadeia da polimerase (PCR), requer conhecer a seqüência de nucleotídeos dos extremos do fragmento que se quer amplificar. Estas seqüências são usadas para desenhar dois oligonucleotídeos sintéticos de DNA complementares a porção de cada uma das duas cadeias da dupla hélice.

Assim, os métodos quantitativos podem ser utilizados com os dados obtidos no uso da biologia molecular para construir resultados. Bilbao, March e Prieto (2002) falam da utilização de múltiplas técnicas, observações e métodos para ampliar as referências e visões sobre certa realidade social que se procura pesquisar. Apropriando-se dessa proposta, os métodos quantitativos, procuram compreender o panorama e a intensidade dos fenômenos sociais, como os fatores do risco pra

câncer cérvico-uterino em mulheres mexicanas portadoras ou não da infecção pelo HIV-1.

3.1. DELINEAMENTO DO ESTUDO

O estudo apresenta uma parte descritiva, das características sócio-demográficas das mulheres mexicanas e dos fatores de risco para o desenvolvimento da lesão cervical, empregando a técnica de auto-relato (POLIT; HUNGLER, 1999).

Considerando que a população selecionada para o estudo foi constituída predominantemente por mulheres de baixo nível de escolaridade, optou-se por utilizar entrevistas, norteadas por roteiro de entrevista estruturado. As questões foram elaboradas com base na literatura nacional e internacional, revisadas pelos pesquisadores e ordenadas em uma seqüência lógica para encorajar a colaboração, sinceridade e o comportamento natural.

Trata-se de estudo transversal, comparativo, descritivo, visando: 1) a identificação de fatores de risco comportamentais, imunológicos e virais para o desenvolvimento das lesões cervicais; 2) a identificação e tipificação do HPV em amostras obtidas do colo uterino, 3) detecção do polimorfismo da região promotora do TNF, a partir do sangue periférico de mulheres mexicanas, infectadas ou não pelo HIV-1.

3.2. POPULAÇÃO E LUGAR

Os participantes do estudo foram mulheres mexicanas atendidas pela Secretária de Saúde do Estado de Guanajuato seguidas junto aos programas do Conselho de AIDS em Guanajuato (COGUSIDA) e ao Conselho Estatal de AIDS em San Luis Potosí (COESIDA), México.

As amostras de raspado cervical, provenientes de mulheres dos Estados de San Luis Potosí e Guanajuato, apresentando lesões da cérvix, diagnosticadas mediante exploração ginecológica, foram obtidas durante seu atendimento no COESIDA e COGUSIDA. Especificamente, as mulheres do Estado de Guanajuato foram atendidas nos hospitais gerais da Secretaria de Saúde das jurisdições sanitárias com sede em Irapuato e Celaya. A seleção dos sujeitos foi por conveniência, conforme demanda para a consulta e controle de tratamento em cada uma das clínicas mencionadas.

De acordo com os critérios de inclusão e exclusão, e conforme preceitos éticos, foram selecionadas 66 mulheres, sendo 40 portadoras do HIV-1 oriundas das cidades de Irapuato (21 mulheres) e Celaya (19 mulheres) e seguidas pelo COGUSIDA; e 26 mulheres não portadoras do HIV-1 que foram selecionadas no COESIDA. Os dados foram colhidos no período de julho de 2006 a dezembro de 2007.

3.2.1. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Pacientes que apresentem lesões cervicais de baixo ou alto grau;
- Pacientes que apresentem ou não lesões verrugosas na área genital externa;
- Pacientes com sorologia anti-HIV-1 positiva ou negativa;
- Pacientes recebendo ou não terapia anti-retroviral;
- Pacientes do sexo feminino, independentemente da faixa etária;
- Pacientes que concordarem participar no estudo.

3.2.2. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Pacientes gestantes;
- Pacientes que apresentem alterações psiquiátricas que impeça a realização da entrevista;
- Pacientes que não concordarem participar no estudo.

3.3. COLETA DE DADOS

O instrumento de coleta de dados foi um questionário que continha 42 itens (Anexo VI) para coleta de dados pessoais e levantamento de informações em relação aos fatores de risco para aquisição, instalação e progressão das lesões cervicais. Consta de um primeiro levantamento para identificação no qual se exploram dados pessoais, seguido dos antecedentes ginecológicos, sua história social, antecedentes sexuais, doenças de transmissão sexual e os antecedentes sexuais das pacientes portadoras de HIV-1.

Foi realizado pré-teste, com a participação de 10% da amostra, para adequar o roteiro da entrevista quanto a seqüência das questões, clareza e forma pela qual foram elaboradas. A prova de validação do instrumento foi realizada em mulheres atendidas na clínica de displasias da Jurisdição No.1 “Dr. Juan H. Sánchez” da Secretária de Saúde em San Luis Potosí, México, que compartilharam

características em relação a idade e fatores de risco com aquelas mulheres incluídas ao estudo final, entretanto estes dados não foram incluídos no estudo.

Adicionalmente, a validação do instrumento foi realizada por 5 pessoas experientes no manejo de HPV e HIV-1, as adaptações no instrumento foram realizadas em relação aos antecedentes da aquisição de doenças de transmissão sexual. Da mesma maneira se realizou a validação da pertinência em cada um dos itens e posteriormente se reestruturou a pergunta quando necessário.

3.3.1. VARIÁVEIS DO ESTUDO

3.3.1.1. VARIÁVEIS SÓCIO-DEMOGRÁFICAS

- Sexo:** Foi considerado o sexo feminino.
- Idade:** Foram considerados anos completos.
- Raça:** Foram consideradas as raça branca, negra e oriental.
- Estado civil:** Foram considerados solteiro, casado, viúvo e divorciado.
- Preferência sexual:** Foram considerados homossexual, heterossexual e bissexual.
- Escolaridade:** Foram considerados analfabeto, ensino fundamental, médio e superior completos.

3.3.1.2. VARIÁVEIS RELACIONADAS À INFECÇÃO PELO HIV-1 E HPV

- Tempo de diagnóstico:** Foi considerado o tempo em anos, registrado no prontuário da paciente.
- Medicamentos utilizados:** Foram consideradas todas as drogas anti-retrovirais referidas pela paciente, e confirmadas através da consulta ao seu prontuário. O tratamento do HIV/aids é feito com medicamentos anti-retrovirais, drogas que inibem a reprodução do HIV (Figura 2). A associação desses medicamentos com fins terapêuticos recebe o nome de terapia anti-retroviral, e conta com 17 medicamentos que estão divididos em quatro classes: 1) Os inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRAN) que, inibem a enzima transcriptase reversa viral por competição com o seu substrato natural (desoxinucleosídeos trifosfatados), sendo incorporados à cadeia de DNA viral em transcrição, causando a terminação precoce da cadeia (YARCHOAN et al., 1989); 2) Os inibidores da transcriptase reversa não-análogos de nucleosídeos (ITRNN) compõem um grupo de anti-retrovirais com estruturas químicas bastante divergentes (De CLERCQ, 1995). Atuam através da inibição não-competitiva da enzima transcriptase reversa. Essas

drogas se ligam em um sítio próximo ao de ligação dos nucleosídeos, causando uma inibição alostérica da função enzimática. Esta ligação é capaz de bloquear a atividade da enzima transcriptase reversa viral (HANNA & D'AQUILA, 2001). 3) Os inibidores da protease viral (IP), inibem a enzima protease viral, atuam bloqueando a clivagem das poliproteínas virais, levando à produção de partículas virais imaturas e defeituosas. e 4) os inibidores de fusão que impedem a entrada do vírus na célula (FIGUEIREDO, 2001).

Figura 2- Ciclo de replicação do HIV e mecanismo de ação dos anti-retrovirais (adaptado de SOUZA, 2005). 1) ligação de glicoproteínas virais (gp120) ao receptor específico da superfície celular (principalmente linfócitos T-CD4); 2) fusão do envelope do vírus com a membrana da célula hospedeira; 3) liberação do material genético do vírus para o citoplasma da célula hospedeira; 4) transcrição do RNA viral em DNA complementar, dependente da enzima transcriptase reversa; 5) transporte do DNA complementar para o núcleo da célula, onde pode haver integração no genoma celular (provírus), dependente da enzima integrase, ou a permanência em forma circular, isoladamente; 6) o provírus é reativado, e produz RNA mensageiro viral, indo para o citoplasma da célula; 7) proteínas virais são produzidas e quebradas em subunidades, por intermédio da enzima protease viral; 8) as proteínas virais produzidas regulam a síntese de novos genomas virais, e formam a estrutura externa de outros vírus que serão liberados pela célula hospedeira; e 9) o vírion recém-formado é liberado para o meio circundante da célula hospedeira, podendo permanecer no fluído extracelular, ou infectar novas células.

O HIV, através de suas glicoproteínas de superfície adere à célula hospedeira e introduz seu material genético no citoplasma da célula. A enzima viral transcriptase reversa transforma a dupla fita de RNA viral em DNA pró-viral, que migra até o núcleo da célula unindo-se ao seu material genético. Ocorre processo de transcrição pelo qual se formam novas moléculas de RNA viral, as quais migram ao citoplasma pela ação da enzima protease viral, unem-se aos demais componentes virais, havendo a formação de um novo HIV. Dessa forma, as drogas da classe dos inibidores da transcriptase reversa inibem a primeira fase da replicação viral através da inibição da enzima transcriptase reversa e as drogas da classe dos inibidores da protease viral impedem a ocorrência da última fase da replicação viral por inibirem a enzima viral protease viral. Já os inibidores de fusão impedem a entrada do vírus na célula.

-Células TCD4⁺ e TCD8⁺: A contagem de células TCD4⁺ em sangue periférico tem implicações prognósticas na evolução da infecção pelo HIV-1, pois é a medida de imunocompetência celular; é mais útil no acompanhamento de pacientes infectados pelo HIV-1. Foram considerados o número de células TCD4⁺ e TCD8⁺ por microlitro de sangue. O valor utilizado foi aquele registrado no prontuário, referente ao mês em que se deu a realização da entrevista.

-Condição clínica do paciente: Os pacientes foram classificados em portadores do HIV-1 ou apresentando a aids, conforme registro médico no prontuário, em período correspondente ao da realização da entrevista. Ressalta-se que para esta classificação, utiliza-se a recomendação do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), que é adotada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), e está representada no quadro 1.

Número de TCD4 ⁺	CATEGORIA		
	A	B	C
1 ≥500mm ³	A1	B1	C1
2 200-499mm ³	A2	B2	C2
3 <200mm ³	A3	B3	C3

Quadro 1- Categorias clínicas do sistema de classificação do CDC em pessoas infectadas pelo HIV.

Fonte: *Centers for Disease Control and Prevention* 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults.

No quadro, as categorias A, B e C são referentes às condições clínicas e surgimento de patologia. Assim, a categoria A é composta pelos pacientes com sorologia positiva para o HIV-1, porém, assintomáticos. A categoria B é composta por pacientes com sorologia positiva para o HIV-1, sintomáticos, com as seguintes condições clínicas: sintomas constitucionais (febre maior que 38,5°C ou diarreia com duração superior a um mês); angiomatose bacilar; candidíase vulvovaginal persistente de mais de um mês, que não responde ao tratamento específico e candidíase orofaríngea. A categoria C compreende os pacientes sintomáticos que apresentem infecções oportunistas, como candidíase esofágica, traqueal ou brônquica, criptococose extrapulmonar, histoplasmoze disseminada, tuberculose pulmonar ou extrapulmonar, pneumonia por *Pneumocystis carinii*, encefalopatia pelo HIV-1, síndrome consuptiva pelo HIV-1, entre outras, e neoplasias, como câncer cervical uterino, linfoma de Burkitt e sarcoma de Kaposi.

A classificação em grupos refere-se ao número de linfócitos TCD4⁺ circulantes. Ao grupo I pertencem os pacientes com número absoluto de linfócitos TCD4⁺ igual ou superior a 500 células/mm³. Ao grupo II pertencem os pacientes apresentando número absoluto de linfócitos TCD4⁺ entre 200 e 499 células /mm³ e ao grupo III, os pacientes com número absoluto de linfócitos TCD4⁺ inferior a 200 células/mm³. Os pacientes apresentando número de células TCD4⁺ inferiores a 200

mm³ ou doenças oportunista são classificados como portadores da aids, ou seja, pacientes pertencentes às categorias C (1, 2 e 3) e/ou grupo 3 (A, B e C). O restante são considerados portadores do HIV.

-Carga Viral: O nível de RNA viral no plasma é um parâmetro clínico importante para avaliar a progressão da doença, sendo que níveis elevados da replicação do vírus e o aumento da carga viral estão associados à deterioração acelerada do sistema imunitário. Os exames de carga viral quantificam as partículas que estão sendo produzidas e lançadas na circulação sanguínea (ABBAS, LICHTMAN & POBER, 2003). Foi considerado o número de cópias do RNA do HIV-1 por mililitro de plasma. O valor utilizado foi aquele registrado no prontuário, referente ao mês em que se deu a realização da entrevista.

-Antecedentes ginecológicos: São aqueles que se referem ao início de vida sexual, idade da primeira gravidez e número de gravidezes.

- História social: Foram considerados aqueles fatores como o hábito de fumar e outros hábitos sociais que predisõem a aquisição do HPV.

-Vida sexual: Foram considerados os aspectos relacionados com a atividade sexual, como o número de parceiros sexuais e as preferências sexuais dos parceiros atuais das pacientes, aspectos sobre o uso de métodos contraceptivos também foi abordado.

Infecções de transmissão sexual: Refere-se aquelas infecções que podem ser adquiridas durante as relações sexuais.

3.4. PROCEDIMENTO DE COLETA DE DADOS

3.4.1. ASPECTOS ÉTICOS

O projeto foi em primeiro lugar revisado e aprovado pelos: 1) Comitê de Ética da Secretária dos Serviços de Saúde em San Luis Potosí, México; 2) Comitê de Ética do COGUSIDA; 3) Comitê de Ética da Faculdade de Enfermeria e Obstetrícia da Universidade de Guanajuato; e 4) Comitê de Ética em Investigação da EERP/USP (Anexos I a IV). O presente projeto inclui os princípios básicos de respeito pelas pessoas: autonomia, beneficência, não maleficência, justiça e equidade que devem incluir-se nas investigações com seres humanos. Em forma geral, concorda-se que estes princípios, que em teoria têm igual força moral, guiam a preparação responsável de protocolos de investigação.

O respeito pelas pessoas, incluídas dentro do presente projeto, inclui considerações específicas:

- 1- O respeito pela autonomia, que implica que as pessoas são capazes de deliberar sobre suas decisões e serão tratadas com respeito por sua capacidade de autodeterminação proporcionando aos participantes a segurança;
- 2- A beneficência, a qual se refere à obrigação ética de maximizar o benefício e minimizar o dano. Este princípio se cobre já que dá lugar a pautas que estabelecem que os riscos da investigação são razoáveis à luz dos benefícios esperados, que o desenho da investigação é válido e que os pesquisadores são competentes para conduzir a investigação e para proteger o bem-estar dos sujeitos de investigação;
- 3- A justiça, referida como obrigação ética, trata cada pessoa de acordo com o que se considera moralmente correto e apropriado. Na investigação em seres humanos este princípio se refere, especialmente, à justiça distributiva que estabelece a distribuição equitativa de ônus e benefícios ao indivíduo.

Uma vez já contatados os centros que mantêm registradas as pacientes, foi solicitado o consentimento informado (Anexo V) de cada uma das pacientes, esclarecendo que a informação seria confidencial, anônima e que unicamente os dados seriam utilizados de maneira geral no relato do estudo. Foram informadas também que as pacientes eram livres para retirar-se do estudo no momento do que elas quisessem, e que seria considerada e se respeitada sua decisão sem nenhum problema para elas.

3.5. PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS CERVICAL E SANGÜÍNEA

3.5.1. COLETA DAS AMOSTRAS CERVICAIS

Para a coleta de cada amostra foram utilizados: 1) uma escova para coleta de raspado cérvico-vaginal do tipo “cytobrush” (Beckton and Dickinson, USA); 2) 1 mL do meio estéril de coleta e transporte para as amostras (PBS ou solução salina amortecida com fosfatos com EDTA disódico: NaCl 137 MM, KCl 2.7 MM, Na₂HPO₄ 10 MM, KH₂HPO₂ 2 MM, EDTA 25 MM, pH 7.4) em tubos de polipropileno (Nalgene cryoware, Nalge Nunc, Rochester, NY, EUA) de 5 mL com tampa de rosca; 3) 1,5 mL de etanol 96° em tubos de microcentrífuga de 1,5 mL (Nalgene cryoware, Nalge Nunc, Rochester, NY, EUA) para a fixação das amostras.

3.5.2. EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE DNA DAS AMOSTRAS CERVICAIS

Um mL de cada amostra, previamente fixada, foi transferida do tubo de polipropileno a um tubo *eppendorf* que foi colocado na microcentrifuga Hettich Mikro 20 (Hettich, Colônia, Alemanha) e centrifugado por 5 min a 13,000 rpm (16,250×g). Para dissolver e digerir as proteínas a cada pellet (amostra) se adicionou 500 µL de TES (Tris-HCl 10 MM; Na₂EDTA 2 MM, NaCl 0.4 M; pH 8.0) seguidos de 50 µL de SDS ao 10% e 20 µL de proteinase K (20 mg/ml); as misturas de digestão foram incubadas 3 h a 55°C para degradar as proteínas. Depois se agregaram 151.4 µL de NaCl 5M e a mistura novamente foi centrifugada por 15 min. O sobrenadante foi removido para um tubo novo ao que adicionamos 576,8 µL de isopropanol frio e repousou durante 10 min no refrigerador para precipitar os ácidos nucleicos. O tubo foi centrifugado novamente 10 min e o sobrenadante descartado. Em seguida, o pellet de ácidos nucleicos foi lavado com 1 mL de etanol a 70% seguida por centrifugação a 1 min a 10,000 rpm (9,615×g). O etanol sobrenadante foi descartado por aspiração com uma micropipeta, e para secar o pellet o tubo foi invertido sobre uma toalha de papel em temperatura ambiente por 15 min. O pellet com ácidos nucleicos foi dissolvido com 50 ou 100 µL de TE 1× (Tris-HCl 10 MM, EDTA 1 MM, pH 8.0) dependendo da quantidade do pellet obtido. Finalizado o processo de extração, a qualidade do DNA foi avaliada mediante eletroforese em gel de agarose ao 1% (IBI, Shelton Scientific, Shelton, IA, EUA) de 2µL de DNA de cada amostra .

3.5.3. QUANTIFICAÇÃO DO DNA DAS AMOSTRAS CERVICAIS

A fluorometria, com o kit PicoGreen dsDNA Quantitation (Molecular Probes, Eugene, OR, EUA), foi utilizada para quantificar as amostras. Foi gerada uma curva padrão regular com tubos que continham 1, 5, 10, 25 e 50 ng de DNA do fago lambda de concentração conhecida incluída no kit. Em cada poço de uma microplaca FIA negra de 96 poços (Greiner bio-one, Frickenhausen, Alemanha) foram colocados 198 µL da solução de ensaio contendo fluorocromo (PicoGreen 1:400 em TE 1×) e 2 µL do DNA regular ou da amostra coletada. As amostras foram lidas no fluorômetro Gênios (TECAN, San Jose, CA, EUA) empregando o programa Magellan 4.

3.5.4 DETECÇÃO DO HPV

Para detectar a presença do DNA do HPV nas amostras de cervicais, foram utilizados iniciadores genéricos MY09 e MY11, amplificando um produto de 450 pb, que reconhecem a região L1 do capsídeo viral comum a todos os tipos de HPV (MANOS et al., 1989). Os iniciadores foram produzidos pela (Beckton and Dickinson, USA) conforme especificações abaixo:

Iniciadores	Seqüência de nucleotídeos (5'→3')	Posição	Região de gene amplificado	Tamanho do produto
MY09	CGT CCM AAR GGA WAC TGA TC	6584	L1	~450 pb
MY11	GCM CAG GGW CAT AAY AAT GG	7035	L1	~450 pb
LCRS	AAGGGAGTAACCGAAAACGGT	26	LCR/E7	~650 pb
E7AS	TCATCCTCCTCCTCTGAG	671	LCR/E7	~650 pb

3.5.5 MISTURAS DE PCR PARA O PAR DE INICIADORES - LCRS e E7AS

32,2 µL de H₂Odd autoclavada;
 5,0 µL de tampão de reação (10x);
 2,0 µL de solução de dNTP (10mM);
 1,0 µL de cada iniciador específico para o HPV (10,0mM);
 5,0 µL de MgCl₂ (50mM);
 5 U de Taq-polimerase (0,3U/µL);
 2,5 ml de DNA amostral.

3.5.6 MISTURAS DE PCR PARA O PAR DE INICIADORES - MY09 e MY11

1,5 µL de H₂Odd autoclavada;
 2,5 µL de tampão de reação (10x);
 0,25 µL de solução de dNTP (20mM);
 4,0 µL de cada iniciador específico para o HPV (2,5 pmol/µL);
 7,0 µL de MgCl₂ (10mM);
 1,5 U de Taq-polimerase (1U/µL).

Cada mistura da reação foi submetida a 40 ciclos de amplificação num Termociclador Touchgene Gradient (Techne, Staffordshire, Inglaterra). Antes de iniciar os ciclos de amplificação se incubaram as misturas por 4 min a 94°C (hot start). Cada ciclo consistiu de incubações sucessivas de 1 min a 94°C, 57° C e 72° C. Ao final, as misturas foram incubadas a 10 min a 72°C. Em cada experimento de amplificação se empregou como controle positivo DNA de células HeLa e água como controle negativo.

3.5.7 REVELAÇÃO DOS FRAGMENTOS DE DNA EM GEL DE AGAROSE

Os produtos de DNA amplificados foram visualizados através da eletroforese em gel de agarose (Figura 3), preparado com a adição de 1,5 g de agarose e 5 mL de tampão 50X TAE (Tris-HCL, pH = 7,5, 10 mM; NaEDTA, pH = 8.0, 1 mM) a 250 mL de H₂O dibestilada. A agarose foi dissolvida por ebulição e resfriada a 60 °C, com posterior adição de 100 uL de brometo de etídeo a 1,0%, misturada e despejada na placa, deixando em repouso por uma hora a temperatura ambiente. Géis foram colocados na cuba de eletroforese (Pharmacia cell GNA200, Suécia), com o nível da solução tampão (tampão 5X TAE) de 2 a 3 mm acima da superfície do gel, em ordem padronizada dos iniciadores e, finalmente, o controle negativo. Seguiu-se a eletroforese por 120 minutos, a 62 mV (aproximadamente 0,4 V/cm²). Terminada a eletroforese, o gel foi colocado em um transiluminador UV de 312 nm (IBI, Shelton Scientific, Shelton, IA, EUA) e fotografado para posterior documentação e interpretação.

Fig. 3- Produtos de DNA amplificados visualizados através da eletroforese em gel de agarose. C+ controle positivo, C- controle negativo, amostras 3-27 DNA obtido de pacientes não portadoras do HIV-1, amostras 27-64 DNA obtido de mulheres portadoras do HIV-1.

3.5.8 TIPIFICAÇÃO DO HPV

A tipificação do HPV foi realizada através do método da Reação em Cadeia da Polimerase, associado com o Polimorfismo de Fragmentos de DNA obtidos por Enzimas de Restrição (PCR-RFLP), em inglês, *restriction fragment length-polymorphism* - RFLP (HUBBARD, 2003).

Tabela 1- Enzimas utilizadas para a digestão.

Enzima	Organismo	Sítio de restrição
Ava II	Anabaena variabilis	5' -G-G-(A/T)-C-C- -C-C-(T/A)-G-G- 5'
Rsa I	Rhodopseudomonas sphaeroides	5' -G-T-A-C- -C-A-T-G- 5'
Bgl II	Bacillus globigii	5' -A-G-A-T-C-T- -T-C-T-A-G-A- 5'
Ava I	Anabaena variabilis	5' -C-Py-C-G-Pu-G- -G-Pu-G-C-Py-C- 5'
Acc I	Acinetobacter calcoaceticus	5' -G-T-(A/C)-(T/G)-A-C- -C-A-(T/G)-(A/C)-T-G- 5'

Tabela 2- Tipos de HPV identificados pela reação

Enzima	Tipo de HPV						
	HPV 16	HPV 18	HPV 31	HPV 33	HPV 35	HPV 52b	HPV 58
Tamanho							
(pb)	238	268	232	244	232	231	244
Ava II	157/81	172/96	NC	136/108	NC	NC	NC
Rsa I	NC	NC	117/115	NC	NC	NC	NC
Ava I	NC	NC	NC	NC	186/46	NC	NC
Bgl II	NC	NC	NC	NC	NC	176/55	NC
Acc I	NC	NC	NC	NC	NC	NC	126/118

Tabela 3- Tampões utilizados nas digestões.

Enzima	Tampão	
	Tipo	Composição
Ava II, Ava I	NE Buffer 4a	Tris-ac 20 mM, KAc 50 mM, MgAc 10 mM, DTT 1 mM, pH 7.9
Bgl II	NE Buffer 3a	Tris-HCl 50 mM, NaCl 100 mM, MgCl ₂ , 10 mM, DTT 1 mM, pH 7.9
Rsa I, Acc I	React 1b	Tris-HCl 50 mM, MgCl ₂ 10 mM, pH 8.0

a-Biolabs, b-Invitrogen

3.5.8.1. MISTURAS DE DIGESTÃO COM Ava II

8,5 µL de H₂Odd autoclavada;
2,0 µL de tampão de reação (10x) (BioLabs Beverly, MA, EUA);
1,5 µL de Enzima de restrição Ava II (10,0U/µL) (BioLabs Beverly, MA, EUA);
8,0 µL de DNA amostral após PCR com iniciadores pU 1M/2R.

3.5.8.2. MISTURAS DE DIGESTÃO COM Ava I

8,5 µL de H₂Odd autoclavada;
2,0 µL de tampão de reação (10x) (BioLabs Beverly, MA, EUA);
1,5 µL de Enzima de restrição Ava I (10,0U/µL) (BioLabs Beverly, MA, EUA);
8,0 µL de DNA amostral após PCR com iniciadores pU 1M/2R.

3.5.8.3. MISTURAS DE DIGESTÃO COM Bgl II

8,5 µL de H₂Odd autoclavada;
2,0 µL de tampão de reação (10x) (BioLabs Beverly, MA, EUA);
1,5 µL de Enzima de restrição Bgl II (10,0U/µL) (BioLabs Beverly, MA, EUA);
8,0 µL de DNA amostral após PCR com iniciadores pU 1M/2R.

3.5.8.4. MISTURAS DE DIGESTÃO COM Rsa I

8,5 µL de H₂Odd autoclavada;
2,0 µL de tampão de reação (10x) (Invitrogen (Carlsbad, CA,EUA);
1,5 µL de Enzima de restrição Rsa I (10,0U/µL) (Invitrogen (Carlsbad, CA,EUA);
8,0 µL de DNA amostral após PCR com iniciadores pU 1M/2R.

3.5.8.5. MISTURAS DE DIGESTÃO COM Acc I

8,5 µL de H₂Odd autoclavada;
2,0 µL de tampão de reação (10x) (Invitrogen (Carlsbad, CA,EUA);
1,5 µL de Enzima de restrição Acc I (10,0U/µL) (Invitrogen (Carlsbad, CA, EUA);
8,0 µL de DNA amostral após PCR com iniciadores pU 1M/2R.

Figura 4- Diagrama de fluxo do método de tipificação de HPV-AR mediante passos de digestão sucessiva do produto de E6/E7 de ~250 pb com as enzimas de restrição.

3.5.9. REVELAÇÃO DOS FRAGMENTOS DE DIGESTÃO EM GEL DE AGAROSE

Os produtos foram visualizados através da eletroforese em gel de agarose 2%, preparado com a adição de 10mL de corante vermelho (gel red) para marcar o DNA. As condições de eletroforese foram iguais a anteriormente descrita. A visualização foi realizada em um transiluminador UV de 312 nm (IBI, Shelton Scientific, Shelton, IA, EUA) e o gel foi fotografado para posterior documentação e interpretação.

3.5.10. COLETA DE SANGUE, EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE DNA EM AMOSTRAS SANGUÍNEAS

A extração de DNA sanguíneo foi realizada utilizando-se o kit comercial PAXgene PreAnalytiXA (Qiagen/BD, Switzerland), e a venopunção (8,5mL) de sangue periférico foi realizada utilizando-se tubos Vacutainer contendo anti-coagulante EDTA K3 (0,054 mL/tubo), para posterior análise do polimorfismo da região promotora do TNF. As amostras ficaram armazenadas a -20°C até serem processadas.

Resumidamente, a extração de DNA da amostra sanguínea foi realizada da seguinte maneira: A amostra de sangue foi inserida em um tubo *Falcon* contendo 25mL tampão BG1, seguida por 5 inversões e centrifugação em rotor Hettich por 5 min a 4000 rpm (2500×g) e descarte do sobrenadante. A lavagem do pellet foi realizada pela adição de 5mL de tampão BG2 seguida de agitação em vortex por 5 seg., centrifugação por 3 min (2500×g) e descarte do sobrenadante. Para a próxima etapa, a protease liofilizada (PreAnalytiX Protease) foi reconstituída utilizando-se 1,4 mL de solução de ressuspensão BG4. Assim, 50µL desta solução de protease foi adicionada a 5mL de tampão BG3 (tampão de digestão) para posteriormente ser adicionada às amostras. Cinco mL deste tampão de digestão foi adicionado às amostras seguida pela incubação a 65°C por 10 min, e agitação em vortex por 5 seg. Adicionou-se 5mL de isopropanol absoluto, invertendo o tubo 10 vezes. Após precipitar o DNA, as amostras foram centrifugadas por 3 min (2500×g) e o sobrenadante foi descartado. O pellet foi lavado pela adição de 5 mL de etanol 70% seguida pela agitação em vortex e nova centrifugação. Novamente o sobrenadante foi descartado e o pellet foi dissolvido pela adição de tampão BG4 e incubação a 65°C por 1 h, seguida de incubação a temperatura ambiente overnight.

3.5.11. REVELAÇÃO DA VIABILIDADE DO DNA SANGUÍNEO EM GEL DE AGAROSE

Os produtos foram visualizados através da eletroforese em gel de agarose 2%, preparado com a adição de 10mL de corante vermelho (gel red) para marcar o DNA. As condições de eletroforese foram iguais a anteriormente descrita. A visualização foi realizada em um transiluminador UV de 312 nm (IBI, Shelton Scientific, Shelton, IA, EUA) e o gel foi fotografado para posterior documentação e interpretação.

Figura 5- DNA do sangue obtido de PCR nas 66 amostras de mulheres portadoras ou não do HIV-1. C+ controle positivo, C- controle negativo, amostras 3-26 DNA obtido de pacientes sem o HIV-1, amostras 27-64 DNA obtido de mulheres portadoras do HIV-1.

3.6 TIPIFICAÇÃO DA REGIÃO PROMOTORA DO TNF

O polimorfismo de genes da região promotora do TNF foi avaliado quanto à presença dos SNPs -308A/G e -238A/G, relacionados com atividade transcricional alterada. Para a detecção destes polimorfismos, utilizamos sondas de oligonucleotídeos sequência específicas, hibridados com DNA amplificado pela reação em cadeia da polimerase, pela técnica de PCR-SSP. Os iniciadores específicos para cada variante estão descritos nas Tabelas 4 e 5. Adicionalmente, os iniciadores HGBA.A e HGBA.S foram utilizados como controle interno de cada reação. Os reagentes utilizados e as condições para a amplificação estão descritos nas Tabelas 6 e 7, respectivamente. Os produtos das reações foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida não desnaturante 10% corado por impregnação pela prata.

O gel não desnaturante 10% foi preparado da seguinte forma:

- 9,8 mL de água deionizada;
- 6,7 mL de acrilamida + bis-acrilamida (29:1);
- 1,4 mL de glicerol;
- 2,0 mL de tampão TBE 10x;
- 15 µL de TEMED;
- 300 µL de solução saturada de persulfato de potássio.

Tabela 4- Relação dos iniciadores utilizados para detecção dos polimorfismos dos SNPs -308 do gene TNF.

PRIMER	SEQUENCIA (5'- 3')	AMPLICON	ALVO	REFERENCIA
TNFAA308.2	CAGCGGAAACTTCCTTGGT	259 bp	TNFα - 308 AG	Tuglular et al., 2003
TNF Genérico				
TNFAS308G	ATAGGTTTTGAGGGGCATGG			Marsh et al., 2003
TNF Específico				
TNFAS308A	ATAGGTTTTGAGGGGCATGA			Marsh et al., 2003
TNF Específico				
HGBA.S	CGGTATTTGGAGGTCAGCAC	456 / 436 bp	Controle	Nosso Laboratório
HGBA.A	CCCACCACCAAGACCTACTT		Controle	Nosso Laboratório

Tabela 5- Relação dos iniciadores utilizados para detecção dos polimorfismos dos SNPs -238 do gene TNF.

PRIMER	SEQUENCIA (5'- 3')	AMPLICON	ALVO	REFERENCIA
TNFAA308.2 TNF Genérico	CAGCGGAAACTTCCTTGGT	175 bp	TNF α - 238 AG	Tuglular et al., 2003
TNFAS238G TNF Específico	GAATCGGAGCAGGGAGGA			Marsh et al., 2003
TNFAS238A TNF Específico	GAATCAGAGCAGGGAGGA			Marsh et al., 2003
HGBA.S	CGGTATTTGGAGGTCAGCAC	456 / 436 bp	Controle	Nosso Laboratório
HGBA.A	CCCACCACCAAGACCTACTT		Controle	Nosso Laboratório

Tabela 6 - Reagentes utilizados para a amplificação dos SNPs -308 e -238 do TNF.

Reagente	Concentração
Tampão a	1 X
MgCl₂ b	1,5 mM
DNTP c	0,25 mM
HGBA S	2 pmol
HGBA A	2 pmol
308AA ou 308G	3 pmol
TNF 308.2	3 pmol
Taq Polimerase	0,75 U
DNA	100ng
Volume final	10 μ L

a- 20 mM Tris-Cl, pH 8.4, 50 mM KCl,

b- cloreto de magnésio,

c- dNTP 2'deoxinucleosídeo 5' trifosfato.

A reação de amplificação foi realizada em volume final de 10 μ L, contendo 1X tampão de amplificação (20 mM Tris-Cl, pH 8.4, 50 mM KCl), 20 mM de cada dNTP, 10 μ M de cada iniciador, 0,5 unidades de Taq DNA-polymerase (Invitrogen) e 100 ng de DNA genômico.

Tabela 7 - Condições de amplificação do SNP –308 e –238 do TNF.

Estágio	Temperatura	Tempo	Ciclos
Desnaturação inicial	94°C	5'	1X
Desnaturação	94°C	45''	32X
Ligação dos Iniciadores	64°C	45''	
Extensão	72°C	1'	
Extensão final	72°C	5'	1X
	4°C	∞	

Tabela 8 - Condições específicas para eletroforese de cada loco.

Loco	Gel	Voltagem	Tempo
TNF-308	10% não desnaturante	230V	1:00h
TNF-238			

CONDIÇÕES DA ELETROFORESE

Após a preparação, o gel foi imediatamente aplicado a um cassete de tamanho determinado, previamente montado. Para a realização da corrida eletroforética, foram utilizados 3 µL do produto amplificado acrescidos a 7 µL de tampão de carregamento contendo formamida a 75%. Todos os géis desnaturantes foram submetidos a uma corrente de 20mA, pelo tempo determinado.

3.6.1. COLORAÇÃO COM NITRATO DE PRATA

Após a separação eletroforética, os géis foram corados por impregnação pela prata, de forma a viabilizar a visualização do polimorfismo. O gel foi colocado em 100 mL de solução fixadora (50 mL de álcool etílico, 2 mL de ácido acético, água deionizada q. s. p. 300 mL) acrescida de 1 mL de nitrato de prata 20% (solução a 0,1% em água destilada) e mantido sob agitação à temperatura ambiente por 5 minutos. Depois desse tempo, a solução fixadora com prata foi descartada e o gel lavado com água. A água foi descartada e adicionou-se 100 mL de solução reveladora (4,5 g de NaOH, água deionizada q. s. p. 200 mL) acrescida de 1 mL de formaldeído. O gel foi colocado sobre agitação até a revelação das bandas, sendo posteriormente descartada a solução reveladora com formaldeído.

Figura 6- Gel de poliacrilamida 10% mostrando a mobilidade eletroforética dos polimorfismos dos SNPs -308 do gene TNF. A banda de 456 pb é referente ao controle interno da reação (genes da Hemoglobina Humana, iniciadores HBBA.S/HGBA.A). As bandas de 259 pb representam o polimorfismo G/A da região promotora -308 do gene TNF.

3.7. PROCESSAMENTO DOS DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados coletados, por intermédio do questionário, foram transferidos para um banco de dados após codificação para cada uma das variáveis quantitativas discretas ou contínuas. Após a validação do banco de dados (MS excel) mediante dupla entrada (digitação), os dados foram analisados empregando-se o programa SPSS (*Statistical Package for the Social Science*), versão 15 (HULLEY et al., 2002). Foi utilizada a estatística descritiva para sumarizar os dados encontrados. As comparações das frequências dos tipos de HPV e alelos do TNF entre os grupos de pacientes foram realizadas utilizando-se o teste exato de Fisher, estas análises estatísticas foram realizadas por meio do programa computacional *GraphPad Instat* (USA). Para todos os testes utilizados, a hipótese de nulidade foi rejeitada, quando a possibilidade de ocorrência casual das diferenças observadas não excedia 5 % ($p < 0,05$).

3.7.1 ESTIMATIVA DAS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DO TNF

A frequência de cada alelo ou genótipo encontrado foi estimada pelo método de contagem direta, de acordo com a equação:

$$p_i = n_i / n$$

onde n_i é o número de ocorrências (frequência absoluta) do alelo ou genótipo i na amostra e n é o número total de alelos ou genótipos amostrados. As frequências alélicas e genotípicas para cada loco foram estimadas por contagem direta utilizando-se o programa GENEPOP 3.4 (RAYMOND & ROUSSET, 1995b).

Para comparação das distribuições das frequências foi aplicado o teste exato de Fisher (SIEGEL, 1975) e o *Odds Ratio* (OR), com auxílio do programa *GraphPad InStat* 3.01, de forma a detectar possíveis associações com alelos e genótipos entre os grupos avaliados. Foram consideradas as associações com probabilidade menores que 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

As 66 pacientes selecionadas para o estudo apresentavam idades variando de 16 a 60 anos (mediana=35 anos). Destas, 40 (66,6%) mulheres apresentavam a infecção pelo HIV-1 e 26 (43,3%) não eram portadoras da infecção pelo HIV-1. Todas as pacientes eram portadoras da infecção pelo HPV, sendo que 33 (50,0%) apresentavam infecção pelo HPV tipo 16; 13 (19,6%) tinham o HPV tipo 18; 16 (24,2%) apresentavam HPV tipo 31; 2 (3,0%) tinham HPV tipo 33; 23 (34,8%) apresentavam HPV tipo 35; 10 (15,1%) tinham HPV tipo 52b; 3 (4,5%) tinham HPV tipo 58, e 12 (18,1%) restantes apresentavam outros tipos de HPV. Infecções por vários tipos de HPV foram detectadas em 38/66 (57,5%) mulheres. O diagnóstico de lesões cervicais de baixo grau, em todas as pacientes, foi realizado com base na citologia, exame de Papanicolaou e análise anatomopatológica, segundo os critérios de Bethesda (Tabela 9).

Em relação à condição racial, as 66 (100%) pacientes eram brancas. No que se refere ao estado civil, 23 (34,8%) mulheres estavam casadas no momento da entrevista, 18 (27,3%) em união consensual, 16 (24,2%) solteiras, 5 (7,6%) referiram ser divorciadas e 4 (6,1%) viúvas. Do grupo das pacientes com HIV-1 25 (62,5%) mulheres tinham parcerias com pessoas que migraram para os Estados Unidos. No que se refere à ocupação, 57 (86,4%) mulheres dedicam-se ao lar, 5 (7,6%) realizam atividades relacionadas a estudos técnicos, 2 (3,0%) realizam atividades profissionais, 1 (5,4%) mulher referiu ser estudante e 1 (5,4%) referiu ser trabalhadora do sexo. Em referência ao grau de escolaridade, 34 (51,5%) mulheres concluíram somente o ensino fundamental, 23 (34,9%) tinham o ensino médio, 2 (3%) mulheres tinham o ensino superior, 4 (6,1%) referiram formação técnica e 3 (4,5%) não tinham nenhum estudo.

Tabela 9- Caracterização das pacientes incluídas no estudo, segundo idade, gravidade das lesões cervicais, tipo de HPV, *status* sorológico para a infecção pelo HIV-1 e tipo de Infecção por transmissão sexual (ITS), por ocasião da realização do estudo.

<i>Paciente</i>	<i>Idade (anos)</i>	<i>HIV-1</i>	<i>Tipo de HPV</i>	<i>ITS</i>	<i>Lesão Cervical</i>
1	21	Negativo	16, 18	vaginite	Baixo grau
2	33	Negativo	16	vaginite	Baixo grau
3	42	Negativo	18, 58	candidiase	Baixo grau
4	23	Negativo	18, 35, 31, 52b	condiloma	Baixo grau
5	20	Negativo	16	condiloma	Baixo grau
6	26	Negativo	16, 35, 31	condiloma	Baixo grau
7	21	Negativo	18, 31	condiloma + vaginite	Baixo grau
8	30	Negativo	52b	SL	Baixo grau
9	40	Negativo	16, NI	SL	Baixo grau
10	22	Negativo	18	vaginite	Baixo grau
11	30	Negativo	16, 58	SL	Baixo grau
12	30	Negativo	18, NI	vaginite	Baixo grau
13	23	Negativo	16	condiloma	Baixo grau
14	33	Negativo	16	condiloma	Baixo grau
15	17	Negativo	NI	SL	Baixo grau
16	25	Negativo	16, NI	condiloma	Baixo grau
17	24	Negativo	16, NI	SL	Baixo grau
18	27	Negativo	16, 31	SL	Baixo grau
19	27	Negativo	16, 52b	SL	Baixo grau
20	23	Negativo	16, NI	SL	Baixo grau
21	37	Negativo	16	candidiase	Baixo grau
22	44	Negativo	18	condiloma	Baixo grau
23	23	Negativo	18	condiloma	Baixo grau
24	35	Negativo	18, 31	SL	Baixo grau
25	36	Negativo	NI, 58	SL	Baixo grau
26	27	Negativo	16, 33, 35, 52b	condiloma	Baixo grau
27	49	Positivo	35	NI	Baixo grau
28	54	Positivo	18, NI	condiloma	Baixo grau
29	59	Positivo	18, 31	candidiase	Baixo grau
30	38	Positivo	16, 35, 52b	condiloma	Baixo grau
31	49	Positivo	35, 52b	NI	Baixo grau

32	40	Positivo	31	vaginite	Baixo grau
33	60	Positivo	16	condiloma	Baixo grau
34	54	Positivo	35,31,52b	candidiase	Baixo grau
35	29	Positivo	NI	condiloma	Baixo grau
36	25	Positivo	18	condiloma	Baixo grau
37	34	Positivo	31,35	vaginite+ herpes	Baixo grau
38	29	Positivo	16,35	condiloma	Baixo grau
39	55	Positivo	16,35	condiloma	Baixo grau
40	23	Positivo	16,31	condiloma	Baixo grau
41	36	Positivo	31	vaginite	Baixo grau
42	28	Positivo	16	vaginite	Baixo grau
43	25	Positivo	16,31	condiloma	Baixo grau
44	37	Positivo	16,35	vaginite	Baixo grau
45	27	Positivo	16,52b	gonorréia	Baixo grau
46	40	Positivo	35	NI	Baixo grau
47	43	Positivo	31,52b	vaginite	Baixo grau
48	37	Positivo	16	NI	Baixo grau
49	54	Positivo	31	NI	Baixo grau
50	38	Positivo	35	candidiase	Baixo grau
51	36	Positivo	16,35	condiloma	Baixo grau
52	27	Positivo	16,33	condiloma	Baixo grau
53	28	Positivo	NI	NI	Baixo grau
54	29	Positivo	52b	condiloma	Baixo grau
55	34	Positivo	16,35	condiloma	Baixo grau
56	40	Positivo	16,35,31	vaginite	Baixo grau
57	34	Positivo	16,35	NI	Baixo grau
58	55	Positivo	NI	NI	Baixo grau
59	33	Positivo	18,35	vaginite	Baixo grau
60	36	Positivo	16,31	vaginite+gonorréia	Baixo grau
61	38	Positivo	16,35	NI	Baixo grau
62	39	Positivo	NI	NI	Baixo grau
63	42	Positivo	35	vaginite	Baixo grau
64	50	Positivo	16,35	condiloma	Baixo grau
65	54	Positivo	35	NI	Baixo grau
66	36	Positivo	35	condiloma	Baixo grau

conclusão

HPV- Papiloma Vírus Humano; **NI**- Não identificado o tipo de HPV y/o ITS; **HIV-1**- Vírus da Imunodeficiência Humana do tipo 1; **SL**- Sem lesão

4.2. FATORES DE RISCO

Em relação ao início da vida sexual 35(53,0%) mulheres referiram início antes dos 17 anos e 31(46,9%) mulheres iniciaram com idades acima de 17 anos, quando se perguntou sobre a parceria sexual atual, 45 (68,2%) mulheres referiram ter só um parceiro sexual, 10 (15,2%) não têm parceria sexual, 8 (12,1%) manifestaram que tinham entre 2 a 3 parceiros sexuais, 1 (1,5%) mulher referiu entre 4 a 6 parceiros e 2 (3,0%) mantêm 10 ou mais parceiros sexuais. Sobre o seu último parceiro sexual, 11 (16,6%) mulheres referiram que seus parceiros não mantêm outra parceria, 8 (12,2%) mulheres referiram que seus parceiros mantinham outra parceria heterossexual, 3(4,5%) identificaram que a parceria era homossexual, 15(22,7%) relataram que seus parceiros mantêm outra parceria mas não identificam o tipo de relação e 28(42,4%) mulheres desconhecem se seus parceiros se relacionam com outras pessoas.

Em relação às Infecções de Transmissão Sexual (ITS), todas as mulheres relataram que já apresentaram algum tipo de ITS. Dentre as ITS identificadas, a vaginite foi referida por 15 (22,7%) mulheres, condiloma/verruga genital foi referido por 25 (37,8%) mulheres, candidíase por 5(7,6%), gonorréia foi apontada por 2 (3,0%), herpes em 1 (1,5%), 66 (100%) mulheres apresentaram infecção por HPV e 56 (84,8%) relataram ter apresentado mais de um tipo de ITS. Das pacientes que referiram ter apresentado condiloma, 12 (18,2%) mulheres apresentaram as verrugas uma única vez, 5(7,6%) disseram que tiveram as verrugas duas vezes, 3 (4,5%) tiveram três vezes.

Ao questionar sobre as ITS em seus parceiros, 34 (51,5%) mulheres não sabiam se seus parceiros já tiveram ITS, 13 (19,7%) não haviam apresentado nenhuma ITS e 19 (28,8%) mulheres relataram que seus parceiros já apresentaram alguma ITS, sendo que 4 (21,0%) parceiros eram portadores do HIV-1/aids, 8 (42,0%) apresentaram condilomas/verrugas genitais, 5 (26,3%) parceiros tiveram uretrite sem identificar o agente causador e 2 (10,5%) parceiros apresentaram herpes.

Quanto a frequência de relações sexuais, 18 (27,3%) mulheres referiram ter tido a ultima relação sexual há mais de 6 meses, 11 (16,7%) entre de 1 a 6 meses, 13 (19,7%) disseram que o ultimo intercurso sexual foi há 1 ou 2 dias, 13 mulheres (19,7%) também responderam que a ultima relação sexual foi há uma semana e 11

(16,7%) não responderam a pergunta. Sobre o tipo de intercurso sexual praticado entre as mulheres sexualmente ativas, 19(51,4%) responderam que era apenas a vaginal e 9(13,6%) mulheres referiram a pratica de sexo vaginal e anal, e 9(13,6%) referiram a pratica de sexo oral, vaginal e anal. Em referencia ao uso de condom, 28 (42,4%) mulheres referiram usar condom nas relações vaginais, 20(30,3%) disseram usar em todo tipo de relação sexual, 15(22,7%) mulheres não utilizam o condom nenhuma prática sexual, 2(3,0%) usam apenas nas relações sexuais anais e uma paciente (1,5%) não respondeu a pergunta.

Quanto aos antecedentes obstétricos encontramos 6(9,1%) nuligestas, 10 (15,2%) nulíparas com 1 ou 2 abortos, 31(47%) multíparas com 2 ou mais partos, 8 (12,1%) multigesta com abortos múltiplos e 11(16,7%) mulheres apresentaram um parto. A idade da primeira gravidez para 38(57,6%) mulheres foi após os 17 anos e para 22(33,3%) mulheres foi antes dos 17 anos. As verrugas genitais foram detectadas em 11(16,7%) mulheres durante a gravidez. Dos métodos contraceptivos atualmente utilizados, 19 (28,8%) mulheres referiram o uso de método de barreira, 17(25,8%) não estavam evitando a gravidez, 8(12,1%) utilizavam o dispositivo intra-uterino (DIU) e 22(33,3%) referiram utilizar outros métodos contraceptivos.

Ainda em relação aos fatores do risco, 47 (71,2%) mulheres nunca fumaram, 10(15,2%) fumavam regularmente cerca de 20 cigarros ao dia por pelo menos um ano, 8(12,1%) fumavam irregularmente e uma (1,5%) paciente relatou ser ex-fumante.

4.3. INFECÇÃO PELO HIV-1 COMO FATOR DE RISCO

Das 66 pacientes, que realizaram a prova de detecção para HIV-1 entre 1997 a 2006; 40 mulheres foram identificadas como portadoras desta infecção. De acordo com a classificação do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC, 1993), 32/40 (80,0%) pacientes com o HIV-1 eram assintomáticas e 8/40 (20,0%) apresentavam aids. Todas as pacientes portadoras do HIV-1, incluindo as assintomáticas, estavam recebendo a terapia anti-retroviral (*High Active Antiretroviral Therapy*-HAART) no momento do estudo. Relativo ao número de células T-CD₄⁺, 15/40 das pacientes (37,5%) apresentavam mais de 500 cél/mL; 17/40 (42,5%), entre 200-500 cél/mL; e 8/40 (20%), abaixo de 200 cél/mL.

De maneira geral, dados sobre a quantificação de carga viral mostram que variou de <50 a >100,000 cópias/mL (média=27,821,66 cópias/mL); a contagem de células T CD4+ variou entre 14 e 857 cél/mL (média=423,925 cél/mL), a contagem de células T CD8+ variou entre 112 e 1926 cél/mL (média=859,42 cél/mL), e o tempo de uso da terapêutica anti-retroviral variou de 2 a 10 anos (média=5 anos).

Quadro 2- Quantificação da carga viral das 40 pacientes portadoras do HIV-1.

CARGA VIRAL	f	%
<50	19	47,5
<50 - 400	8	20
>400 - 1000	2	5
>1000 - 5000	2	5
>5000 - 10,000	2	5
>10,000 - 50,000	3	7
>50,000 - 100,000	3	7
>100,000	1	2,5

O gráfico 1 mostra os anti-retrovirais utilizados pelas 40 pacientes. Foram identificados 14 tipos diferentes de drogas anti-retrovirais, sendo que 5/40 (12,5%) pacientes utilizam dois anti-retrovirais que pertencem a classe Inibidores da Transcriptase Reversa Análogo de Nucleosídeos (ITRN), 11/40 (27,5%) utilizavam ITRN e Inibidores da Transcriptase Reversa Não Análogo de Nucleosídeos (ITRNN), 15/40 (37,5%) utilizavam ITRN e Inibidores da Protease (IP), 9/40 (2,5%) utilizavam ITRNN e IP.

Gráfico 1- Comparações das frequências do uso de diferentes classes de anti-retrovirais relacionadas ao esquema terapêutico adotado entre as pacientes com HIV-1. ITRN= inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos; ITRNN= inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos; IP= inibidores da protease.

Os aspectos comportamentais como fator do risco foi avaliada entre mulheres portadoras ou não da infecção pelo HIV-1. Diferença significativa foi observada ao comparar a idade de início da atividade sexual entre o grupo de mulheres portadoras ou não da infecção pelo HIV-1. O número de mulheres positivas para o HIV-1 que tiveram o início da atividade sexual após os 17 anos de idade foi maior do que o de mulheres sem a infecção pelo HIV-1 ($p= 0,0009$; $RR=2,0$) (Tabela 10). O número de parceiros sexuais também foi avaliado. Nenhuma diferença significativa foi observada, a maioria das mulheres mantém um único parceiro sexual, independentemente do *status* HIV-1 (Tabela 11).

Tabela 10- Idade de início da atividade sexual em pacientes portadoras ou não da infecção pelo HIV-1

<i>Idade de início da atividade sexual</i>	<i>HIV-1 +</i>		<i>HIV-1 -</i>	
	<i>f</i>	<i>%</i>	<i>f</i>	<i>%</i>
Maior de 17 anos	25	62,5	5	19,2
Menor de 17 anos	15	37,5	20	76,9

Fonte: Direta

Tabela 11- Número de parceiros sexuais entre pacientes portadoras ou não do HIV-1

<i>Número de parceiros sexuais</i>	<i>HIV-1 +</i>		<i>HIV-1 -</i>	
	<i>f</i>	<i>%</i>	<i>f</i>	<i>%</i>
Nenhum	7	17,5	3	11,5
1	24	60,0	21	80,8
2-3	8	20,0	0	0
4-6	1	2,5	0	0
Igual ou mais de 10	0	0	2	7,7

Fonte: Direta

Relativo ao relacionamento extraconjugal de seus parceiros sexuais atuais, nenhuma diferença significativa foi observada, entretanto, o maior número de pacientes com HIV-1 referiram-se que seus parceiros tinham relacionamentos extraconjugais (Tabela 12).

Tabela 12- Conhecimento sobre a atividade sexual extraconjugal dos parceiros sexuais de pacientes portadoras ou não do HIV-1.

<i>Relacionamento extraconjugal dos parceiros sexuais</i>	<i>HIV-1 +</i>		<i>HIV-1 -</i>	
	<i>f</i>	<i>%</i>	<i>f</i>	<i>%</i>
Não tem	6	15,0	5	19,2
Não sabe	17	42,5	11	42,3
Sim, mas não identifica tipo	10	25,0	6	23,0
Sim, homossexual	3	7,5	0	0
Sim, heterossexual	4	10,0	4	15,3

Fonte: Direta

Ao analisar a frequência da atividade sexual, diferenças significantes foram observadas. Um número significantemente maior de pacientes portadoras do HIV-1 em relação às mulheres negativas para o HIV-1 referiu ter a última relação sexual há mais de seis meses ($p=0,0005$; $RR=1,9$). Por outro lado, um maior significantemente número de mulheres não portadoras do HIV-1 em comparação às pacientes portadoras do HIV-1 referiram ter a última relação sexual há 1 ou 2 dias ($p=0,0003$; $RR=0,21$) (Tabela 13). Quando se explorou o uso de condom nas últimas relações sexuais não houve diferenças significantes entre os dois grupos analisados (Tabela 14).

Tabela 13- Frequência de relações sexuais das pacientes portadoras ou não do HIV-1.

<i>Frequência das relações sexuais</i>	<i>HIV-1 +</i>		<i>HIV-1 -</i>	
	<i>f</i>	<i>%</i>	<i>f</i>	<i>%</i>
Há mais de 6 meses	17	42,5	1	3,8
Entre 1 a 6 meses	10	25,0	1	3,8
Há 1 semana	7	17,5	6	23,0
Há 1 a 2 dias	2	5,0	11	42,3
Não responderam	4	10,0	7	26,9

Fonte: Direta

Tabela 14- Uso do condom nas últimas relações sexuais entre pacientes portadoras ou não do HIV-1

<i>Uso do condom nas últimas relações sexuais</i>	<i>HIV-1 +</i>		<i>HIV-1 -</i>	
	<i>f</i>	<i>%</i>	<i>f</i>	<i>%</i>
Algumas vezes ou nunca	29	72,5	14	53,8
Sempre ou quase sempre	11	27,5	12	46,2

Fonte: Direta

Comparações das freqüências das ITS nos grupos de mulheres portadoras ou não da infecção pelo HIV-1 mostram aumento significativamente maior da ocorrência de múltiplas ITS no grupo de portadoras do HIV-1 em comparação ao grupo de mulheres sem essa infecção ($p=0,0001$; $RR=\text{infinito}$). Outros tipos de ITS não mostraram diferenças significantes entre os dois grupos avaliados (Tabela 15).

Tabela 15 - Comparações das freqüências pelas infecções de transmissão sexual (ITS), em pacientes portadoras ou não da infecção pelo HIV-1.

ITS	HIV-1 +		HIV-1 -	
	<i>f</i>	%	<i>f</i>	%
Vaginite	10	25	5	19,2
Condiloma	15	37,5	10	38,4
Gonorréia	2	5,0	0	0
Herpes	1	2,5	0	0
Candidíase	3	7,5	2	7,6
HPV	40	100,0	26	100,0
Múltiplas	40	100,0	16	61,5

Fonte: Direta

4.4. INFECÇÃO PELO HPV

Todas as 66 pacientes foram identificadas como portadoras da infecção pelo HPV. Destas, 33/66(50,0%) apresentavam infecção pelo HPV tipo 16; 13/66 (19,6%) tinham o HPV tipo 18; 16/66(28,1%) apresentavam HPV tipo 31; 2/66 (3,8%) tinham HPV tipo 33; 23/66(37,8) apresentavam HPV tipo 35; 10/66(18,1%) tinham HPV tipo 52b; 3/66(6,5%) tinham HPV tipo 58, 12/66(23,%) apresentavam outros tipos não identificados de HPV e 38/66(57,5%) apresentaram mais de um tipo de HPV. Entre as pacientes portadoras da infecção pelo HIV-1, 3/40(7,5%) apresentavam o HPV 16; 1/40(2,5%) o HPV 18; 3/40(7,5%) apresentavam HPV tipo 31; 6/40(15,0 %) apresentavam HPV tipo 35; 1/40(2,5%) tinham HPV tipo 52b; 4/40 (10,0%) apresentavam outros tipos não identificados de HPV e 22/40(55,0%) apresentaram mais de um tipo de HPV.

Entre as pacientes sem a infecção pelo HIV-1, 5/26 (19,2%) apresentavam o HPV 16, 3/26 (11,5%) o HPV 18, 1/26 (3,8%) tinham HPV tipo 52b, 1/26 (3,8%) apresentavam outros tipos não identificados de HPV e 16/26 (61,5%) apresentaram mais de um tipo de HPV (Tabela 16).

Ao comparar a frequência de diferentes tipos de HPV nos grupos de mulheres portadoras ou não da infecção pelo HIV-1, as análises mostraram que o grupo de mulheres com HIV-1 apresentaram aumento significativo da co-infecção pelo HPV tipo 18 em comparação ao grupo de mulheres sem o HIV-1 ($p=0,02$; $RR=0,45$). De maneira similar, o aumento significativamente maior da presença da co-infecção pelo HPV tipo 35 foi detectado entre as mulheres com HIV-1 quando comparadas às mulheres sem o HIV-1 ($p=0,003$; $RR=1,8$). Por outro lado, a presença da infecção pelos HPV tipo 16 e/ou 18 foi significativamente menor entre as não portadoras do HIV-1 em comparação às mulheres com o HIV-1 ($p=0,006$; $RR=0,57$).

Tabela 16- Frequências das infecções por diferentes tipos de HPV em pacientes com ou sem a infecção pelo HIV-1

Infecção	Tipo de HPV	Pacientes					
		HIV-1- (n=26)			HIV-1+ (n=40)		
		ID	f	%	ID	f	%
Única	16	2,5,13,14,21	5	19,23	33,42,48	3	7,5
	18	10,22,23	3	11,53	36	1	2,5
	52b	8	1	3,84	54	1	2,5
	31	0	0	0	32,41,49,	3	7,5
	35	0	0	0	27,46,50,63,65,66	6	15
	NI	15	1	3,84	35,53,58,62	4	10
Dupla	16/18	1	1	3,84	0	0	0
	16/NI	9,16,17,20	4	15,34	0	0	0
	16/31	18	1	3,84	40,43,60	3	7,5
	16/35	0	0	0	38,39,44,51,55,57,61,64	8	20
	16/52b	19	1	3,84	45	1	2,5
	16/58	11	1	3,84	0	0	0
	18/58	3	1	3,84	0	0	0
	18/31	7,24	2	7,69	29	1	2,5
	18/NI	12	1	3,84	28	1	2,5
	NI/58	25	1	3,84	0	0	0
	31/52b	0	0	0	47	1	2,5
	35/52b	0	0	0	31	1	2,5
	31/35	0	0	0	37	1	2,5
	18/35	0	0	0	59	1	2,5
	16/33	0	0	0	52	1	2,5
Tripla	16/35/31	6	1	3,84	56	1	2,5
	16/35/52b	0	0	0	30	1	2,5
	35/31/52b	0	0	0	34	1	2,5
Quádrupla	16/33/35/52b	26	1	3,84	0	0	0
	18/35/31/52b	4	1	3,84	0	0	0

ID- identificação do paciente; NI- Tipo de HPV não identificado.

Fonte: Direta

4.5. TIPIFICAÇÃO DO POLIMORFISMO DA REGIÃO PROMOTORA DO TNF-308 e TNF-238

A tipificação do polimorfismo do TNF-308 para os alelos TNF-308*G e TNF-308*A, e do TNF-238 para os alelos TNF-238*G e TNF-238*A foi avaliada nos grupos de mulheres com ou sem a infecção pelo HIV-1.

TNF-308

O alelo TNF-308*G apresentou-se mais freqüente em relação ao alelo -308*A nos dois grupos analisados (Gráfico 2). Entretanto, quando a freqüência alélica foi comparada entre os diferentes grupos estudados, nenhuma diferença significativa foi observada. A distribuição da freqüência alélica do TNF-308 está demonstrada na Tabela 17.

TNF-238

O alelo TNF-238*G apresentou-se mais freqüente em relação ao alelo -238*A nos dois grupos analisados (Gráfico 3). A distribuição da freqüência alélica do TNF-238 está demonstrada na Tabela 18.

Comparações das freqüências encontradas nos grupos estudados mostraram que para o TNF-238, o alelo TNF-238*G apresentou-se significativamente aumentado entre pacientes com HIV-1 quando comparados aos pacientes sem HIV-1 ($p=0,00163$, OR= 0,7335).

Gráfico 2- Distribuição das frequências dos alelos do TNF-308 entre o grupo de pacientes com ou sem a HIV-1

Tabela 17- Distribuição das frequências dos alelos do TNF-308 entre o grupo de pacientes com ou sem a HIV-1

Alelos	TNF-308			
	Pacientes com HIV		Pacientes sem HIV	
	(n=40)		(n=26)	
	f	%	f	%
G	77	96,5	52	100
A	3	3,7	0	0

Fonte: Direta

Gráfico 3- Distribuição das frequências dos alelos do TNF-238 entre o grupo de pacientes com ou sem a HIV-1

Tabela 18- Distribuição das frequências dos alelos do TNF-238 entre o grupo de pacientes com ou sem a infecção pelo HIV-1

Alelos	TNF-238			
	Pacientes com HIV		Pacientes sem HIV	
	(n=40)		(n=26)	
	f	%	f	%
G	75	93,7	50	96,1
A	5	6,2	2	3,8

Fonte: Direta

Gráfico 4- Distribuição das frequências dos genótipos do TNF-308 entre o grupo de pacientes com ou sem a HIV-1 e controle

Tabela 19- Distribuição das frequências dos genótipos do TNF-308 entre o grupo de pacientes com ou sem a infecção pelo HIV-1

Genótipos	TNF-308			
	Pacientes com HIV		Pacientes sem HIV	
	(n=40)		(n=26)	
	f	%	f	%
GG	37	92,5	26	100
GA	3	7,5	0	0
AA	0	0	0	0

Fonte: Direta

Gráfico 5- Distribuição das frequências dos genótipos do TNF-238 entre o grupo de pacientes com ou sem a HIV-1 e controle

Tabela 20- Distribuição das frequências dos genótipos do TNF-238 entre o grupo de pacientes com ou sem a infecção pelo HIV-1

Genótipos	TNF-238			
	Pacientes com HIV		Pacientes sem HIV	
	(n=40)		(n=26)	
	f	%	f	%
GG	35	87,5	24	92,3
GA	5	12,5	2	7,6
AA	0	0	0	0

Fonte: Direta

DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

Os conhecimentos da estrutura molecular e da etiopatogenia da infecção pelo Vírus de Imunodeficiência Humana (HIV) evoluíram marcadamente, resultando cada vez mais em melhores possibilidades para o seu diagnóstico, prevenção e tratamento. Tem sido descrito o aumento do número de casos novos entre mulheres, atualmente, cerca de metade das pessoas que vivem com HIV/aids no mundo são mulheres (UNAIDS, 2007). Isto reflete o problema crescente nos países em desenvolvimento, incluindo o México. Assim, a infecção pelo HIV-1 e outras ITS em mulheres nos leva a implantar estratégias que respondam às necessidades para o cuidado destas pacientes. No México, o Programa de ação: HIV/aids e ITS, que se derivou do Programa Nacional de Saúde de 2001-2006, propôs o atendimento integral às pessoas com HIV-1; com a finalidade de ampliar os serviços de detecção e de atendimento especializado em todo o país. Após esta estratégia, foi revelada claramente a cara feminina da pandemia mexicana.

O número de mulheres que vivem com HIV/ aids no México tem aumentado, além disso, a mudança de proporção de uma mulher com aids para cada 26 homens, ocorrido há 20 anos, contrasta claramente com a presente proporção de um caso novo de mulher para quatro casos novos de homens, o qual demonstra a vulnerabilidade das mulheres frente ao risco para a infecção pelo HIV e outros vírus, como é o caso do HPV. Pelo anteriormente descrito, tem sido considerado que a infecção pelo HIV/aids não é apenas uma questão de saúde, mas de desigualdade de gênero, de equidade em oportunidades e de pobreza.

Considerando que: 1) as lesões cervicais são precursoras do câncer do colo uterino e uma das principais causas de morte feminina em países não industrializados; 2) estudos epidemiológicos e moleculares têm confirmado que a presença de infecção cervical por alguns tipos de papilomavírus humano (HPV) seja o fator precursor na patogênese do câncer cervical; 3) em mulheres portadoras do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1), a concomitância de infecção pelo HPV e lesão cervical é maior do que na população geral, apresentando risco relativo de 6,6 vezes; 4) existe polimorfismo de diversos genes que codificam componentes importantes da resposta imune, particularmente as citocinas; 5) alguns polimorfismos do TNF estão relacionados com o seu nível de produção e atividade; 6) as citocinas têm papel importante na defesa do organismo contra infecções virais,

seja indiretamente, na determinação do padrão de resposta imune deflagrada ou, diretamente, pela inibição da replicação viral; 7) há escassez de estudos que abordem a problemática dos fatores de risco para o desenvolvimento de lesões cervicais em mulheres mexicanas portadoras ou não de infecção pelo HIV-1; este trabalho analisou a influência de fatores comportamentais, imunológicos e virais no desenvolvimento de lesões cervicais neste grupo de mulheres.

No presente estudo participaram 66 mulheres mexicanas, portadoras ou não da infecção pelo HIV-1, apresentando lesões cervicais. Ao avaliar os aspectos sócio-comportamentais, a maioria estava casada legalmente ou em união consensual no momento da entrevista, com nível educacional fundamental e nível sócio-econômico baixo. Associado a isso, um porcentagem dos maridos eram migrantes dos Estados Unidos da América (EUA), em busca de emprego e melhores condições financeiras. Salgado de Snyder et al. (2000) falam da migração como um dos fatores determinantes para a aquisição de ITS em mulheres que são parceiras de homens migrantes que buscam melhores condições de vida, visto que as comunidades de origem geralmente se caracterizavam por ter limitações severas nos serviços de saúde, educação, segurança social, emprego e moradia. Ademais, desvantagens como a carência de recursos pessoais, sociais e econômicos também se somam às dificuldades encontradas neste grupo de pessoas. Estes dados corroboram os encontrados por Magis et al. (2000) que sugerem que as doenças infecciosas mais prevalentes nas comunidades “expulsoras” são principalmente as ITS e o HIV. Este estudo realizado no México também reporta que as esposas de migrantes, que não têm informações adequadas sobre a infecção pelo HIV, são vulneráveis para aquisição da infecção, especialmente em comunidades rurais do México.

Todas as pacientes arroladas no presente estudo apresentavam infecção pelo HPV e lesões cervicais. Ao explorar os aspectos da sexualidade, também encontramos uma alta percentagem de mulheres que iniciaram sua vida sexual antes dos 17 anos, descrito como fator de vulnerabilidade à infecção pelo HIV-1 ou algum tipo de HPV, já que as infecções contraídas na juventude têm maior risco de evoluir desfavoravelmente. Tem sido apontado que as lesões cervicais podem desenvolver-se mais rapidamente quando as células do colo uterino se encontram em estádios imaturos (SZAREWSKI, 2004).

Fernandes et al. (2004), mostraram que múltiplos tipos de HPV foram detectados mais freqüentemente nas pacientes portadoras do HIV-1. No atual estudo, o HPV do tipo 16 e/ou 18 foi significativamente mais freqüente entre as HIV positivas. Da mesma maneira, o HPV tipo 35 também foi encontrado significativamente mais freqüente nas mulheres com o HIV em comparação às não portadoras dessa infecção. Tais resultados em mulheres mexicanas estão em concordância com estudos realizados em brasileiras (FERNANDES et al., 2004) e em outras populações que mostram diferentes prevalências de HPV de tipos oncogênicos, que variam de 14,4% (HO et al., 1994), 67% (PETRY et al., 1994) até 93% (TWEDDEL et al., 1994).

Relativo à infecção pelo HIV-1, o número de pacientes portadoras desta infecção, que iniciaram a vida sexual após os 17 anos, foi significativamente maior do que as mulheres que não possuíam a infecção pelo HIV-1, no entanto, como já foi mencionado, este grupo de mulheres tinham como parceiros homens migrantes dos EUA, o que provavelmente pode estar associado com a aquisição da infecção pelo HIV-1. Além disso, Castellsagué et al. (2006) também relaciona o número de parceria sexual como um dos fatores, significativamente predisponentes, para a aquisição de ITS, confirmando os resultados obtidos neste estudo que mostrou que o grupo de pacientes com HIV-1 que relataram possuir entre 2-3 parceiros sexuais foi maior do que o grupo de mulheres sem o HIV-1. Adicionalmente, os parceiros sexuais de mulheres com o HIV-1 mantinham outras parcerias sexuais, sendo estas heterossexuais e/ou homossexuais.

Estudos prévios demonstraram que o maior desafio da saúde pública mexicana, para o controle da infecção pelo HIV e outras ITS (como o HPV), é o de promover o adequado uso de condom (RACHEL, et. al., 2004). Mulheres e homens relatam que não usam as camisinhas masculinas por muitas razões, entre elas o temor à reação do parceiro como a oposição ao uso, a falta de confiança no produto, a falta de acesso às camisinhas ou à redução da sensibilidade e prazer que se sente ao usá-los (RACHEL, et. al., 2004). Ao explorar o uso de condom, nossos resultados confirmam estudos prévios, visto que a maioria das mulheres pertencentes do grupo de portadoras HIV-1 referiram utilizar a camisinha só algumas vezes ou nunca.

Este dado é extremamente preocupante, pois sabe-se que, entre casais concordantes para a infecção pelo HIV, a transmissão de diferentes cepas do HIV podem interferir no tratamento. Ademais, foi observado que um grande número de parceiros dessas mulheres não estava infectado pelo HIV-1, colocando-os em alto risco para a aquisição de tal infecção.

Lesões cervicais e o câncer do colo do útero ocorrem comumente em pacientes imunocomprometidas, havendo rápida progressão das lesões cervicais e o aumento de sua recorrência em mulheres positivas para a infecção pelo HIV, condição que claramente define a disfunção imune local (MAIMAN et al., 1993; SHAMANIN et al., 1996). Além disso, Minkoff et al. (1998) mostraram que mulheres portadoras da infecção pelo HIV, seguidas por seis meses, apresentaram maior persistência e número de novas infecções por HPV oncogênicos do que mulheres que não apresentam a infecção pelo HIV.

O TNF-alfa, como um exemplo de citocina pró-inflamatória, não apenas pode apresentar papel importante na regressão de tumores, mas também pode atuar no controle imunológico das displasias cervicais entre mulheres infectadas com HPV de alto risco, como HPV 16 e HPV 18 (BACHMANN et al., 2002). Sabe-se que o TNF- α também representa uma importante citocina regulatória com funções de imunomodulação e inibição no desenvolvimento tumoral em queratinócitos infectados pelo HPV, que ainda não sofreram transformação maligna, suprimindo a transcrição dos oncogenes virais E6 e E7 (RÖSL et al., 1994).

A associação do polimorfismo de genes de citocinas nas manifestações de doenças está pautada pelo fato de que as diferenças polimórficas podem influenciar o nível de produção dessas citocinas. Este fato é baseado na observação de que indivíduos com diferenças polimórficas de citocinas também diferem nos níveis de citocinas produzidos em culturas de células *in vitro* (WARLÉ et al., 2003). Assim, os genes polimórficos de citocinas são denominados de “altos” ou “baixos” produtores, após a avaliação entre o genótipo e o padrão correspondente de produção de citocinas *in vitro* (REVIRON et al., 2001; TAMBUR et al., 2001). Embora resultados conflitantes sejam descritos, a maioria dos estudos descreve que os genótipos TNF-308AA ou 308GA estão associados com a alta produção de TNF (POCIOT et al., 1993; BOUMA et al., 1999; TAMBUR et al., 2001; REVIRON et al., 2001), ao passo que o genótipo -308GG esteja associado com baixa produção da citocina.

Similarmente, os resultados nas avaliações do SNP do TNF-238 também têm sido conflitantes. Huizinga et al. (1997) sugerem que o alelo -238G está associado com a alta produção do TNF-alfa, o que não foi confirmado pelo estudo realizado por Pociot et al. (1993).

Neste estudo, os resultados mostraram que as comparações da frequência do genótipo TNF-308 entre os grupos de pacientes não mostraram diferenças significantes. O gene da região promotora do TNF na posição -238 também foi avaliado e observamos que o alelo TNF-238G apresentou significativo aumento de sua frequência entre as pacientes com o HIV-1 em relação as pacientes sem o HIV-1. Visto que o alelo -238G está associado com a alta produção do TNF-alfa, este resultado sugere que tais mulheres apresentam respostas imunes locais mais apropriadas contra a instalação e progressão das lesões cervicais (HUIZINGA et al., 1997). Tal resultado nos sugere que devido a isto, as pacientes arroladas neste estudo, embora apresentem infecção ativa por HPV oncogênicos, elas não apresentam lesões cervicais de alto grau. Entretanto, sobre a interpretação destes dados, deve ser considerada algumas limitações. Esta análise não pode ser realizada de maneira mais adequada, pois os resultados dos exames de papanicolau (citologia genital triplíce) apresenta limitações e dificuldades na acreditação, devido ao fato de que algumas mulheres, inseridas neste estudo, que apresentavam resultados de lesões cervicais de baixo grau, morreram de câncer cérvico uterino. Este fato revela a fragilidade das análises e avaliações ginecológicas nos serviços de saúde referidos neste estudo.

Embora a infecção pelo HPV possa ser detectada pela citologia genital triplíce (exame preventivo do câncer do colo uterino) e/ou pelo anatomopatológico (mediante biópsia cervical colposcopicamente dirigida), freqüentemente, isto não é possível. No entanto, a presença do HPV pode ser confirmada com alto grau de precisão pela identificação do genoma viral nas lesões cervicais (BETTINI et. al, 2003).

Sendo a infecção pelo HPV um fator precursor para o desenvolvimento do câncer cervical, a detecção do genoma viral pode ser utilizada como estratégia de vigilância para identificar mulheres portadoras de tipos oncogênicos de HPV, susceptíveis à instalação e progressão das lesões cervicais. Se por um lado tem sido referido que a citologia triplíce possa ser utilizada, exclusivamente, com sucesso nos programas de prevenção do câncer do colo uterino.

Por outro lado, estudos recentes apontam que a detecção de infecção ativa e tipificação do HPV, juntamente com a citologia triplíce, pode ser utilizada como prevenção secundária, ainda que apresentando alto custo, mostrando-se como estratégia interessante para reduzir a morbi-mortalidade do câncer cervical em países não industrializados, que ainda apresentam limitações importantes nas avaliações citológicas como resultados falso-negativos advindos de erros na coleta, preparação e leitura das amostras citológicas. Limitações da citologia convencional, em especial, na amostragem celular são importantes, pois somente 10% a 20% das células colhidas são colocadas na lâmina. Além disso, há grande dificuldade na apropriada observação celular obtidas a partir de esfregaços irregulares (extensão e distribuição do material), espessos, purulentos, com intensa citólise e hemorrágicos. Dessa maneira, os resultados falso-negativos devem ser considerados, apresentando taxa de ocorrência em 5 a 30% na rotina laboratorial, dos quais, aproximadamente, 1 a 3 lâminas são consideradas negativas por interpretação incorreta, enquanto 2 a 3 lâminas tiveram coleta e processamento do material celular impróprios.

Adicionalmente, estudo recente, confrontando resultados de amostras citopatológicas com os obtidos através da reação em cadeia da polimerase (PCR), mostrou a presença do genoma do HPV em amostras que citopatologicamente não detectaram a positividade para esta infecção, sugerindo que análises citopatológicas podem não ser suficientes para identificar a presença da infecção pelo HPV, visto que a infecção pelo HPV é um fenômeno progressivo e, dependendo do tempo de infecção, sua presença ainda não foi capaz de causar alterações celulares detectáveis pelos métodos citopatológicos e anatomopatológicos convencionais.

Indubitavelmente, o profundo conhecimento sobre a etiopatogenia do câncer do colo uterino é um importante instrumento para fundamentar a assistência de enfermagem a mulheres sexualmente ativas, portadoras ou não de lesões cervicais e/ou da infecção pelo HIV-1, identificando a vulnerabilidade e susceptibilidade de pacientes apresentando fatores de risco associado à instalação e progressão das lesões e o câncer cervical.

Assim, intervenções com foco na prevenção e controle da infecção genital pelo HPV, utilizando estratégias de promoção da saúde através de orientação e educação para a saúde, enfocando o comportamento positivo com abordagens relativas à adoção de práticas de sexo seguro, potencialmente, podem reduzir os riscos de aquisição de HPV oncogênicos (HPV16 e HPV18), os tipos mais freqüentemente encontrados. Além disso, a enfermagem deve estar atenta aos programas de saúde da mulher para que a prevenção primária, através da citologia tríplice (exame de Papanicolaou) apresente adequada cobertura, acessibilidade e efetividade para essa população, e somando-se a isso, a enfermagem deve participar de discussões sobre outras estratégias para reduzir a morbi-mortalidade do câncer cervical como a inserção da prevenção secundária, utilizando metodologia inovadora e fidedigna como a biologia molecular.

CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

Com a metodologia empregada neste trabalho, concluímos que:

- 1) Condições sócio-culturais se hábitos sexuais estão envolvidos com a vulnerabilidade para a aquisição do HIV e HPV em mulheres mexicanas;
- 2) A infecção pelos HPV 16 e/ou HPV 18 e HPV 35 é mais freqüente em mulheres mexicanas portadoras do HIV-1;
- 3) O presente estudo sugere que a alternativa de utilizar técnicas de biologia molecular para a identificação e tipificação dos tipos oncogênicos do HPV seja uma estratégia importante para os programas de saúde da mulher.

**APLICABILIDADE PARA
EMFERMAGEM**

7. APLICABILIDADE PARA ENFERMAGEM

Neste estudo, procuramos entender alguns aspectos associados a imunogenética e os fatores do risco para o desenvolvimento das lesões cervicais nas mulheres com o sim HIV. Esta associação representa atualmente uma questão pouco elucidada pela ciência, possuindo inúmeros questionamentos provenientes dos próprios pacientes, que presumivelmente impulsiona a enfermagem para a melhor compreensão dessa patologia para que possa, dentro da sistematização de sua assistência, contribuir para a melhor condição de vida dessas pessoas.

A investigação na saúde e a enfermagem marcam um contínuo crescimento na qualificação do processo investigativo, para o incremento dos investimentos, para a política do progresso e para o fortalecimento da profissão entre outros. A Enfermagem reconhecida como uma ciência, profissão a nível universitário, com o início da formação de mestros na década do 70 e de doutores no 80, consolida-se gradualmente em suas especificidades e diversidades, articulando e integrando seus conhecimentos com os outros setores determinantes da vida e da saúde.

Alves et al. (2004), diz que o enfermeiro habilitado no desenvolvimento da pesquisa clínica, fundamentada no conhecimento das ciências básicas, pode oferecer importantes contribuições em diferentes áreas para a aplicação dos resultados da investigação, pois, conhecendo os mecanismos associados ao desenvolvimento de doenças, esse profissional pode ser capaz de refletir, de forma substancial, a respeito da intersecção entre os estados fisiológico e psicológico do paciente.

Dessa forma, podemos pressupor que a inserção da enfermagem na pesquisa de área básica voltada para a elucidação da problemática que envolve a infecção pelo HIV/aids, tem importante acréscimo no que diz respeito a melhoria da assistência aos portadores dessa patologia. Isso porque, o enfermeiro que acompanha ativamente a progressão da infecção pelo HIV entra em contato com a grande diversidade de problemas enfrentados pelo paciente, tanto em relação aos aspectos psicológico e sociais, quanto aos que dizem respeito a saúde biológica, como as questões imunológicas e genéticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; POBER, J.S. **Imunologia Celular e Molecular.**, 4 ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2003.
- AHMED, S.M., et al. Immunity in the female lower genital tract and the impact of HIV infection. **Scand. J. Immunol.**, v. 54, n. 1-2, p. 225-238, 2001.
- AHMED S.M., et al. The cellular response associated with cervical intraepithelial neoplasia in HIV+ and HIV- subjects. **Scand. J. Immunol.**, v. 56, n. 2, p. 204-211, 2002.
- AL SALEH, W., et al. Correlation of T-helper secretory differentiation and types of antigen-presenting cells in squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix. **J. Pathol.**, v. 184, n. 3, p. 283-290, 1998.
- ANDERSON M.C., et al. Current views on cervical intraepithelial neoplasia. **J. Clin. Pathol.**, v. 44, n. 12, p. 969-978, 1991.
- ARENDS, M.J., et al. HPV in full thickness cervical biopsies: high prevalence in CIN 2 and CIN 3 detected by a sensitive PCR method. **J. Pathol.**, v. 165, n. 4, p. 301-309, 1991.
- ARENDS, M.J., et al. Human papillomavirus type 18 associates with more advanced cervical neoplasia than human papillomavirus type 16. **Hum. Pathol.**, v. 24, n. 4, p. 432-437, 1993.
- ARENDS M.J., et al. Aetiology, pathogenesis, and pathology of cervical neoplasia. **J. Clin. Pathol.**, v. 51, n. 2, p. 96-103, 1998.
- BACHMANN, A., et al. Disturbance of tumor necrosis factor alpha-mediated beta interferon signaling in cervical carcinoma cells. **J. Virol.**, v. 76, n. 1, p. 280-291, 2002.
- BADARACCO, G., et al. HPV 16 and HPV 18 in genital tumors: Significantly different levels of viral integration and correlation to tumor invasiveness. **J. Med. Virol.**, v. 67, n. 4, p. 574-582, 2002.
- BANKS, L., et al. Identification of human papillomavirus type 18 E6 polypeptide in cells derived from human cervical carcinomas. **J. Gen. Virol.**, v. 68, n. 5, p. 1351-1359, 1997.

Referências apresentadas de acordo com Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), NBR 6023, 2002.

- BANKS, L. & CRAWFORD, L. Analysis of human papillomavirus type 16 polypeptides in transformed primary cells. **Virology**, v. 165, n. 1, p. 326-328, 1998.
- BARBARA JA, VAN OSTADE X, LOPEZ A. Tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha): the good, the bad and potentially very effective. **Immunol Cell Biol.**, v. 74, n. 5, p. 434-43, 1996.
- BELEC, L., et al. Proinflammatory cytokine expression in cervicovaginal secretions of normal and HIV-infected women. **Cytokine**, v. 7, n. 6, p. 568-574, 1995.
- BERMUDEZ, M., et al. Terapia génica con citocinas contra cáncer cervicouterino. **Salud Publica Mex.**, v. 47 p. 458-468, 2005.
- BETTINI JSR, SOARES EG, DUARTE G, SIMÕES RT. PCR diagnosis of HPV in cervical biopsies of CIN and invasive neoplasia formerly diagnosed as HPV negative. **Acta Cytologica.**, v. 47 n. 4, p. 545-549, 2003.
- BIBERFELD, G. et al. Characterization of HIV-Related Retroviruses: Criteria for characterization and proposal for a nomenclature system. **AIDS.**, v. 1, p. 189-190, 1997.
- BIDWELL, J., et al. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. **Genes Immun.**, v. 1, n. 1, p. 3-19, 1999.
- BIDWELL, J., et al. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases, supplement 1. **Genes Immun.**, v. 2, n. 2, p. 61-70, 2001.
- BILBAO, I., et al. Diez aportaciones del empleo de la metodología cualitativa en una auditoria de comunicación interna en AP. **Revista Española de Salud Publica**, v. 76, n. 5 p. 483-492, 2002.
- BOND EF, HEITKEMPER MM. Physiological nursing science: emerging directions. **Res Nurs Health**, v. 24, n. 5 p. 345-348, 2001.
- BOSCH F.X., et al. Risk factors for cervical cancer in Colombia and Spain. **Int. J. Cancer**, v. 52, n. 5, p. 750-758, 1992.
- BOSCH, F.X. et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 87, p. 796-802, 1995.
- BOUMA, M.J. et al. Predicting high-risk years for malaria in Colombia using parameters of El Niño–Southern Oscillation. **Tropical Medicine and International Health**, v. 2, p. 1122–1127, 1996.

- BRANDTZAEG, P., et al. Immunobiology and immunopathology of human gut mucosa: humoral immunity and intraepithelial lymphocytes. **Gastroenterology**, v. 97, n. 6, p. 1562-1584, 1989.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **AIDS Boletim Epidemiológico**, v. 16, n. 1, 2002.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Instituto Nacional do Câncer (INCA)**, Câncer no Brasil: dados dos registros de base populacional. Rio de Janeiro, 2002.
- BRAUN, L. Role of human immunodeficiency virus infection in the pathogenesis of human papillomavirus-associated cervical neoplasia. **Am. J. Pathol.**, v. 144, p. 209-214, 1994.
- BRINTON, L.A., et al. Sexual and reproductive risk factors for invasive squamous cell cervical cancer. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 79, p. 23-30, 1987.
- BRINTON, L.A., et al. Parity as a risk factor for cervical cancer. **Am. J. Epidemiol.**, v. 130, p. 486-496, 1989.
- BRINTON, L.A., et al. Risk factors for cervical cancer by histology. **Gynecol. Oncol.**, v. 51, n. 3, p. 301-306, 1993.
- BROSO, P.R. & BUFFETTI G. The Papanicolaou classification in the Bethesda system (National Cancer Institute, Bethesda, Maryland) **Minerva Ginecol.**, v. 45, n.11, p. 557-563, 1993.
- BURK, R.D., et al. Sexual behavior and partner characteristics are the predominant risk factors for genital human papillomavirus infection in young women. **J. Infect. Dis.**, v. 174, n. 4, p. 679-689, 1996.
- CARTER, J.J., et al. The natural history of human papillomavirus type 16 capsid antibodies among a cohort of university women. **J. Infect. Dis.**, v. 174, n. 5, p. 927-936, 1996.
- CARROLL, M. C. et al. Linkage or resistance to lysis by alloreactive natural killer cells is governed by agene in the humam major histocompatibility complex between BF and HLA-B. **Proc Nalt Acad Sci.**, v. 87, p. 9794-9799, 1990.
- CASTAÑEDA, I. M. et al. Factores de riesgo para cáncer cérvico-uterino en mujeres de Zacatecas. **Salud Pública de México**, v. 40, n. 4, p. 19-26, 1998.
- CASTELLSAGUÉ, et al., Worldwide Human Papillomavirus Etiology of Cervical Adenocarcinoma and Its Cofactors: Implications for Screening and Prevention. **JNCI.**, v. 98, n. 5, p. 303-315, 2006.

- CAVALCANTI, S.M.B., et al. Infecções causadas por papilomavírus humanos: correlação da colposcopia, citologia, histopatologia e hibridização in situ. **J. Bras. Patol.**, v. 33, p. 62-69, 1997.
- CAVALCANTI, S.M., et al. Epidemiological aspects of human papillomavirus infection and cervical cancer in Brazil. **J. Infect.**, v. 40, n. 1, p. 80-87, 2000.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Revised classification system for HIV-1 infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults, **JAMA.**, v. 269, n. 6, p. 729-730, 1993.
- CENTRO NACIONAL PARA LA PREVENCIÓN Y EL CONTROL DEL VIH/SIDA(México). Disponível em: <http://www.salud.gob.mx/conasida/>. Acesso em 08 Dezembro 2007.
- CHIN-HONG, P. V. Diagnostic tests for HPV infection. **MLO Med Lab Obs.**, v. 10, n. 2, p. 6-10, 2004.
- CLERICI, M. & SHEARER, G.M. The Th1-Th2 hypothesis of HIV infection: new insights. **Immunol. Today**, v. 15, n. 12, p. 575-581, 1994.
- CLERICI, M., et al. Human immunodeficiency virus (HIV) phenotype and interleukin-2/ interleukin-10 ratio are associated markers of protection and progression in HIV infection. **Blood**, v. 88, n. 2, p. 574-579, 1996.
- CLERICI, M., et al. Cytokine production patterns in cervical intraepithelial neoplasia: Association with human papillomavirus infection. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 89, n. 3, p. 245, 1997.
- CLIFFORD, G.M., et al. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. **Br. J. Cancer**, v. 88, n. 1, p. 63-73, 2003.
- COLEMAN, N. & STANLEY, M.A. Characterization and functional analysis of the expression of vascular adhesion molecules in human papillomavirus-related disease of the cervix. **Cancer**, v. 74, n. 3, p. 884-892, 1994.
- CROFT, M. Activation of naive, memory and effector T cells. **Curr. Opin. Immunol.**, v. 6, n. 3, p. 431-437, 1994.
- COOMBS R. Human Immunodeficiency Virus Infection and the Acquired Immunodeficiency Syndrome: viral pathogenesis, laboratory diagnosis and monitoring. **Atlas of Sexually Transmitted Diseases and AIDS.**, 3th ed. p. 177-195, 2003.

- CROWLEY-NOWICK P.A., et al. Cytokine profile in genital tract secretions from female adolescents: impact of human immunodeficiency virus, human papillomavirus, and other sexually transmitted pathogens. **J. Infect. Dis.**, v. 181, n. 3, p. 939-945, 2000.
- CRUESS, D.G., et al. Depression and HIV infection: impact on immune function and disease progression. **CNS Spectr.**, v. 8, n. 1, p. 52-58, 2003.
- CUNHA-NETO E., et al. Cytokine production profile of heart-infiltrating T cells in Chagas' disease cardiomyopathy. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 31, n. 1, p. 133-137, 1998.
- DE CLERCQ, E. HIV resistance to reverse transcriptase inhibitors. **Biochem Pharmacol.**, v. 20, n. 47, p. 155-169, 1994.
- DE GRUIJL, T.D., et al. Immune responses against human papillomavirus (HPV) type 16 virus-like particles in a cohort study of women with cervical intraepithelial neoplasia. I. Differential T-helper and IgG responses in relation to HPV infection and disease outcome. **J. Gen. Virol.**, v. 80, n. 2, p. 399-408, 1999.
- DEL PRETE, G., et al. CD30, Th2 cytokines and HIV infection: a complex and fascinating link. **Immunol. Today**, v. 16, n. 2, p. 76-80, 1995.
- DE PALO, G & VECCHIONE, A. Neoplasia intra-epitelial do colo uterino. In: DE PALO, G. ed. **Colposcopia e patologia do trato genital inferior.**, Rio de Janeiro, Ed. Medsi. p. 265-311, 1996.
- DE VILLIERS, E.M. Papillomavirus and HPV typing. **Clin. Dermatol.**, v. 1, n. 2, p. 199-206, 1997.
- DREYFUS, M., et al. Seric and local antibodies against a synthetic peptide of HPV 16. **Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.**, v. 59, n. 2, p. 187-191, 1995.
- DYSON, N., et al. The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. **Science**, v. 243, n. 4893, p. 934-937, 1989.
- EDWARDS, J.N. & MORRIS, H.B. Langerhans' cells and lymphocyte subsets in the female genital tract. **Br. J. Obstet. Gynaecol.**, v. 92, n. 9, p. 974-982, 1985.
- ELLERBROCK, T.V., et al. Incidence of cervical squamous intraepithelial lesions in HIV-infected women. **JAMA**, v. 283, n. 8, p. 1031-1037, 2000.
- EI-SHERIF, A.M., et al. Quantitative analysis of IL-10 and IFN-gamma mRNA levels in normal cervix and human papillomavirus type 16 associated cervical precancer. **J. Pathol.**, v. 195, n. 2, p. 179-185, 2001.

- ELUF-NETO, J., et al. Human papillomavirus and invasive cervical cancer in Brazil. **Br. J. Cancer**, v. 69, p. 114-119, 1994.
- ESKDALE, J., et al. Interleukin 10 secretion in relation to human IL-10 locus haplotypes. **Immunology**, v. 95, p. 9465-9470, 1998.
- FEINGOLD, A.R., et al. Cervical cytologic abnormalities and papillomavirus in women infected with human immunodeficiency virus. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 3, p. 896-903, 1990.
- FERNANDES, APM, GIR E. Adhesión a la terapia antiretroviral. **Informativo Latino Americano de Enfermería**, v. 42, n.5, p. 41-47, 2002.
- FERNANDES, A.P.M. Polimorfismo e níveis intralesionais de citocinas em lesões cervicais associadas à infecção pelo papilomavírus humano em mulheres com ou sem a infecção pelo HIV-1. [Tese]. Ribeirão Preto (SP): Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP; 2003.
- FERNANDES, A. P. M. et al. Influência da infecção pelo HIV-1 sobre a presença do HPV em lesões do colo uterino. **J Bras Doenças Sex Transm.**, v. 16, n. 1 p. 21-25, 2004.
- FERNANDES, A.P.M.; GONÇALVES M.A.; SIMÕES, R.T.; QUINTANA, S.M.; DUARTE, G.; DONADI E. Influence of the HPV-16 on IL-10 intralesional production in immunogenetically responsive women carrying HIV-1 infection. **J Bras Doenças Sex Transm.**, v. 16, n. 3 p. 67-72, 2004.
- FERNANDES, A.P.; GONCALVES, M. A. G. ; DUARTE, G. ; CUNHA, F. Q. ; SIMÕES, R. T. ; DONADI, E. A. . HPV16, HPV18 and HIV infection may influence cervical cytokine intralesional levels. **Virology**, v. 10, n. 334, p.294-298,2005.
- FIGUEIREDO, RM, SINKOC VM, TOMAZIN C, GALLANI MCB, COLOMBRINIMRC. Adesão de pacientes com AIDS ao tratamento com anti-retrovirais: dificuldades relatadas e proposição de medidas atenuantes em um hospital escola. **Rev Lat AM Enferm.**,v.9 n.4,p:50-5, 2001.
- FRANCO, E.L. Cancer causes revisited: human papillomavirus and cervical neoplasia (editorial). **Natl. Cancer Inst.**, v. 87, p. 779-780, 1995.
- FRANCO, E.L., et al. Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high-risk area for cervical cancer. **J. Infect. Dis.**, v. 180, n. 5, p. 1415-1423,1999.
- FRANCO, E.L. et al. The epidemiology of cervical cancer. **Cancer J.**, v. 9, n. 5, p. 348-359, 2003.

- FUKUHARA, Y.D., et al. Increased plasma levels of IL-1beta, IL-6, IL-8, IL-10 and TNF-alpha in patients moderately or severely envenomed by Tityus serrulatus scorpion sting. **Toxicon**, v. 41, n. 1, p. 49-55, 2003.
- GALLAGHER, D.M. Clinical issues impacting the lives of patients living with HIV/AIDS., **J Assoc Nurses AIDS Care**., n.18, v.1, p.11-16, 2007.
- GALLI, M; RIDOLFO AL; ADORNI, F; CAPPELLETTI, A; MORELLI P; MASSETTO B; PIAZZA M; GIANELLI E; VACCAREZZA M; GERVASONI C; MORONI M. Correlates of risk of adipose tissue alterations and their modifications over time in HIV-1-infected women treated with antiretroviral therapy. **Antivir Ther**., v. 8, n. 4, p. 347-54, 2003.
- GAMBLE, J. R. HARLAN, J. M., KLEBANOFF, S. J., AND VADAS, M. A. Stimulation of the adherence of neutrophils to umbilical vein endothelium by human recombinant tumor necrosis factor. **Proc Natl Acad Sci U S A**., v. 82, n. 24, p. 8667-71, 1985.
- GARZETTI, G.G., et al. Cervical dysplasia in HIV-seropositive women: role of human papillomavirus infection and immune status. **Gynecol. Obstet. Invest.**, v. 40, n. 1, p. 52-56, 1995.
- GELDERBLOM, H. A. Assembly and morphology of HIV type 1. **AIDS Res Hum Retroviruses**., v. 15, p. 273 -283,1999.
- GHADERI, M., et al. Tumor necrosis factor a-11 and DR15-DQ6 (B*0602) haplotype increase the risk for cervical intraepithelial neoplasia in human papillomavirus 16 seropositive women in Northern Sweden. **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.**, v. 9, n. 10, p. 1067, 2000.
- GHADERI, M., et al. Tumor necrosis factor A and MHC class I chain related gene A (MIC-A) polymorphisms in Swedish patients with cervical cancer. **Hum. Immunol.**, v. 62, n. 10, p. 1153-1158, 2001.
- GIANNINI, S.L., et al. Cytokine expression in squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix: implications for the generation of local immunosuppression. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 113, n. 2, p. 183-189, 1998.
- GIANNINI, S.L., et al. Influence of the mucosal epithelium microenvironment on Langerhans cells: implications for the development of squamous intraepithelial lesions of the cervix. **Int. J. Cancer**, v. 97, n. 5, p. 654-659, 2002.
- GONÇALVES, M.A., et al. Relationship between human papillomavirus (HPV) genotyping and genital neoplasia in HIV-positive patients of Santos City, Sao Paulo, Brazil. **Int. J. STD AIDS**, v. 10, n. 12, p. 803-807, 1999.
- GONÇALVES, M.A., et al. Risk factors associated with genital warts in HIV-positive Brazilian women. **Tumori**, v. 89, n. 1, p. 9-15, 2003.

- GONCALVES, M. A. G. ; SOARES, E. G. ; FERNANDES, A. ; FONSECA, B. A. ; BETTINI, J. R. ; SIMÕES, R. T. ; DONADI, E. A. . Langerhans' cell count and HLA class II profile in cervical intraepithelial neoplasia in the presence or absence of HIV infection. **European Journal of Obstetricia & Gynecology ReproductiveBiology, Hungria**, v. 15, n. 114, p. 221-227, 2004.
- GONZÁLEZ, M.A., et al. HPV and Carcinogenesis. **Acta Dermatolvenereol**, v. 11, n. 3, p. 1-8, 2002.
- GUO S.W. , THOMPSON E. A. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. **Biometrics**, v. 48, p. 361-372, 1992.
- GRAVITT, P.E., et al. Correlates of IL-10 and IL-12 concentrations in cervical secretions. **J. Clin. Immunol.**, v. 23, n. 3, p. 175-183, 2003.
- HAJEER AH, & HUTCHINSON IV. Influence of TNF alpha gene polymorphism on TNF alpha production and disease. **Human Immunol.**, v. 62, n. 11, p. 1191-1199, 2001.
- HAJEER AH & HUTCHINSON IV. TNF-alpha gene polymorphism: clinical and biological implications. **Microsc Res Tech.**, v. 50, n. 3, p. 216-28, 2000.
- HANNA GJ, D'AQUILA, RT. Clinical use of genotypic and phenotypic drug resistance testing to monitor antiretroviral chemotherapy. **Clin Infect Dis.**, v.32, p:774-781, 2001.
- HART, D.N. Dendritic cells: unique leukocyte populations which control the primary immune response. **Blood**, v. 90, n. 9, p. 3245-3287,1997.
- HASSIG, A., et al. The role of the Th-1 to Th-2 shift of the cytokine profiles of CD4 helper cells in the pathogenesis of autoimmune and hypercatabolic diseases. **Med. Hypotheses**, v. 51,n. 1, p. 59-63, 1998.
- HAUKIM, N., et al. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. **Genes Immun.**, v. 3, n. 6, p. 313-330, 2002.
- HEARD, I., et al. Highly active antiretroviral therapy enhances regression of cervical intraepithelial neoplasia in HIV-seropositive women. **AIDS**, v. 16, n. 13, p. 1799-1802, 2002.
- HENRY, I. Worldwide Molecular Epidemiology of HIV. **Rev Saúde Pública.**, v. 40, n. 2, p. 331-45, 2006.
- HERRERO, R., et al. Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 92, n. 6, p. 464-474, 2000.
- HO, G.Y.F.; et al. Risk of genital human papillomavirus infection in women with human immunodeficiency virus-induced immunosuppression. **Int. J. Cancer**, v. 56, p. 788-792,1994.

- HO, G.Y.F., et al. Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 87, p. 1365-1371, 1995.
- HOOK, E.W., et al. Herpes simplex virus infection as a risk factor for human immunodeficiency virus infection in heterosexuals. **J. Infect. Dis.**, v. 165, n. 2, p. 251-255, 1992.
- HONCHEL, R., MCDONNELL, S., SCHAID, D. J., AND THIBODEAU, S. N. Tumor necrosis factor-alpha allelic frequency and chromosome 6 allelic imbalance in patients with colorectal cancer. **Cancer Res.**, v. 56, n. 1, p. 145-149, 1996.
- HOPFL, R., et al. High prevalence of high risk human papillomavirus-capsid antibodies in human immunodeficiency virus-seropositive men: a serological study. **BMC Infect. Dis.**, v. 3, n. 1, p. 6, 2003.
- HOWLEY, P.M. Role of human papillomaviruses in human cancer. **Cancer Res.**, v. 51, p. 5019-5022, 1991.
- HUBBARD, R.A. Human papillomavirus testing methods., **Arch Pathol Lab Med.**, v. 127, p. 940-945, 2003.
- HUIZINGA, T, WESTENDORP R, et al. TNF-alpha promoter polymorphism production and susceptibility to multiple sclerosis in different groups of patients. **J Neuroimmunol.**, v. 72, p:149-53, 1997.
- HU, D.J. The Emerging Genetic Diversity of HIV. The importance of global surveillance for diagnostics, research and prevention. **JAMA.**, v. 275, p. 210-215, 1996.
- HULLEY PA, CONRADIE MM, LANGEVELDT CR, HOUGH FS. Glucocorticoid-induced osteoporosis in the rat is prevented by the tyrosine phosphatase inhibitor, sodium orthovanadate. **Bone.**, v. 31, p. 220-229, 2002.
- HUTCHINSON, I.V., et al. Identification of high and low responders to allografts. **Rev. Immunogenet.**, v. 1, p. 323-333, 1999.
- HWANG, T. Detection and typing of human papillomavirus DNA by PCR using consensus primers in various cervical lesions of Korean women. **J. Korean med. Sci.**, v. 14, p. 593-599, 1999.
- JANG WH, YANG YI, YEA SS, LEE YJ, CHUN JH, KIM HI, KIM MS, PAIK KH. The -238 tumor necrosis factor-alpha promoter polymorphism is associated with decreased susceptibility to cancers. **Cancer Lett.**, v. 10. n. 66, p. 41-46, 2001.

- JEON, S., et al. Integration of human papillomavirus type 16 into the human genome correlates with a selective growth advantage of cells. **J. Virol.**, v. 69, n. 5, p. 2989-2997, 1995.
- JOHNSON, J.C., et al. High frequency of latent and clinical human papillomavirus cervical infections in immunocompromised human immunodeficiency virus-infected women. **Obstet. Gynecol.**, v. 79, p. 321-327, 1992.
- JOHNSON, J.A. et. al. Increased systemic and adipose tissue cytokines in patients with HIV-associated lipodystrophy. **Am J Physiol Endocrinol Metab.**, v. 286, n. 2, p. 261-271, 2004.
- JUSZCZYNSKI P. et. al. Comparison study for genotyping of a single-nucleotide polymorphism in the tumor necrosis factor promoter gene. **Diagn Mol Pathol.**, v.11, n. 4, p. 228-233, 2002.
- KADISH, A.S., et al. Lymphoproliferative responses to human papillomavirus (HPV) type 16 proteins E6 and E7: outcome of HPV infection and associated neoplasia. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 89, n. 17, p. 1285-1293, 1997.
- KJELLBERG, L., et al. Sexual behaviour and papillomavirus exposure in cervical intraepithelial neoplasia: a population-based case-control study. **J. Gen. Virol.**, v. 80, n. 2, p. 391-398, 1999.
- KJELLBERG, L., et al. Smoking, diet, pregnancy and oral contraceptive use as risk factors for cervical intra-epithelial neoplasia in relation to human papillomavirus infection. **Br. J. Cancer**, v. 82, n. 7, p. 1332-1338, 2000.
- KNERER, B., HULLA, W., MARTINEK, H., FORMANEK, M., TEMMEL, A., AND KORNFEHL, J. IL-1 and TNF-alpha but no IL-2 expression is found in squamous cell carcinomas of the head and neck by RT-PCR. **Acta Otolaryngol.**, v. 1, n. 116, p. 132-136, 1996.
- KNIGHT, J.C., et al. A polymorphism that affects OCT-1 binding to the TNF promoter region is associated with severe malaria. **Nat. Genet.**, v. 22, n. 2 p. 145, 1999.
- KOBAYASHI, T.K., et al. Cytology of high-grade squamous intraepithelial lesion in Japanese-Brazilian women with HIV infection with polymerase chain reaction-assisted human papilloma virus detection. **Diagn. Cytopathol.**, v. 26, n. 4, p. 268-271, 2002.
- KOROMILAS A.E., et al. Control of interferon signaling in human papillomavirus infection. **Cytokine Growth Factor Rev.**, v. 12, n. 2, p. 157-170, 2001.

- KOUTSKY, L.A., et al. A cohort study of the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomavirus infection. **New Engl. J. Med.**, v. 327, p. 1272-1278, 1992.
- KOZIEL, M.J. Cytokines in viral hepatitis. **Semin. Liver Dis.**, v. 19, n. 2, p. 157-169, 1999.
- KROEGER KM, CARVILLE KS, ABRAHAM LJ. The -308 tumor necrosis factor-alpha promoter polymorphism effects transcription. **Mol. Immunol.**, v. 34, n. 5, p. 391-9, 1997.
- KURMAN, R.J. & SOLOMON, D. The Betesda system for reporting cervical/vaginal cytologic diseases: definitions, criteria, and explanatory notes for terminology and specimen adequacy. **New York, Springer-Verlag**, 1994.
- KUTTEH, W.H. & MESTECKY, J. Secretory immunity in the female reproductive tract. **Am. J. Reprod. Immunol.**, v. 31, n. 1, p. 40-46, 1994.
- LAZCANO-PONCE, E.C. et al. Cervical cancer screening in developing countries: why is it ineffective? The case of Mexico. **Archives of Medical Research**, v. 30, p. 240-250, 1999.
- LAI, P.K., et al. Cytokine regulation of the human immunodeficiency virus (HIV). **Int. J. Immunopharmacol.**, v. 13, n. 1, p. 55-61, 1991.
- LEE, B.N., et al. Synthesis of IFN-gamma by CD8(+) T cells is preserved in HIV-infected women with HPV-related cervical squamous intraepithelial lesions. **Gynecol. Oncol.**, v. 75, n. 3, p. 379-386, 1999.
- LEDRU, E, et al. Alteration of tumor necrosis factor-alpha T-cell homeostasis following potent antiretroviral therapy: contribution to the development of human immunodeficiency virus-associated lipodystrophy syndrome. **Blood.**, v. 95, n. 10, p. 3191-3198, 2000.
- LORINCZ, A., et al. Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. **Obstet. Gynecol.**, v. 79, p. 328-337, 1992.
- MCGUIRE, W., et al. Variation in the TNF-alpha promoter region associated with susceptibility to cerebral malaria. **Nature**, v. 371, n. 6497, p. 508-510, 1994.
- MAGIS, C. et al. Uso del condón entre adolescentes mexicanos para la prevención de las infecciones de transmisión sexual. **Salud Publica Mex.**, v.45, n. 5, p. S632-S640, 2003.

- MAGIS, C. et al. HIV/AIDS Risk Factors for Injection Drug Users in Tijuana. **Revista Salud Fronteriza.**, v.2, p: 31-4, 1997.
- MAGIS, C.; RODRÍGUEZ, E.; RIVERA, P. AIDS in Mexico in the year 2000. **AIDS Angles Series.**,v. 1, p: 13-26, 2000.
- MAGIS, C. Migration and AIDS in Mexico: An Overview Based on Recent Evidence. **Acquired Immune Deficiency Syndrome**,v. 37, p: 1-11, 2004.
- MAGGI, E., et al. Reciprocal regulatory effects of IFN-gamma and IL-4 on the in vitro development of human Th1 and Th2 clones. **J. Immunol.**, v. 148, n. 7, p. 2142-2147, 1992.
- MAIMAN, M., et al. Human deficiency virus infection and invasive cervical carcinoma. **Cancer**, v. 71, p. 404, 1993.
- MAIMAN M. Management of cervical neoplasia in human immunodeficiency virus-infected women. **J. Natl. Cancer Inst. Monogr.**, v. 23, p. 43-49, 1998.
- MAJEWSKI, S., et al. TGF beta-1 and TNF alpha expression in the epidermis of patients with epidermodysplasia verruciformis. **J. Invest. Dermatol.**, v. 97, n. 5, p. 862-867,1991.
- MANCHESTER, K.M., et al. Tumour necrosis factor-induced cytotoxicity is accompanied by intracellular mitogenic signals in ME-180 human cervical carcinoma cells. **Biochem. J.**, v. 290, p. 185-190,1993.
- MANOS, M.M., et al. The use of polymerase chain reaction amplification for the detection of human papillomaviruses. In: FURTH, M. e GREAVES, M., eds. Molecular diagnostic of Human Cancer, Cancer Cells, New York: Cold Spring Harbor Press. p. 209-14,1989.
- MATTHIAS, C. et al., Influence of tumour necrosis factor microsatellite polymorphisms on susceptibility to head and neck cancer. **Acta Otolaryngol.**, v. 118, n. 2, p. 284-288, 1998.
- MATSUZAKA, Y., et al. New polymorphic microsatellite markers in the human MHC class III region. **Tissue Antigens**, v. 57, n. 5, p. 397-404, 2001.
- MEDINA E., et al. Health care in the metropolitan region: comparison of 1977 and 1983 surveys **Rev. Med. Chil.**, v. 113, n. 10, p. 1007-1015, 1985.
- MEISELS A. & FORTIN R. Condylomatous lesions of the cervix and vagina. I.Cytologic patterns. **Acta Cytol.**, v. 20, p. 505-509, 1976.
- MESTECKY, J. & RUSSELL, M.W. Mucosal immunoglobulins and their contribution to defence mechanisms: an overview. **Biochem. Soc. Trans.**, v. 25, n. 2, p. 457-462, 1997.

- MILLER, S.A., et al. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Res.**, v. 16, n. 3, p. 1215, 1988.
- MINKOFF, H., et al. A longitudinal study of human papillomavirus carriage in human immunodeficiency virus-infected and human immunodeficiency virus-uninfected women. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 178, n. 5, p. 982-986, 1998.
- MINKOFF, H., et al. The effect of highly active antiretroviral therapy on cervical cytologic changes associated with oncogenic HPV among HIV-infected women. **AIDS**, v. 15, n. 9, p. 2157-2164, 2001.
- MORRIS, P.J., et al. The octamer binding site in the HPV 16 regulatory region produces opposite effects on gene expression in cervical and non-cervical cells. **Nucleic. Acids. Res.**, v. 21, n. 4, p. 1019-1023, 1993.
- MOSCICKI, A.B. Genital infections with human papillomavirus (HPV). **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 17, n. 7, p. 651-652, 1998.
- MOSMANN, T.R., et al. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. **J. Immunol.**, v. 136, n. 7, p. 2348-2357, 1986.
- MOSMANN, T.R. Cytokine secretion patterns and cross-regulation of T cell subsets. **Immunol. Res.** v. 10, p. 183-188, 1991.
- MOTA, F., et al. The antigen-presenting environment in normal and human papillomavirus (HPV)-related premalignant cervical epithelium. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 116, n. 1, p. 33-40, 1999.
- MUÑOZ, N., et al. The causal link between human papillomavirus and invasive cervical cancer: a population case-control study in Colombia and Spain. **Int. J. Cancer**, v. 52, p. 743-749, 1992.
- NAKAO, Y., et al. Malignant transformation of human ectocervical cells immortalized by HPV 18: in vitro model of carcinogenesis by cigarette smoke. **Carcinogenesis**, v. 17, n. 3, p. 577-583, 1996.
- NAYLOR, M.S., et al. Tumor necrosis factor and its receptors in human ovarian cancer. Potential role in disease progression. **J. Clin. Invest.**, v. 91, n. 5, p. 2194-2206, 1993.
- OLAITAN, A., et al. The distribution of immunocompetent cells in the genital tract of HIV-positive women. **AIDS**, v. 10, p. 759-764, 1996.
- OLAITAN, A. & Johnson M.A. Cervical intraepithelial neoplasia in women with HIV. **J. Int. Assoc. Physicians AIDS Care**, v. 3, n. 5, p. 15-17, 1997.

- OLAITAN, A., et al. Changes to the cytokine microenvironment in the genital tract mucosa of HIV+ women. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 112, n. 1, p. 100-104, 1998.
- ORTIZ, G. et al. Círculos virtuosos y círculos viciosos: crecimiento y reducción de la pobreza en América Latina. Banco de México, 2006 [consultado 2006 sept 14]. Disponible en: www.banxico.org.mx/gPublicaciones/Seminarios/RelacionesExternas/banxicoFHT.pdf
- PALEFSKY, et al. Sexually Transmitted Human Papillomaviruses. **Current Concepts and Control Issues.**, v.6, n. 2, p. 8-15, 1995.
- PARKIN, D.M., et al. Global cancer statistics. **CA Cancer J. Clin.**, v. 49, n. 1, p. 33-64, 1999.
- PEREIRA, S.R.M. Diagnóstico da infecção pelo papilomavírus humano. Estudo comparativo entre dados epidemiológicos, clínicos, citologia e histopatologia de biópsias dirigidas e provas de biologia molecular. São Paulo, 1997. [Dissertação de Tese de Mestrado - Escola Paulista de Medicina].
- PETRY, K.U., et al. Cellular immunodeficiency enhances the progression of human papillomavirus-associated cervical lesions. **Int. J. Cancer**, v. 57, p. 836-840, 1994.
- PISANI, P., et al. Erratum: Estimates of the worldwide mortality from 25 cancers in 1990. **Int. J. Cancer**, v. 83, p. 18-29 (1999). **Int J Cancer.**, v. 83, n. 6, p. 870-873, 1999.
- POCIOT F, BRIANT L, JONGENEEL CV, MOLVIG J, WORSAAE H, ABBAL M, THOMSEN M, NERUP J, CAMBON-THOMSEN A. Association of tumor necrosis factor (TNF) and class II major histocompatibility complex alleles with the secretion of TNF-alpha and TNF-beta by human mononuclear cells: a possible link to insulin-dependent diabetes mellitus. **Eur J Immunol.**, v. 23, n. 1, p. 224-31, 1993.
- PURNELL JQ, ZAMBON A, KNOPP RH, PIZZUTI DJ, ACHARI R, LEONARD JM, LOCKE C, BRUNZELL JD. Effect of ritonavir on lipids and post-heparin lipase activities in normal subjects. **AIDS.**, v. 14 n. 1, p. 51-7, 2000.
- POLI, G. & FAUCI, A.S. The role of monocyte/macrophages and cytokines in the pathogenesis of HIV infection. **Pathobiology**, v. 60, n. 4, p. 246-251, 1992.
- POLIT DF. & HUNGLER. Investigación científica en ciencias de la salud. 6° edición. McGraw-Hill Interamericana. p.90-91, 2000.
- PONTEN J, GUO Z. Precancer of the human cervix. **Cancer Surv.**, 1998;32:201-229.

- PUROLA, E. & SAVIA, E. Citology of gynecologic condyloma acuminatum. **Acta Cytol.**, v. 21, p. 26, 1977.
- RACHEL, K. et. al. Confidential Reproductive Health Services for Minors: The Potential Impact of Mandated Parental Involvement for Contraception. **Perspectives on Sexual and Reproductive Health.**, v. 36, p.25-28, 2004.
- RAYMOND M, ROUSSET F . An exact test for population differentiation. **Evolution.**, v. 49, p. 1280-1283, 1995a.
- RAYMOND, M, ROUSSET F (1995b) GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. **J Hered.**, v. 86, p. 248-9, 1995b.
- REID, R. & SCALZI, P. Genital warts and cervical cancer. VII. An improved colposcopic index for differentiating benign papillomaviral infections from high-grade cervical intraepithelial neoplasia. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 153, p. 611-618, 1985.
- REEVES, W. et al. Human papillomavirus infection and cervical cancer in Latin America. **N England J Méd.**, v. 160, p 37-45, 1989.
- REVIRON D, et al. TNF-alpha and IL-6 gene polymorphism and rejection in kidney transplantation recipients. **Transplant Proc.**, v.33, n. 1-2, p.350- 351, 2001.
- RICHARDSON, H. et al. The Natural History of Type-Specific Human Papillomavirus Infections in Female University Students. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention.**, v. 12, p.485-90,2003.
- RICHART, R.M. A modified terminology for cervical intraepithelial neoplasia. **Obstet. Gynecol.**, v. 75, p. 131, 1990.
- ROMAGNANI, S. & MAGGI, E. Th1 versus Th2 responses in AIDS. **Curr. Opin. Immunol.**, v. 6, n. 4, p. 616-622, 1994.
- ROSL F., et al. Differential regulation of the JE gene encoding the monocyte chemoattractant protein (MCP-1) in cervical carcinoma cells and derived hybrids. **J. Virol.**, v. 68, n. 4, p. 2142-2150, 1994.
- RUGTVEIT, J., et al. Cytokine profiles differ in newly recruited and resident subsets of mucosal macrophages from inflammatory bowel disease. **Gastroenterology**, v. 112, n. 5, p. 1493-1505,1997.
- SALGADO-DE SNYDER V.N., Wong R.R. Envejecimiento en la pobreza urbana: conclusiones e implicaciones para la salud de los ancianos. **Salud Pública Méx.**, v. 44, p. 155-161, 2006.
- SALGADO-DE SYNDER V. N. et al. Género y pobreza: determinantes de la salud en la vejez. **Salud Pública Méx.**, v. 49, n. 4, p. 3-10. 2007.

- SALGADO-DE SNYDER V. N. Envejecimiento, género y pobreza en México rural. en la pobreza: género, salud y calidad de vida. **Salud Pública Méx.**, v. 10, p. 37-56, 2007.
- SCHIFFMAN, M.H., et al. A comparison of Southern blot hybridization and polymerase chain reaction methods for the detection of human papillomavirus DNA. **J. Clin. Microbiol.**, v. 29, p. 573-577, 1991.
- SCHIFFMAN, M.H., et al. Epidemiological evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 85, p. 958-964, 1993.
- SCHIFFMAN, M.H. New epidemiology of human papillomavirus infection and cervical neoplasia. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 87, p. 1345-1347, 1995.
- SCHIFFMAN M. H. & CASTLE P.E. Human papillomavirus: epidemiology and public health. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, v. 127, n. 8, p. 930-934, 2003.
- SCHNEIDER A., et al. Efficacy trial of topically administered interferon gamma-1 beta gel in comparison to laser treatment in cervical intraepithelial neoplasia. **Arch. Gynecol. Obstet.**, v. 256, n. 2, p. 75-83, 1995.
- SHAH, K.V., et al. Antibodies to human papillomavirus 16 and subsequent in situ or invasive cancer of the cervix. **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.**, v. 6, n. 4, p. 233-237, 1997.
- SHAMANIN, V., et al. Human papillomavirus infections in nonmelanoma skin cancers from renal transplant recipients and nonimmunosuppressed patients. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 88, n. 12, p. 802-811, 1996.
- SHEARER, G.M. & CLERICI, M. Cytokine profiles in HIV type 1 disease and protection. **AIDS Res. Hum. Retroviruses**, v. 14 Suppl 2, p. 149-152, 1998.
- SHEU, B.C., et al. Predominant Th2/Tc2 polarity of tumor-infiltrating lymphocytes in human cervical cancer. **Immunol.**, v. 167, n. 5, p. 2972-2978, 2001.
- SIEGEL, S. **Estatística não-paramétrica para ciências do comportamento**. Rio de Janeiro, Ed Macgraw Hill, 1975.
- SIERRA CH, AU WW, ARRASTIA CD, CAJAS-SALAZAR N, ROBAZETTI SC, PAYNE DA, et al. Polymorphisms for chemical metabolizing genes and risk for cervical neoplasia. **Environ Mol Mutagen.**,v. 41,p.69-76, 2003.
- SIERRA CH, TYRING SK, AU WW. Risk contribution of sexual behavior and cigarette smoking to cervical neoplasia. **Int J Gynecol Câncer**,v.13:617-25. 2003.

- SIKORSKI M & ZRUBEK H. Long-term follow-up of patients treated with recombinant human interferon gamma for cervical intraepithelial neoplasia. **Int. J. Gynaecol. Obstet.**, v. 82, n. 2, p. 179-185, 2003.
- SOTO, U., et al. Conversion of HPV 18 positive non-tumorigenic HeLa-fibroblast hybrids to invasive growth involves loss of TNF-alpha mediated repression of viral transcription and modification of the AP-1 transcription complex. **Oncogene**, v. 18, n. 21, p. 3187-3198.,1999.
- SOOKOIAN SC, GONZALEZ C, PIROLA CJ. Meta-analysis on the G-308A tumor necrosis factor alpha gene variant and phenotypes associated with the metabolic syndrome. **Obes Res.**, v.13, n. 12, p. 2122-31, 2005.
- SPIES, T., MORTON, C. C., NEDOSPASOV, S. A., FIERIS, W., PIOUS, D., AND STROMINGER, J. L. Genes for the tumor necrosis factors alpha and beta are linked to the human major histocompatibility complex. **Proc Natl Acad Sci USA.**, v. 83, n. 22, p. 8699-702, 2003.
- SPINILLO, A., et al. Prevalence, diagnosis and treatment of lower genital neoplasia in women with immunodeficiency virus infection. **Eur. J. Obstet. Gynaecol. Reprod. Biol.**, v. 43, p. 235-241, 1992.
- SZAREWSKI A. Injectable progestogens. **Clinical General Practice.**, v. 2, p. 207-210, 2004.
- SZAREWSKI A. Smoking and Cervical Neoplasia. **Tobacco and Public Health: Science and Policy.**, p.459-478, 2004.
- SZAREWSKI A. Cervical screening in adolescents – at least do no harm. **Lancet.**, v. 364, p. 1642-4, 2004.
- STANCZUK, G.A., et al. Cancer of the uterine cervix may be significantly associated with a gene polymorphism coding for increased IL-10 production. **Int. J. Cancer**, v. 94, n. 6, p. 792-794, 2001.
- STANLEY, M.A. Human papillomavirus and cervical carcinogenesis. **Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.**, v. 15, n. 5, p. 663-676, 2001.
- STELLATO, G., et al. Type 1 cytokine response and treatment outcome of genital HPV lesions. **Genitourin. Med.**, v. 73, n. 5, p. 387-390, 1997.
- SULIGOI, B., et al. Effect of multiple herpesvirus infections on the progression of HIV disease in a cohort of HIV seroconverters. **J. Med. Virol.**, v. 69, n. 2, p. 182-187, 2003.
- SUN, X.W., et al. Human papillomavirus infection in human immunodeficiency virus-seropositive women. **Obstet. Gynecol.**, v. 85, p. 680-686, 1995.

- SUN, X.W., et al. Human papillomavirus infection in women infected with the human immunodeficiency virus. **N. Engl. J. Med.**, v. 337, p. 1343-1349, 1997.
- TAMBUR AR, YANIV I, STEIN J, LAPIDOT M, SHABTAI E, KFIR B, KLEIN T. Cytokine gene polymorphism in patients with graft-versus-host disease. **Transplant Proc.**, v. 33, n. 1-2, p. 502-3, 2001.
- TARTOUR, E., et al. Analysis of interleukin 6 gene expression in cervical neoplasia using a quantitative polymerase chain reaction assay: evidence for enhanced interleukin 6 gene expression in invasive carcinoma. **Cancer Res.**, v. 54, n. 23, p. 6243-6248, 1994.
- TJIONG, M.Y., et al. Epidemiologic and mucosal immunologic aspects of HPV infection and HPV-related cervical neoplasia in the lower female genital tract: a review. **Int. J. Gynecol. Cancer**, v. 11, n. 1, p. 9-17, 2001.
- TSUKAMOTO K, OHTA N, SHIRAI Y, EMI M. A highly polymorphic CA repeat marker at the human tumor necrosis factor alpha (TNF α) locus. **J Hum Genet**, v. 43, n. 4, p. 278-9, 1998.
- TUGLULAR S, BERTHOUX P, BERTHOUX F. Polymorphisms of the tumour necrosis factor alpha gene at position -308 and TNF α microsatellite in primary IgA nephropathy. **Nephrol Dial Transplant.**, v. 18, p. 724-731, 2003.
- TURNER DM, GRANT SC, LAMB WR, BRECHLEY PE, DYER PA, SINNOTT PJ, HUTCHINSON IV. A genetic marker of high TNF- α production in heart transplant recipients. **Transplantation**, v. 60, n. 10, p. 1113-7, 1995.
- TURNER, D.M., et al. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. **Eur. J. Immunogenet.**, v. 24, p. 1-8, 1997.
- TWEDDEL, G., et al. The correlation between HIV seropositivity, cervical dysplasia, and HPV subtypes 6/11, 16/18, 31/33/35. **Gynecol. Oncol.**, v. 52, p. 161-164, 1994.
- UDALOVA I.A., et al. Highly informative typing of the human TNF locus using six adjacent polymorphic markers. **Genomics**, v. 16, p. 180-186, 1993.
- UNAIDS. Aids epidemic update. UNAIDS: 2006. Disponível em: <http://www.unaids.org/en/Regions_Countries/Regions/LatinAmerica.asp> Acesso em 02 de Dezembro de 2007.
- VAN DRIEL, W.J., et al. Association of allele-specific HLA expression and histopathologic progression of cervical carcinoma. **Gynecol. Oncol.**, v. 62, n. 1, p. 33-41, 1996.

- VERJANS, G. M., MESSER, G., WEISS, E. H., VAN DER LINDEN, S. M., AND KIJLSTRA, A. Polymorphism of the tumor necrosis factor region in relation to disease: an overview. **Rheum Dis Clin North Am.**, v.18, n. 1, p. 177-86, 1992.
- VERMUND, S.H., et al. High risk of human papillomavirus infection and cervical squamous intraepithelial lesions among women with symptomatic human immunodeficiency virus infection. **Am. J. Obstet. Gynaecol.**, v. 165, p. 392-400, 1991.
- VIAC, J., et al. Langerhans cells and epithelial cell modifications in cervical intraepithelial neoplasia: correlation with human papillomavirus infection. **Immunobiology**, v. 180, n. 5, p. 328-338, 1990.
- VIAC, J., et al. Epidermotropism of T cells correlates with intercellular adhesion molecule (ICAM1) expression in human papillomavirus (HPV)-induced lesions. **J. Pathol.**, v. 168, n. 3, p. 301-306, 1992.
- VILLA, L.L. Human papillomaviruses and cervical cancer. **Adv. Cancer Res.**, v. 71, p. 321-341, 1997.
- VLAD G., et al. Interleukin-10 induces the upregulation of the inhibitory receptor ILT4 in monocytes from HIV positive individuals. **Hum. Immunol.**, v. 64, n. 5, p. 483-489, 2003.
- VOUSDEN, K.H. Regulation of the cell cycle by viral oncoproteins. **Semin. Cancer Biol.**, v. 6, n. 2, p. 109-116, 1995.
- WALLIN, K.L., et al. Type-specific persistence of human papillomavirus DNA before the development of invasive cervical cancer. **N. Engl. J. Med.**, v. 341, n. 22, p. 1633-1638, 1999.
- WANG, Z., et al. Cervical mucus antibodies against human papillomavirus type 16, 18, and 33 capsids in relation to presence of viral DNA. **J. Clin. Microbiol.**, v. 34, n. 12, p. 3056-3062, 1996.
- WANG Z.H., et al. Type specificity and significance of different isotypes of serum antibodies to human papillomavirus capsids. **J. Infect. Dis.**, v. 181, n. 2, p. 456-462, 2000.
- WARLE M.C. et al. Are cytokine gene polymorphisms related to in vitro cytokine production profiles?. **Liver Transpl.**, v.9, n. 2, p. 170-81, 2003.
- WERNESSE, B.A., et al. Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. **Science**, v. 248, n. 4951, p. 76-79, 1990.

- WILLIAMS, A.B., et al. Anal and cervical human papillomavirus infection and risk of anal and cervical epithelial abnormalities in human immunodeficiency virus-infected women. **Obstet. Gynecol.**, v. 83, p. 205-211, 1994.
- WU, T.C. & KURMAN, R.J. Analysis of cytokine profiles in patients with human papillomavirus-associated neoplasms. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 89, n. 3, p. 185-187, 1997.
- YARCHOAN R, PERNO CF, THOMAS RV, KLECKER RW, ALLAIN JP, WILLS RJ, MCATEE N, FISCHL MA, DUBINSKY R, MCNEELY MC, et al. Phase I studies of 2',3'-dideoxycytidine in severe human immunodeficiency virus infection as a single agent and alternating with zidovudine (AZT). **Lancet.**,v.1, p:76–81,1988.
- ZUR HAUSEN, H. Viruses in human cancers. **Science**, v. 254, p. 1167-1172, 1991a.
- ZUR HAUSEN, H. Human papillomavirus in the pathogenesis of anogenital cancer. **Virology**, v. 184, p. 9-13, 1991b.
- ZUR HAUSEN, H. Roots and perspectives of contemporary papillomavirus research. **J. Cancer Res. Clin. Oncol.**, v. 122, p. 3-13, 1996.
- ZUR HAUSEN, H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 92, n. 9, p. 690-698, 2000.
- ZUR HAUSEN, H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. **Nat. Rev. Cancer**, v. 2, n. 5, p. 342-350, 2002.

ANEXOS

9. ANEXOS

ANEXO I - Parecer de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

SECRETARIA DE SALUD
SERVICIOS DE SALUD DE SAN LUIS POTOSI

San Luis Potosí, S.L.P.,

C. LIC. ENF. MA. MAGDALENA MIRANDA HERRERA
DIRECTORA DE LA FACULTAD DE ENFERMERIA
DE LA U.A.S.L.P.
NIÑO ARTILLERO No. 130
ZONA UNIVERSITARIA
CIUDAD

DEPENDENCIA	DIRECCION DE PROTECCION SOCIAL EN SALUD
SECCIÓN	SUBDIRECCIÓN DE EDUCACIÓN Y CALIDAD EN SALUD
	JESUS GOYTORTÚA No. 340
	FRACC. TANGAMANGA C.P. 78269
NUMERO DE OFICIO	
EXPEDIENTE	24.10

Nº 221

ASUNTO: Evaluación

14 NOV. 2005

AT'N.: C. M.C. MARIA DEL ROCIO ROCHA RODRI

Me permito informar a usted que en la Reunión del Comité de Bioética e Investigación para la de esta Institución, celebrada el 25 de octubre del año en curso, se sometió a evaluación la perti y propuesta metodológica del proyecto de investigación titulado "Características de la Coinf entre VIH-VPH, identificando los Factores de Riesgo Responsables de la Transn Instalación y Progresión de las Lesiones Cervicales en Mujeres Portadoras o no de Infecci el Virus de Inmunodeficiencia Humana" emitiéndose la siguiente opinión técnica por conse los integrantes:

APROBADO

Con la recomendación de establecer una estrecha comunicación con el responsable del Centro de Información sobre el SIDA (CEIS) y el Director del Laboratorio Estatal de Salud Pública, cor de delimitar tiempos, responsabilidades y requerimientos para la realización del mismo.

ATENTAMENTE
SUFRAGIO EFECTIVO. NO REELECCIÓN
DIRECTOR GENERAL

DR. FERNANDO TORANZO FERNÁNDEZ

2005, "año del bicentenario
DE LA IMPRENTA EN SAN LUIS"

C.c.p. Dr. Héctor Marroquín Segura.- Director de Protección Social en Salud.- Edificio
C.c.p. C. Dr. Cuauhtemoc Marín Aguilera.- Jefe del Depto. de Enfermedades de Transmisión Se
y VIH-SIDA.- 5 de mayo No. 1485.- Ciudad
C.c.p. C. Dr. Benito Carrera de la Torre.- Director del Laboratorio Estatal de Salud Pública.- Be
No. 180.- Fracc. Dalias.- Ciudad.

HMS/RMZ/cdg

ANEXO II - Parecer de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO

FACULTAD DE ENFERMERIA Y OBSTETRICIA DE CEL

Mutualismo No. 303 Apdo. Postal 91 Celaya, Gto. ☎/Fax (461) 615 36 48 y 615 36 65

Celaya, Gto., 3 de Marzo de 2006.

M.C. Ma. Del Rocío Rocha Rodríguez
Alumna del Programa de Doctorado en Enfermería
Presente.

Por este conducto, me permito comunicarle que el Comité de Bioética realizó la segunda revisión y evaluación de su protocolo de investigación **"CARACTERISTICAS DE LA COINFECCIÓN ENTRE VIH-PVH EN MUJERES, IDENTIFICANDO LOS FACTORES DE RIESGO DE LAS LESIONES CERVICALES."**, el Comité dictaminó que se APRUEBA, se anexan algunas observaciones al presente.

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"LA VERDAD OS HARÁ LIBRES"

UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO
Facultad de Enfermería y Obst. de Celaya

MTRA. ROSALINA DÍAZ GUERRERO
PRESIDENTA DEL COMITÉ DE BIOÉTICA
FACULTAD DE ENFERMERÍA Y OBSTETRICIA DE CELAYA

PSIC. ELISA GUERRERO FERNÁNDEZ
SECRETARIA DEL COMITÉ DE BIOÉTICA
FACULTAD DE ENFERMERÍA Y OBSTETRICIA DE CELAYA

C/2 anexo.

C.c.p. Mtra. María de Lourdes García Campos.-Coordinadora de Investigación FEOC.

C.c.p. Dra. Leticia Cacique Cacique.-Coordinadora del Doctorado de la FEOC.

C.c.p. Archivo.

*cmm.

ANEXO III - Parecer de Aprobación do Comitê de Ética em Pesquisa

Guanajuato, Gto a 18 de mayo 2006

DR. GERARDO ORTEGA MARTINEZ
SECRETARIA DE SALUD, GUANAJUATO
PRESENTE:

Por este medio declaro que me comprometo a hacer llegar los resultados finales de la toma de muestras (tipificación y detección de VPH en citobrush, y células de la sangre periférica) que se llevaran a cabo en mujeres con VIH/SIDA de la Secretaría de Salud del Estado de Guanajuato.

Las muestras referidas serán tomadas en relación al PROYECTO DE TESIS denominado:

**CARACTERISTICAS DE LA COINFECCION ENTRE VIH-VPH EN MUJERES,
IDENTIFICANDO LOS FACTORES DE RIESGO DE LAS LESIONES CERVICALES**

Doctorando a: M.C. MA DEL ROCIO ROCHA RODRIGUEZ

Así mismo la Secretaría de Salud del Estado hace constar que los resultados recibidos tienen el único propósito de conocer el serotipo exacto de VPH con la finalidad de ofrecer el mejor tratamiento posible a nuestras pacientes.

ATENTAMENTE

M.C. MA DEL ROCIO ROCHA RODRIGUEZ
UASLP

DRA. DEA SOSA GAONA
COORDINADORA SEAS IRAPUATO

Cep Dra. Mónica Reyes Berlanga. Secretaria Técnica COGUSIDA
Archivo

ANEXO IV - Parecer de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO - UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO COLABORADOR DA ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE PARA
O DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA EM ENFERMAGEM

Avenida Bandeirantes, 3900 - Campus Universitário - Ribeirão Preto - CEP 14040-902 - São Paulo - Brasil
FAX: (55) - 16 - 3633-3271 / 3602-4419 / TELEFONE: (55) - 16 - 3602-3382

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA EERP/USP

Of.CEP-EERP/USP – 180/2006

Ribeirão Preto, 29 de setembro de 2006

Prezada Senhora,

Comunicamos que o projeto de pesquisa, abaixo especificado, foi analisado e considerado **APROVADO AD REFERENDUM** do Comitê de Ética em Pesquisa da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, em 29 de setembro de 2006.

Protocolo: nº 0720/2006

Projeto: LESÕES CERVICAIS E FATORES ASSOCIADOS COM O SEU DESENVOLVIMENTO EM MULHERES MEXICANAS

Pesquisador: Ana Paula Moraes Fernandes

Em atendimento à Resolução 196/96, deverá ser encaminhado ao CEP o relatório final da pesquisa e a publicação de seus resultados, para acompanhamento, bem como comunicada qualquer intercorrência ou a sua interrupção.

Atenciosamente,

Profª. Drª Lucila Castanheira Nascimento
Coordenadora do CEP-EERP/USP

Ilmª. Srª.
Profª. Drª. Ana Paula Moraes Fernandes
Departamento de Enfermagem Geral e Especializada
Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto-USP

ANEXO V - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO
FACULTAD DE ENFERMERIA Y OBSTETRICIA DE CELAYA

TERMINO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

O presente estudo está sendo realizado pela Lic. Enf. Ma. do Rocío Rocha Rodríguez, M.C. com o objetivo de avaliar as associações entre as defesas de seu organismo e a infecção pelo Vírus de Papiloma Humano (VPH). Você esta sendo convidada a participar, pelo fato de ter apresentado alguns fatores de risco no exame preventivo de Câncer de Pescoço Uterino (papanicolaou), sendo portanto necessária a realização de outros exames que irão complementar seu diagnostico.

Os exames que pretendemos fazer são preventivos e se estão realizando com mulheres que igual que você mostraram algum (vos) fatores de risco, os quais são predisponentes para adquirir com maior freqüência a infecção do Vírus de Papiloma Humano(VPH) no pescoço uterino e vagina. Em caso que você tenha um diagnostico confirmado, como portadora do Vírus de Imunodeficiência Humana, este diminui as defesas de seu organismo portanto resulta de maior importância realizar os exames explicados anteriormente.Se você aceita participar no estudo, serão realizados os seguintes exames: tomada de mostra de sangue periférico e exame preventivo de Câncer de colo do utero (Papanicolaou).

Toda a informação que você deseje saber, antes ou depois dos exames será proporcionada e em caso que seu exame seja positivo, você será acompanhada por uma servidora e médicos recebendo orientação ao respecto.Você não esta obrigada a participar no estudo e tem a liberdade de não querer participar ou desistir. Em caso que isto ocorra, o atendimento nesta clínica seguirá sendo da mesma forma.Não é necessário que você invista nada de dinheiro e também não receberá nenhum pagamento por ter participado nesta investigação.

Quando os resultados da investigação estejam prontos só aparecerá o numero de identificação em lugar de seu nome, em todo momento seu nome permanecerá em segredo. A informação obtida poderá divulgar-se, isto é, os dados que proporcionem evidência dos fatores de risco na infecção por Vírus de Papiloma Humano(VPH) de tal maneira que possam orientar as políticas e prática do setor saúde, para benefício da população feminina. De acordo,

NOME: _____

ASSINATURA: _____

DATA: _____

Ante qualquer dúvida ou pergunta localizarei ao M.C. Ma. do Rocío Rocha na seguinte direção:Faculdade de Enfermaria Universidade Autônoma de San Luis Potosí Av. Nino Artillero #1130 Zona Universitária, San Luis Potosí, México .

Tel. (44)826-2324 , Celular 4122-7424

ANEXO VI. Ficha de Acompanhamento

ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO

FACULTAD DE ENFERMERIA Y OBSTETRICIA DE CELAYA

Este questionário faz parte de um estudo denominado: “CARACTERÍSTICAS DA COINFECCIÓN ENTRE HIV-VPH EM MULHERES, IDENTIFICANDO Os FATORES DE RISCO DAS LESÕES CERVICAIS”, com este instrumento se pretende recolher informação sobre diferentes aspectos relacionados aos fatores de risco associados à aparição de infecções ocasionadas pelo Vírus de Papiloma Humano e o Vírus de Imunodeficiência Humana, como precursores das lesões cervicais.

IDENTIFICACION

Iniciais :

..... Dia Mês Ano

Data de nascimento:...../...../19..... Idade: anos..... meses

Raça: (1) Blanca (2) Negra (3) Asiático

Não. de expediente:.....

Procedência: estado..... municipio

Endereço:

Telefone:.....Profissão:.....A que se dedica atualmente?

Nível de estudos: (1) Primária (2) Secundária (3) Preparatória (4) Profissional (5)

Outro Estado conjugal: (1) Casada (2) União livre (3) Viúva (4) Solteira (5) Outro.....

HISTÓRIA SOCIAL**1.Fuma atualmente ou fumo?**

(1) - Nunca fumo

(2) - Fuma irregularmente (menos de 1 cigarro / dia durante 1 ano, não menos)

(3) - Fuma regularmente (1 cigarro ao dia durante 1 ano, não menos)

(4) - Ex-fumante (o deixou faz 1 ano)

2 - A que idade começou a fumar regularmente? especificar

3 - A que idade deixou de fumar? especificar.....

4 - Quantos cigarros você fuma ou fumava por dia? especificar.....

ANTECEDENTES GINECOLOGICOS

5-Quando você iniciou sua vida sexual? (1) maior de 17 anos (2) menor de 17 anos

6- Antecedentes obstétricos

(1) Nuligesta (2) Nulípara/1-2 abortos (3) Multigesta/ abortos múltiplos (4) Mal 1 parto (5) Múltiplos ou mais partos

7- Idade da primeira gravidez

(1) maior de 17 anos (2) menor de 17 anos

8- Se encontra atualmente gestante?

(1) Se (2) Não

9- Trimestre no que se encontra:

(1) Primeiro (2) Segundo (3) Terceiro

10 - Você apresentou verrugas em algum de suas gravidezes?

(1) Não (2) Se, num (3) Se, em todos

11- Utiliza atualmente algum método anticoncepcivo?

(1) Abstinência sexual (2) Método de barreira (3) DIU (4) Não evita ficar gestante (5) Outro.....

12 - Usando outro método, atualmente você usa camisinha?

(1)Sempre (2)Quase Sempre (3) Algumas vezes (4) Nunca

ANTECEDENTES SEXUAIS

13 - Atualmente quantas casais sexuais tem você? (1) Nenhum (2) 1 (3) 2-3 (4) 4 - 6 (5) 7 - 9 (6) Igual ou mais de 10

14- Você conhece se alguma de sua(s) parceira(s) tinha vida sexual com outra(s) parceira(s)?

(1)Não (2)Não se (3) Se, mas não identifica (4) Se, Homossexual (5) Se, Bissexual (6) Se, Heterossexual

15 - Quando foi sua última relação sexual?

(1) Faz mais de 6 meses (2) De 1 a 6 meses (3) Faz 1 mês (4) Faz 1 semana (5) Faz 1 ou 2 dias (6) Outro.....

16 - Qual foi a frequência de relações sexuais no último mês?

(1)Não tive (2) Menos de 1 vez / mês (3) 1-2 vezes / mês (4) 1 vez / semana (5) 2-3 vezes / semana (6) todo o dia (7) Mas de uma vez /dia

17 – A frequência das relações sexuais mudança atualmente? (1)Diminuiu (2) Manteve-se (3)Aumento

18- Atualmente, qual tipo de relação sexual você pratica? (1) Nenhuma (2)Oral (3)Vaginal (4)Anal

19 - Atualmente, usa camisinha nas relações sexuais? (1)Sempre (2)Quase sempre (3)Algumas vezes (4)Nunca

20 - Na última relação sexual você usou camisinha? (1) Se (2) Não

21 - Atualmente, em que tipo de relação sexual você usa camisinha? (1)Todos (2)Anal (3) Vaginal (4) Oral (5) Nenhuma

22 - Você tem alguma camisinha para mostrar-me? (1) Se (2) Não

23 - Você já recebeu algum tipo de pagamento (dinheiro, presentes, viagens, etc) para fazer sexo? (1) Se (2) Não

DOENÇAS DE TRANSMISSÃO SEXUAL

24-Você já apresentou alguma doença de transmissão sexual? (1) Se (2) Não (3) Não se

25-Sabe qual enfermidade?(1)No presente (2)No se (3)Flujo (4) Candidíasis/flores blancas (5) Gonorréia (6) Herpes (7) Sífilis (8) Chancro (9)Condiloma/verruca/crista de gallo (10) Linfogranuloma (11) Múltiplas (12) Portador de HIV/AIDS

26–Se é positivo para condiloma, quantas vezes você teve verrugas genitais?

(1) Nenhuma (2) Uma (3) Dos (4) Três (5) Mas de três

27 - Você sabe se algum casal tem ou teve alguma doença venérea? (1) Não (2) Não se (3) Se

28 - Sabe qual foi?

(1) Não teve (2) Não se (3) Fluxo (4) Candidíasis/flores brancas (5) Sífilis (6) Herpes/bolhas (7) Sífilis/chancro duro (8) Chancro (9) Condilomas/verruga/crista de galo (10) Linfogranuloma/mula (11) Múltiplas (12) Portador de HIV/AIDS

29 – Se é positivo para condiloma, conhece quantas casais tiveram? (1) 1 (2) 2 (3) 3 ou mas (4) desconheço o numero de casais**30 - Alguma outra pessoa com quem manteve relações sexuais, apresentou verrugas genitais?**

(1) Não (2) Não se (3) Sem Especificar.....

ANTECEDENTES SEXUAIS PACIENTES HIV +**Se realizou recentemente a prova pára diagnostico de HIV (1) Se (2) Não Se**

Dia Mês Ano

Sim Se sua resposta é SE qual foi a data de realização:/...../.....

Dia Mês Ano

32- HIV + (1) Se (2) Não data do diagnóstico:...../...../.....

Dia Mês Ano

33- Ônus viral: Data/...../.....

Dia Mês Ano

34 - Número de linfócitos T CD4+: Data/...../.....**35- Utiliza atualmente medicamentos antiretrovirais?**

Cuales?:.....

36- Os usa regularmente? (1) Se (2) Não Especificar:.....**37- Qual era sua preferência sexual antes do diagnóstico positivo para HIV?**

(1) Homossexual (2) Heterossexual (3) Bissexual

38- Qual é sua preferência sexual atual? (1) Homossexual (2) Heterossexual (3) Bissexual**39 - Quantos colegas sexuais teve antes do diagnóstico de HIV?** (1) Nenhum (2) 1

(3) 2- 3 (4) 4 – 6 (5) 7 - 9

(6) Igual ou mas de 10

40 - Estes casais foram? (1) Regulares (2) Casuais (3) Ambos**41–Qual tipo de relação sexual você praticava antes do diagnóstico de HIV ?** (1) Nenhuma

(2) Oral (3) Vaginal (4) Anal

(5) Oral /vaginal (6) Oral /anal (7) Vaginal /anal (8) Todos

42 - Depois do diagnóstico de HIV, teve mudanças no uso de métodos anticoncepcionais?

(1) Se Aumento a proteção (2) Não

(3) Se Diminuo a proteção Especificar.....

ARTIGO

El reto de enfermería: Las infecciones de transmisión sexual

LIC. ENF. MA. DEL ROCIO ROCHA RODRIGUEZ, M.C.

PROFESOR DE LA FACULTAD DE ENFERMERIA DE LA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI

ESTUDIANTE DE DOCTORADO POR LA ESCUELA DE ENFERMERIA DE RIBEIRAO PRETO/ SAO PAULO, BRASIL Y

LA ESCUELA DE ENFERMERIA DE CELAYA UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO, MEXICO

rocio@uaslp.mx

El Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) y su fase terminal conocida como Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida(SIDA), afecta a millones de personas las cuales se enferman, y a pesar de los esperanzadores anuncios sobre grandes progresos terapéuticos, mueren. De las afecciones relacionadas con el SIDA, el cáncer cervical ocasionado en la mayoría de las veces por el Virus de papiloma Humano (VPH) es una de las enfermedades más importantes entre las mujeres. **Objetivo** identificar y caracterizar los factores de riesgo para Cáncer Cervicouterino en un grupo de mujeres positivas y negativas a VIH. La **Metodología** empleada delinea un estudio transversal comparativo descriptivo, para la determinación de las variables, la muestra fue probabilística con elección de 66 pacientes que acudieron al Consejo Estatal del SIDA en San Luis Potosí (COESIDA) y el Consejo Guanajuatense para la prevención y control del SIDA(COGUSIDA). En la recolección de los datos se empleo un instrumento para identificar las variables del estudio. En el procesamiento de los datos se empleó el programa SPSS, analizando la información con estadística descriptiva.

Resultados. Se identificaron los antecedentes ginecológicos, historia social, vida sexual, infecciones de transmisión sexual e historia ginecológica, en las mujeres que participaron en el estudio.

Discusión. Se identificaron los factores de riesgo en la instalación, progresión y desarrollo del CaCu se muestra claramente que las mujeres co-infectadas VIH-VPH también tienen más posibilidades de desarrollar una displasia que aquellas mujeres infectadas sólo con uno de estos dos virus.

Palabras Clave. Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), Virus de Papiloma Humano (VPH), infecciones de transmisión sexual.

Summary

The human immunodeficiency virus (HIV) and its end phase known as immunodeficiency acquired syndrome (AIDS) affects to million people who get sick, although the hopeful advertisement about great therapeutic process dead. Of the relationship affections with the AID, the cervical cancer several times ocasionated by human papilloma virus (HPV) is one of the more important disease between women.

Objective. To identify and characterize the risk factors to cervical cancer in a group of women positive and negative to HIV.

The methods employed align a transversal, comparative and descriptive study to the determination of the variables, the probabilistic sample was with election of 66 patients that arrived to "Consejo Estatal del SIDA" in San Luis Potosí (COESIDA) and the "Consejo Guanajuatense para la prevencion y control del SIDA (COGUSIDA). To obtain data we employed an instrument to identify the variables to the study. In the trial data we used the SPSS program, analyzing the information with descriptive statistical.

Results. Identified the gynecological antecedents, social history, sexual life, transmission sexual infection and clinical history, in the women participate in this study.

Discussion. The risk factors in the installation, progression and development of cervical cancer shown clearly that the co-infected women with HIV-HPV have more possibilities to development an dysplasia than infected women with only one them.

Key words. human immunodeficiency virus (HIV), human papilloma virus (HPV), transmission sexual infection.

Introducción

Inmunodeficiencia Adquirida o SIDA, realmente podría parecer el invento de una mente superdotada y enferma que con la idea de acabar con el ser humano, diseñó un enemigo perfecto: microscópico, silencioso, contagioso, incurable y mortal. Pero el SIDA no es otra cosa que la enfermedad que se desarrolla como consecuencia de la infección por el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH). Ciertamente, sus características han hecho que el combate en su contra sea especialmente difícil, desde el punto de vista científico, y terrible desde el punto de vista emocional. En México al 2007 existen reportes de un total de 87,348 hombres y un total de 17,822 mujeres portadores de SIDA; reportando 2,533 de los casos en menores de 15 años, 81,980 casos entre los 15-44 años y entre los 45 años o más 19,621 según datos del Registro Nacional del SIDA, y se espera que estas cifras vayan en aumento como consecuencia del alto número de portadores y portadoras que desconocen su condición⁽¹⁾. Cada nuevo portador de VIH o SIDA necesitará implementar una serie de cambios en su estilo de vida, como consecuencia del nuevo estado de salud y de la carga social que significa tener un diagnóstico positivo. Estas personas requieren no solamente medicación para mejorar su condición de salud, es así que necesitan apoyo educativo, orientación, contención, respeto y buen trato de parte de la sociedad y desde, luego de los integrantes del equipo de salud.

A diferencia de otras enfermedades, como el cáncer, que causan también millones de muertes al año, el SIDA se puede transmitir a través de las relaciones sexuales sin protección y de la madre a su bebé durante la gestación, el parto o la lactancia; en otras palabras, a los seres más cercanos y queridos. La infección por el VIH es silenciosa y puede permanecer en el cuerpo mucho tiempo sin que se note su presencia, de manera que un individuo infectado puede transmitir el virus a otras personas sin tener idea de lo que está pasando. De ahí la importancia de que quienes tienen una vida sexual activa tomen las precauciones necesarias, particularmente el uso del condón. El VIH, además, puede mutar muy rápidamente, es decir, que se modifique alguno de sus genes, por lo que hasta ahora no ha sido posible desarrollar una vacuna.

El VIH/SIDA causa terribles consecuencias, no sólo para quienes mueren por la enfermedad, si no también para sus familias y comunidades, debido a las repercusiones sociales y económicas que implica portar el virus. De las afecciones relacionadas con el SIDA, el cáncer cervical es una de las enfermedades más importantes entre las mujeres, es así, que desde hace algunos años, se considera al cáncer cervical como una enfermedad característica del SIDA en las mujeres infectadas.

Los estudios han comprobado que existe una mayor prevalencia de la infección por VPH en las mujeres VIH-positivo que en las VIH-negativo, por lo que las mujeres portadoras del VIH enfrentan un mayor riesgo de desarrollar infecciones por VPH y de que estas infecciones evolucionen con mayor rapidez hacia una neoplasia. Las mujeres infectadas con el VIH y el VPH también tienen más posibilidades de desarrollar una displasia que aquellas mujeres infectadas sólo con uno de estos dos virus. Es más, existe evidencia que sugiere que la alta prevalencia de VPH entre las mujeres VIH-positivo refleja la persistencia o reactivación de una infección preexistente y no la adquisición reciente de la infección^(2,3). Al parecer en las mujeres infectadas con el VIH, cuyo sistema inmune se encuentra más deprimido presentan un mayor riesgo de desarrollar displasia y neoplasia cervical con probabilidades que fluctúan entre 31% y 63%, por lo que las mujeres VIH-positivo tienen casi cinco veces mayor probabilidad de desarrollar displasia que las mujeres VIH-negativo⁽⁴⁾.

La asociación observada entre VPH y cáncer de cérvix, está entre las más consistentes de las identificadas en cancerología humana, existiendo un consenso creciente en calificarla como causa necesaria, pero insuficiente, ya que no todas las infecciones por VPH persisten o progresan a CaCu^(5,6). De los factores determinantes que se han descrito para que esta progresión ocurra, son factores dependientes del virus: tipo viral, persistencia de la infección en exámenes repetidos. Y de los factores ambientales: anticoncepción hormonal oral, cuando se consumen durante cinco años o más, aunque el riesgo tiende a desaparecer en los 5 años siguientes a la interrupción del consumo⁽⁷⁾, la paridad solo cuando se tienen más de 5 embarazos a término. El uso de tabaco del cual se han aislado sustancias carcinogénicas presentes en el moco cervical, aunque no se conoce bien la dinámica de la interacción. Edad de la primera relación sexual, es un conocido factor de riesgo con una prevalencia de VPH más alta, que comprende las edades inmediatas al inicio de las relaciones, y responde a los patrones de comportamiento sexual de la comunidad⁽⁸⁾. En grupos de edad de 15 a 25 años, si tienen compañeros sexuales distintos, llega a tener prevalencias del 30-40%. Después de este pico, le sigue una disminución muy marcada, estabilizándose en edades de 25 a 40 años en un 3-10%, interpretándose esta cifra como una medida indirecta del número de mujeres portadoras crónicas de la infección viral, y por tanto, del grupo de alto riesgo para progresión neoplásica. En algunas poblaciones se ha observado un segundo pico de prevalencia en mujeres postmenopáusicas, postulándose que fuera el reflejo de una reactivación de la infección latente y que se asociaría a la reducción fisiológica de la inmunidad natural con la edad⁽⁹⁾. En relación a la conducta sexual de la

población, parece que la circuncisión masculina también es un factor protector⁽¹⁰⁾. Del estado inmunológico se conoce que además de la pérdida de inmunidad natural con la edad⁽¹¹⁾, las cargas virales para las mujeres portadoras de VIH es causa necesaria e indispensable para el desarrollo de CaCu. Especial consideración merece el papel del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), como muestran los estudios en los que se detectó que en mujeres VIH positivas el riesgo de infección por VPH de alto y bajo riesgo sería de entre 1,8 y 2,7 veces superior con una persistencia 1,9 veces mayor⁽¹²⁾. Los estudios anteriormente mencionados ponen de manifiesto que los factores de riesgo para la instalación, progresión y desarrollo de CaCu por infección de VPH en mujeres positivas o negativas a VIH son necesarios explorarse al realizar la revisión ginecológica en mujeres con la finalidad de realizar un impacto en la prevención. Por lo que el objetivo principal del estudio fue identificar y caracterizar los factores de riesgo para Cáncer Cervicouterino en un grupo de mujeres positivas y negativas a VIH.

Metodología

Se delineó un estudio transversal comparativo descriptivo, para la determinación de las variables, la muestra fue probabilística con elección de 66 pacientes que acudieron al Consejo Estatal del SIDA en San Luis Potosí (COESIDA) y el Consejo Guanajuatense para la prevención y control del SIDA (COGUSIDA) bajo los siguientes criterios de inclusión: mujeres que presentaron lesiones cervicales de bajo o alto grado; que presentaron o no lesiones verrugosas en el área genital externa; con serología anti-VIH positiva o negativa; que recibían o no terapia anti-retroviral y que acordaron participar en el estudio.

En el reclutamiento se utilizó para colecta de datos el análisis de expediente y entrevista, dirigido por un cuestionario estructurado, abordando preguntas relacionadas a las actividades sexuales, así como datos demográficos y condiciones actuales de la enfermedad. El instrumento para identificar las variables del estudio incluyó los apartados siguientes: datos de identificación (edad, profesión, nivel de estudios, estado conyugal, diagnóstico para VIH, uso de antiretrovirales) antecedentes ginecológicos (inicio de vida sexual activa, edad del primer embarazo, antecedentes obstétricos), historia ginecológica (presencia de verrugas en alguno de los embarazos, uso de métodos anticonceptivos) de la historia social (consumo de tabaco), vida sexual (inicio de vida sexual activa, preferencia sexual actual, número de compañeros sexuales, regularidad de las parejas sexuales,

frecuencia de relaciones sexuales y uso de condón), otras infecciones de transmisión sexual (identificación de factores asociados con enfermedades de transmisión sexual); atendiendo a la Norma Oficial mexicana NOM-039-SSA-2002, para la Prevención y Control de las infecciones de Transmisión Sexual, (2003) y con la previa aprobación por el Comité de Bioética de la Facultad de Enfermería y Obstetricia de Celaya y de la Secretaria de Salud en el estado de San Luís Potosí se inició la colecta de la información; realizamos el reclutamiento de las mujeres en el periodo de Mayo de 2005 - Abril de 2006, acudiendo a los centros de manejo y capacitación de VIH/SIDA (COESIDA-COGUSIDA) se consideró una investigación sin riesgo, ya que solo se aplicó el cuestionario, se garantizó el anonimato, privacidad y la libertad de los participantes; una vez identificadas las mujeres positivas y negativas a VIH se procedió a realizar las entrevistas durante la misma se informó el objetivo de la investigación y sobre cual sería la participación de estas mujeres, aquellas que decidieron participar y reunieron los criterios de inclusión se les aplicó el instrumento, y realizó el levantamiento del consentimiento informado. Para el procesamiento de los datos, se empleó el programa SPSS versión 13, se analizó la información con estadística descriptiva.

Resultados

De las 66 mujeres que participaron en el estudio, las edades oscilaron de los 23 (4.8%) a 60 años (4.8%), con alta incidencia en las edades de 25 y 29 años (19%), así mismo se muestra un pico en edades de 40 a 54 años(19%). En relación al estado civil el 66%, refirió ser casada y unión libre, seguidas de un 23.8% solteras, solo un 9.5% se mantienen viudas. El nivel de estudios mostró que un 61.9% cursaron la educación básica en diferentes grados, un 23.8% cursaron secundaria y solo 4.8% curso profesional, así mismo el 4.8% sin escolaridad. De los factores de riesgo en la instalación, progresión y desarrollo de CaCu se evalúa el uso del tabaco, en el cuál un 66.7% refirió nunca haber fumado, 23.8% fuma irregularmente, y un 4.8% fuma regularmente, solo un 4.8 refirió haber consumido tabaco en alguna ocasión. De los antecedentes ginecológicos explorados, mostraron que el inicio de vida sexual activa fue 57.1% en edades mayores de 17 años y un 42.9% menores a esta edad; la edad del primer embarazo fue referida en el 71.4%, mayores de 17 años y 23.8% menores a esta edad. En relación a la paridad encontramos un 4.8% nuligestas, 4.8% nulíparas con 1 o 2 abortos, el 14.3% fueron multigestas con abortos múltiples, y el 9.5% refirió 1 parto, en mayor porcentaje (66.7%) fue multípara con 2 o mas partos. Del uso de métodos anticonceptivos un 33.3%

no evita quedar embarazada y un 28.6% utiliza algún método de barrera pero, solo un 14.3% utiliza el DIU como método anticonceptivo y el resto 23.8% refirieron utilizar algún otro método anticonceptivo. De acuerdo al numero de parejas sexuales actuales un 61.9% mantienen solo una pareja, con 2 o 3 parejas en 14.3% y 4 a 6 parejas un 4.8%, así mismo un 19% refirió no tener pareja actual. Al indagar sobre si conocían si sus parejas mantenían relaciones con otras parejas un 33.3 % no sabe y otro 33.3% si conoce que mantienen otras parejas, mas no identifica que tipo de relaciones establecen; en un 9.5% identifica que su pareja tiene una relación del tipo homosexual y un 19% relaciones heterosexuales.

Cuando se indago en referencia a la frecuencia de relaciones sexuales en el ultimo mes encontramos que un 42.9% no mantuvo, 19% menos de una vez por mes y en el mismo porcentaje 2-3 veces por semana.

Cuando se pregunta sobre el uso del condón un 42.9% refiere nunca usarlo, en el mismo porcentaje refirieron que lo usan siempre y casi siempre 9.5%, solo algunas veces lo usan (4.8%). Cuando se exploro el tipo de relación en la cual usan condón el 47.6% refirió usarlo en relaciones vaginales, 28.6% en ninguna y 23.8% en todas las relaciones sexuales. Un 71.4% refiere haber presentado alguna enfermedad de transmisión sexual, 14.3% no ha presentado y en el mismo porcentaje desconoce si ha presentado ETS.

DISCUSION

Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que los factores de riesgo para la instalación, progresión y desarrollo de CaCu por infección de VPH en mujeres positivas o negativas a VIH son necesarios explorarse al realizar la revisión ginecológica en mujeres por el personal de enfermería, cuya única finalidad de realizar un impacto en la prevención cuando estas mujeres acuden a su revisión ginecológica. De los factores determinantes que se han descrito para que la progresión hacia CaCu ocurra, se encuentran los factores ambientales como el uso de anticoncepción hormonal oral, cuando se consumen durante cinco años o más, así como el uso de tabaco, del cual se han aislado sustancias carcinogénicas presentes en el moco cervical, aunque no se conoce bien la dinámica de la interacción se pone de manifiesto que las mujeres que consumen con mas regularidad tabaco se encuentran mas predispuestas en el desarrollo de CaCu. La edad de la primera relación sexual, es un conocido factor de riesgo con una prevalencia de VPH más alta, que comprende las edades inmediatas al inicio de las relaciones, y responde a los patrones de comportamiento sexual;

es así que del grupo de mujeres estudiadas encontramos que en mayor porcentaje inició vida sexual activa posterior a los 17 años, con una pareja sexual y en grupos de edad de 15 a 25 años, tienen compañeros sexuales distintos. Después de este pico, le sigue una disminución muy marcada, estabilizándose en edades de 25 a 40 años en el cual se refirió tener solo una pareja sexual, mas sin embargo un porcentaje bajo manifestó mantener de 4 a 6 parejas sexuales; interpretándose esta cifra como una medida indirecta del número de mujeres portadoras crónicas de la infección viral, y por tanto, del grupo de alto riesgo para progresión neoplásica. En algunas poblaciones se ha observado un segundo pico de prevalencia en mujeres postmenopáusicas, postulándose que fuera el reflejo de una reactivación de la infección latente y que se asociaría a la reducción fisiológica de la inmunidad natural con la edad. Del estado inmunológico se conoce que además de la pérdida de inmunidad natural con la edad, las cargas virales para las mujeres portadoras de VIH es causa necesaria e indispensable para el desarrollo de CaCu.

Conclusiones

Especial consideración merece el papel del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), como muestran los estudios en los que se detectó que en mujeres VIH positivas el riesgo de infección por VPH se presenta con mayor incidencia. Los estudios anteriormente mencionados ponen de manifiesto que los factores de riesgo para la instalación, progresión y desarrollo de CaCu por infección de VPH en mujeres positivas o negativas a VIH son necesarios explorarse al realizar la revisión ginecológica en mujeres con la finalidad de realizar un impacto en la prevención y orientación por parte del personal de enfermería y equipo de salud.

BIBLIOGRAFIA

1. Registro Nacional de casos de SIDA. Centro Nacional para la prevención y el control del VIH/SIDA. Disponible en: www.salud.gob.mx/conasida/estadis/2007/transysexonoviembre.pdf
2. Abercrombie, P.D. and Korn, A.P. Lower genital tract neoplasia in women with HIV infection. *Oncology*.1998; (12):1735-1739.
3. La Ruche, G. et al. Human papillomavirus and human immunodeficiency virus infections: relation with cervical dysplasia-neoplasia in African women. *International Journal of Cancer* 1998; (76):480-486 (1998).

4. Pisani G, Facioni L, Benardi G, Fiorani F, Pisani G, Delfini R, Fortini E. Displasia cervicale e infezione da HIV. *Giorn It Ostet Ginecol* 1997;19(6):336-338.
5. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189(1): 12-19.
6. Clifford GM, Rana RK, Franceschi S, Smith JS, Gough G, Pimenta JM. Human papillomavirus genotype distribution in low grade cervical lesions: comparison by geographic region and with cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14(5): 1157-1164.
7. Castellsague X, Muñoz N. Chapter 3: Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis-role of parity, oral contraceptives and tobacco smoking. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003; (31): 20-28.
8. IARC Technical reports N3. Tobacco smoke and involuntary smoking. Lyon: IARC Press, 2004.
9. Bosch FX, Diaz M, De Sanjosé S, et al. Epidemiología de las infecciones por el virus del papiloma humano (HPV): riesgo de carcinoma cérvico-uterino y otros tumores ano-genitales. Nuevas opciones preventivas. En: De Sanjosé S, García AM. 4ª Monografía de la Sociedad Española de Epidemiología. Virus del Papiloma Humano y Cáncer: epidemiología y prevención. Madrid: EMISA, 2006: 31-50.
10. Castellsague X, Bosch FX, Muñoz N, et al. Male circumcision, penile human papillomavirus infection, and cervical cancer in female partners. *N Engl J Med* 2002; 346 (15): 1105-1112.
11. Ferlay J, Bray F, Pisan P, Parkin DM. GLOBOCAN 2002: Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. Lyon: IARC, 2004;147.
12. Ahdieh L, Klein RS, Burk R, et al. Prevalence, incidence and type-specific persistence of HPV in HIV-positive and HIV-negative women. *J Infect Dis* 2001; 184: 682-690.