

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL  
PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO EM PATOLOGIA**

**FRANCISCO JOSÉ BATISTA DA SILVA**

**AVALIAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA DA EXPRESSÃO DE  
RECEPTORES DE ESTROGÊNIO (RE) E DE PROGESTERONA (RP),  
EM NEOPLASIAS ESCAMOSAS INTRAEPITELIAIS E INVASORAS  
DO COLO UTERINO: Correlações com a Progressão Tumoral**

**Fortaleza**

**2003**

**FRANCISCO JOSÉ BATISTA DA SILVA**

**AVALIAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA DA EXPRESSÃO DE  
RECEPTORES DE ESTROGÊNIO (RE) E DE PROGESTERONA (RP),  
EM NEOPLASIAS ESCAMOSAS INTRAEPITELIAIS E INVASORAS  
DO COLO UTERINO: Correlações com a Progressão Tumoral**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Patologia do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Universidade Federal do Ceará para obtenção do Grau de Mestre. **Orientador: Prof. Dr. Francisco Valdeci de A. Ferreira**  
**Co-Orientador: Prof. Dr. Roberto Wagner Bezerra de Araújo**

**Fortaleza**

**2003**

S58a

Silva, Francisco José Batista

Avaliação imunohistoquímica da expressão de receptores estrogênio (RE) e de progesterona (RP), em neoplasias escamosas intraepiteliais e invasoras do colo uterino : correlações com a progressão tumoral / Francisco José Batista Silva. – Fortaleza, 2003.

101 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Valdeci de Almeida Ferreira

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará. Programa de Pós-Graduação em Patologia, Fortaleza-Ce, 2003

1.Colo do Útero 2. Neoplasias Uterinas 3. Sondas DNA HPV 4. Receptores Citoplasmáticos e Nucleares I. Ferreira, Francisco Valdeci de Almeida (orient.) II. Título

CDD: 618.14

**FRANCISCO JOSÉ BATISTA DA SILVA**

**AVALIAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA DA EXPRESSÃO DE  
RECEPTORES DE ESTROGÊNIO (RE) E DE PROGESTERONA (RP),  
EM NEOPLASIAS ESCAMOSAS INTRAEPITELIAIS E INVASORAS  
DO COLO UTERINO: Correlações com a Progressão Tumoral**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-  
graduação em Patologia do Departamento de  
Patologia e Medicina Legal da Universidade  
Federal do Ceará para obtenção do Grau de  
Mestre. **Orientador: Prof. Dr. Francisco  
Valdeci de A. Ferreira**  
**Co-Orientador: Prof. Dr. Roberto Wagner  
Bezerra de Araújo**

Data da Aprovação: 16/01/2004

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. João Aragão Ximenes Filho  
Universidade Federal do Ceará

---

Prof. Dr. Francisco Dário Rocha Filho  
Universidade Federal do Ceará

---

Prof. Dr. Roberto Wagner Bezerra de Araújo  
Universidade Federal do Ceará

*"Aquele que percorre o Caminho do Amor pode sofrer quando os que ele ama vão para longe. Aquele que avança pelo Caminho do Poder pode sofrer quando encontra oposição. Mas aquele que trilha o Caminho da Sabedoria encontra a paz, porque a sabedoria não pode ser tirada de ninguém. Quando a sabedoria é tão forte que mergulha no subconsciente e surge de novo e jorra no consciente, ela torna o homem imune à dor pessoal, porque sua luz afastou a escuridão de todos os níveis de consciência".*

Justin Moreward Haig, personagem do livro **The Initiate**, de  
Cyril Scott, 1981

➤ À minha esposa Lúcia, aos meus filhos Fábio e Carolina, aos meus irmãos, aos meus pais (*in memoriam*) e aos meus amigos exemplos de força, incentivo, e de amor e prazer pela vida.

## **AGRADECIMENTOS**

- Ao Professor, Dr. Francisco Valdeci de A. Ferreira, que com sua sabedoria iluminou os caminhos para a realização deste trabalho
- À Universidade Federal do Ceará, notadamente ao Departamento de Patologia e Medicina Legal que mantém a grande qualidade do seu curso de pós-graduação em patologia.
- Aos funcionários do Departamento de Patologia e Medicina Legal, em especial ao Franzé, João e Paula pela disponibilidade e dedicação em nos conduzir no aprendizado dos trâmites burocráticos e técnicas laboratoriais de imunohistoquímica.
- Ao Instituto de Prevenção do Câncer do Estado do Ceará, Instituição exemplar na Prevenção e Tratamento das Patologias do Trato Genital Inferior através de sua diretora Dra. Tânia Veras, e aos colegas de ambulatório e do laboratório de citologia.
- Às patologistas do IPCC, Dra. Déborah e Dra. Denise Nunes que viabilizaram o acesso ao Laboratório de Patologia para o estudo retrospectivo realizados em blocos e lâminas de anatomia patológica.
- Ao Serviço de Assistência Médica - SAME, do Instituto de Prevenção do Câncer do Ceará, em nome de seus funcionários pela sua presteza em nos fornecer os prontuários dos arquivos para subsidiar as pesquisas do presente estudo.
- À Maternidade Escola Assis Chateaubriand, em nome de sua diretoria Prof. Dr. Francisco Manuelito Lima de Almeida, pela disponibilidade do Laboratório de Citopatologia na complementação deste trabalho científico.
- Ao Mestrado de Tocoginecologia do Departamento Materno-infantil da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, à Coordenadora Dra. Zenilda Vieira Bruno e ao Corpo Docente.
- Ao Professor Talapala Naidu Coordenador do Mestrado de Patologia.

## LISTA DE ABREVIATURA

- HRE: Elementos de resposta hormonal
- HPV: Papilomavirus humano
- PCR: Reação em cadeia da polimerase
- LIEBG: Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau
- LIEAG: Lesão intraepitelial escamosa de alto grau
- CEC: Carcinoma escamocelular
- RE: Receptor de estrogênio
- RP: Receptor de progesterona
- NIC: Neoplasia intraepitelial cervical
- INCA: Instituto Nacional do Câncer
- HE: Coloração hematoxilina-eosina
- OMS: Organização Mundial da Saúde
- DNA: Ácido desoxirribonucleico
- DST: Doenças sexualmente transmissíveis
- AIDS: Síndrome de imunodeficiência adquirida
- MHC: Complexo de histocompatibilidade maior
- HSV-2: Vírus do herpes simples tipo 2
- TAF-1: Fator de ativação de transcrição
- TAF-2: Fator de ativação de transcrição
- EGF: Fator de crescimento epidérmico
- TGF: Fator de crescimento transformador
- IGF-1: Fator 1 de crescimento semelhante a insulina
- RNA: Ácido ribonucleico
- RNAm: RNA mensageiro
- SV-4: Vírus funcionante do macaco tipo 4
- ORF: Open reading frames (segmento aberto de leitura)
- URR: Upstream regulatory region (região regulatória contra-corrente).
- E: Early (inicial)
- L: Late (tardia)
- GDP: Difosfato de guanossina

GTP: Trisfosfato de guanosina

AMP: Adenosina monofosfato

TRH: Hormônio liberador de tireotrofina

GnRH: Hormônio liberador de gonadotrofina

TSH: Hormônio estimulador da tireóide

LH: Hormônio luteinizante

FSH: Hormônio folículo estimulante

PTH: Hormônio paratireóideo

HCG: Gonadotrofina coriônica humana

ACTH: Hormônio adrenocorticotrófico

GH: Hormônio do crescimento

PRL: Prolactina

BPV: Papilomavirus bovino

## RESUMO

O Câncer do colo uterino, permanece sendo uma patologia de grande incidência (16,3/100 mil) e mortalidade (1.627/100 mil) no nordeste brasileiro; altamente correlacionado ao HPV (98%, por PCR). A relação entre estágios evolutivos da neoplasia do colo uterino e receptores hormonais ainda é obscura. Verificou-se a expressão imunohistoquímica dos receptores hormonais RE e RP em diferentes estágios evolutivos do câncer do colo uterino em comparação ao ciclo menstrual e idade. Em 144 amostras da cérvix uterina, analisaram-se 62 casos de LIEBG, 41 casos de LIEAG, e 41 casos de CEC. A expressão imunohistoquímica dos receptores hormonais foi avaliada em escores (1 a 9): intensidade da reação (1 a 3) e dispersão celular (1 a 3), tanto no epitélio quanto no estroma. A correlação entre os parâmetros foi avaliada pelo Teste exato de Fisher-Yates. Houve diminuição da expressão nuclear de RE e RP à medida da progressão tumoral. No estroma a expressão nuclear do RE e RP tendem a aumentar de LIEBG para LIEAG e CEC, embora nestes os escores fossem menores. Com relação ao ciclo menstrual não houve alterações significativas entre a primeira e segunda fase do ciclo menstrual. As análises pré e pós-menopausa não evidenciaram variações significativas na expressão dos receptores hormonais estudados.

**UNITERMOS: Receptores hormonais, Imunohistoquímica, Carcinogênese cervical.**

## **ABSTRACT**

Cervical cancer is associated with a very high incidence (16.3/100.000) and mortality (1,627/100.000) in northeastern Brazil; strongly correlated with HPV (98% by PCR). However, the relation between the stages of cervical cancer and the hormonal receptors ER and PR remains unclear. This study presents an immunohistochemical analysis of the morphological expression of the hormonal receptors ER and PR in different stages of cervical cancer. One hundred forty-four samples were obtained for analysis from the cervixes of patients at a cancer screening service in northeastern Brazil in the years 2001 and 2002. Following gynecological examination colposcopically guided biopsies revealed apparently abnormal epithelia. Subsequently the specimens were classified in scores (1 to 9) according to hormonal receptor expression: intensity reaction (1 to 3) versus cell-marked dispersion (1 to 3). Sixty-two cases of LSIL, 41 cases of HSIL and 41 cases of ISCC were compared with regard to menstrual cycle and age. In SIL nuclear reactivity to ER decreased gradually from the lower to the higher stages, including that of ISCC. Stromal marked nuclei were seen in SIL and tended to increase in ISCC in spite of displaying lower scores. There were no significant differences for ER and PR expression related to menstrual cycle phases or menopausal status. Pre- and post-menopausal analyses showed no significant variation in the expression of either ER or PR.

**Key Words: Hormone receptor, Immunohistochemistry, cervical carcinogenesis.**

# SUMÁRIO

Pág.

## LISTA DE ABREVIATURAS

## RESUMO

## ABSTRACT

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
1.1 Histórico: Lesões Invasoras Intraepiteliais – Carcinoma <i>in situ</i> .....	12
1.2 Epidemiologia do Câncer do Colo Uterino <i>in situ</i> , Invasão Inicial e Invasor.....	15
1.3 Estimativa de Incidência e Mortalidade do Câncer do Colo Uterino.....	20
1.4 Fatores de Risco para o Desenvolvimento e Progressão do Câncer de Colo Uterino.....	23
1.5 Outros Fatores associados ao Câncer do Colo.....	25
1.5.1 Fatores Genéticos.....	31
1.5.2 Fatores Imunológicos.....	32
1.5.3 Fator Viral no Desenvolvimento do Câncer do Colo do Útero.....	34
1.5.4 Hormônios Sexuais e Carcinogênese.....	39
1.5.5 Hormônios Sexuais e Persistência de Infecção por Vírus.....	40
1.5.6 Hormônios e suas Funções.....	42
1.5.7 Mecanismo de Ação dos Hormônios Esteróides.....	44
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>53</b>
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>54</b>
3.1 Seleção da Amostra.....	54
3.2 Processamento da Amostra.....	55
3.3 Análise Histopatológica.....	55
3.4 Imunohistoquímica (RE e RP).....	56
3.5 Critérios de Elegibilidade para o Estudo.....	57
3.6 Critérios de Exclusão do Estudo.....	57
<b>4 RESULTADOS.....</b>	<b>58</b>
<b>5 DISCUSSÃO.....</b>	<b>61</b>
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>65</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>66</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>83</b>

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Histórico: Lesões Escamosas Intraepiteliais “Carcinoma *in situ*”

O conhecimento dos caracteres morfológicos próprios do carcinoma intraepitelial é de aquisição relativamente recente. No início do presente século, um grupo de investigadores vienenses, estudando o comportamento do epitélio próximo ao carcinoma invasor, trouxe os conhecimentos iniciais do que um dia haveria de ser um vasto e complexo capítulo do carcinoma *in situ*.

Lladó em 1971, assim relata os primeiros passos e a história subsequente de tal conhecimento; também, como se pode ver nos parágrafos seguintes:

As primeiras notícias a respeito de lesões carcinomatosas do tipo inicial remontam, a 1886 quando Sir John William deu a conhecer nada menos que oito casos desta natureza. Tratava-se, segundo descrição do próprio autor, de um crescimento neoplásico na superfície, confinado ao epitélio superficial. Na década de noventa Cullen publicou vários casos de epiteloma invasor circundado pôr zonas nas quais, em que pese a sua textura nitidamente cancerosa, o processo ficava localizado na superfície. A verdadeira história do carcinoma intraepitelial começa na Europa quando Schaunstein, descreve em 1908 uma série de alterações epiteliais que pela mesma morfologia e disposição arquitetônica de seus elementos, permitiam dar o diagnóstico de câncer sem necessidade de estar acompanhado de um crescimento invasor.

Com estas idéias, Pronai do Laboratório da II Clínica Ginecológica de Viena, referiu em 1909 um caso de carcinoma de evolução superficial, seguido em curto prazo de um crescimento destrutivo e invasor. Em 1910 Rubin, descobriu três novos casos de carcinoma inicial, em dois dos quais foi possível demonstrar invasão neoplásica das glândulas cervicais adjacentes.

Em 1912, foi publicada uma importante obra de caráter monográfico na qual ficou registrado tudo o que foi dito até então em matéria de câncer cervical. Figuram na ampla referência ao que desde então, se conhece como fenômeno de Schottlander e Kermauner e que, ao nosso modo de ver, guarda estreita relação com os processos epiteliais que configuram o carcinoma incipiente. Consiste o citado fenômeno na existência em nível de determinada zona

do epitélio cervical e freqüentemente nas margens de um carcinoma invasivo, de anomalias citomorfológicas e arquiteturais em tudo semelhante a observadas na área tumoral mas que, contrariamente, ficam limitadas à superfície. Tais lesões, não expressivas desde o ponto de vista clínico, foram denominadas, depósito ou incrustação carcinomatosa superficial. Ficando assim definida uma entidade histológica, cuja característica essencial era de apresentar atipias ou anormalidades em sua estrutura, análoga a do carcinoma invasor, mas sem que fosse dado observar, em nenhum ponto do âmbito lesional, o mínimo intento de penetração no estroma.

Em 1927 Schiller, chamou de novo a atenção de clínicos e patologistas ao descrever uma lesão do epitélio cervical dotada de todos os atributos próprios da malignidade exceto a capacidade de crescer infiltrando o estroma e que, pôr isso mesmo, devia ser nitidamente segregada do carcinoma invasor. Pôr aquela época, Schiller chegou a conclusão, reiteradamente confirmada em trabalhos anteriores, de que este epitélio neoplásico, assentado sobre uma camada de tecido conjuntivo indene, precedia em mais ou menos tempo ao carcinoma clinicamente invasor. As extensas investigações levadas a cabo pôr Schiller formaram como uma espécie de corpo de doutrina, de sólidas bases, sobre o qual mais tarde patologistas europeus e americanos deveriam estruturar o conceito histológico, aceito atualmente pela imensa maioria dos autores do carcinoma intraepitelial.(LLADO, 1971).

Os patologistas daquela época, fiéis todavia aos postulados básicos de VIRCHOW, mostraram reações a aceitar, como uma entidade histológica bem definida, o carcinoma pré-invasor. A tríade clássica e definidora do câncer - atipia citoestrutural, crescimento destrutivo e poder metastático tiveram de ser, à luz destas novas idéias, totalmente revisadas. A enfermidade maligna não estoura rápido, como uma bomba, sem que seja precedida de um tempo mais ou menos longo, que às vezes necessita de até 10 anos de crescimento exclusivo na superfície, durante o qual toda tentativa de diagnóstico, baseado na clinica tradicional e a simples observação especular, resultavam absolutamente inúteis. O descobrimento da lesão, localizada nos estreitos limites do epitélio, precisava da participação de outros métodos, de outros procedimentos mais refinados cuja elaboração e aperfeiçoamentos foram aplicados pelos clínicos com verdadeiro entusiasmo.(LLADÓ, 1971).

Em 1924, Hinselmann, teve a genial idéia, interessado como estava pôr estas questões, de recorrer a algum artifício que, ampliando a visão especular, o permitisse estudar melhor as lesões epiteliais da cérvix. Suas experiências culminaram, pouco depois, com a

introdução na clinica de um aparelho óptico - o colposcópico - graças a cujo uso pode com os anos levar a cabo investigações de extraordinária importância (LLADÓ, 1971).

Schiller no ano de 1929, em Viena, chegou a demonstrar, utilizando para os procedimentos especiais, que as células superficiais da ectocérvice, carregadas como se sabe, com abundante quantidade de glicogênio, davam uma coloração escura característica à ectocérvice ao ser embrocada com uma solução de lugol. Esta reação histoquímica constituiu a base do chamado *teste de Schiller* cuja utilidade, era a procura de zonas suspeitas. Graças a Schiller e mediante uma técnica relativamente simples, os clínicos puderam distinguir em meio a zonas sãs, aquelas que não o são, e que, pôr seus mesmos caracteres de anormalidades, deveriam ser atentamente examinadas. Robert Meyer em 1930, quase na mesma época de Schiller estabeleceu as bases histopatológicas sobre a qual se apóia o diagnostico de carcinoma pré-invasor.(LLADÓ, 1971).

Um novo passo, foi dado por Papanicolaou e Traut nos anos de 1941 e 1943 os quais, em colaboração conjunta, introduziram, após longas e pacientes investigações, a citologia esfoliativa como método rápido, sensível e eficaz de detecção precoce do câncer. Mediante estudo sistemático de esfregaços vaginais podemos hoje descobrir e identificar elementos neoplásicos procedentes de lesões incipientes que, por suas limitações não tiveram uma expressividade nos meios clínicos (LLADÓ, 1971).

Em que pese os muitos detratores que tiveram no início das técnicas citológicas, atualmente, confrontado por milhares e milhares de esfregaços, já não existe dúvida do extraordinário valor do dito procedimento. A sua utilidade, como técnica de rastreio aplicada a grandes massas da população, é inegável.

Anos mais tarde, quando já pareciam estar completamente esgotadas as possibilidades diagnósticas, Antoine e Grunberger, de Viena, no ano de 1949, animados pelas experiências de Vonwiller em 1945, idealizaram e estruturaram um método de amplificação que, superava em muito o clássico colposcópico de HINSELMANN, permite estabelecer de uma forma praticamente segura o diagnóstico precoce do câncer do colo uterino. Fruto de numerosos ensaios, verificado ao principio em peças operatórias, foi a aplicação em clinica humana da microscopia com luz projetada ou incidente. (LLADÓ, 1971).

Um aparelho destinado a tal fim e que é o que hoje conhecemos, ligeiramente modificado, com o nome de colpomicoscópico.

Seqüenciado, ainda, os momentos históricos mais significativos para o conhecimento das neoplasias escamosas intraepiteliais :

A identificação e descrição da atípica coilocítica, foram feitas pela primeira vez em 1955 por Koss. Stern e Neely em 1963, confirmaram a redução na incidência e mortalidade do câncer cervical em mulheres rastreadas pela citologia oncótica.

Koss, foi o primeiro a fazer a observação de que a maioria dos carcinomas *in situ* progride para carcinoma cervical invasor. (KOSS, 1969).

A distinção formal do carcinoma *in situ* das displasias, criando o conceito da existência de dois tipos de doença introduzido por Bettinger e Reagan em 1962, durou pouco tempo, pois logo depois houve a combinação do carcinoma *in situ* e displasias, em neoplasia intraepitelial cervical (NIC) (RICHART, 1969).

A relação da coilocitose com o HPV, foi realizada por Meisels (MEISELS, ROY, FORTIER, 1981).

Somente em 1983, foi feita a associação do HPV16 com o carcinoma *in situ* e carcinoma invasivo (DÜRST, 1983).

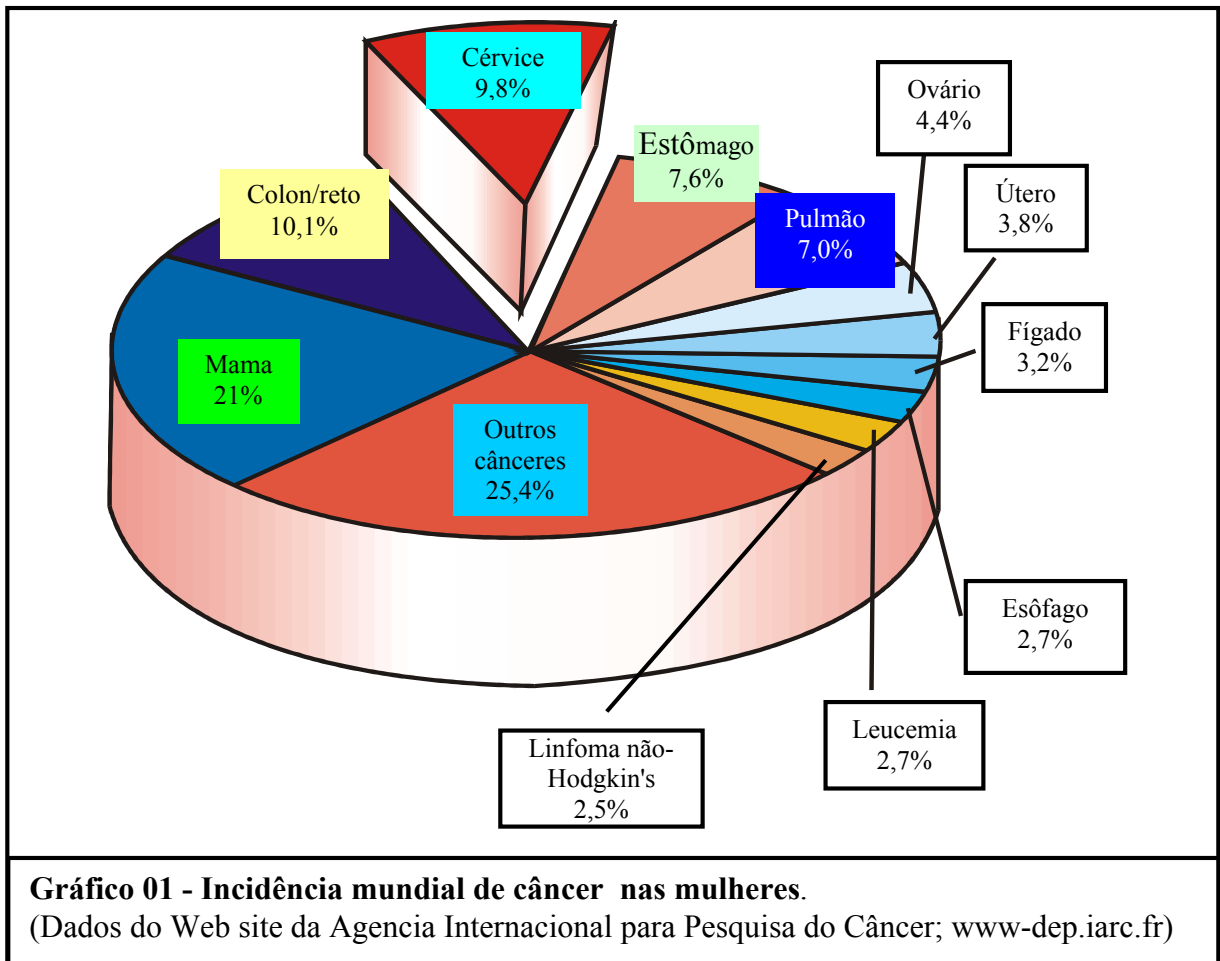
Na década de 90, observou-se que a positividade ao teste de DNA/HPV em mulheres das clínicas de Doenças Sexualmente Transmissíveis está relacionado com o desenvolvimento de NIC (KOUTSKY, 1997); também observou-se os vários tipos de HPV associados com um risco baixo, ou alto para câncer. Nesta mesma época, foi proposto um seguimento para mulheres com lesões precursoras de baixo grau pela colposcopia, e até mesmo testes de DNA/HPV em protocolo de triagem (KURMAN, 2002).

## **1.2 Epidemiologia do Câncer do Colo Uterino - *In Situ*, Invasão Inicial e Invasor**

O Brasil caracteriza-se tanto por sua extensão territorial quanto pela diversidade socioeconômica de suas diferentes regiões. Como conseqüência, a incidência do câncer em geral, varia segundo as diversas regiões, quer sejam desenvolvida ou ainda em desenvolvimento. Apresentando quadro sanitário em que se combinam doenças ligadas à pobreza, típicas dos países em desenvolvimento, e doenças crônico-degenerativas, características dos países industrializados, essa situação reflete as contradições do processo

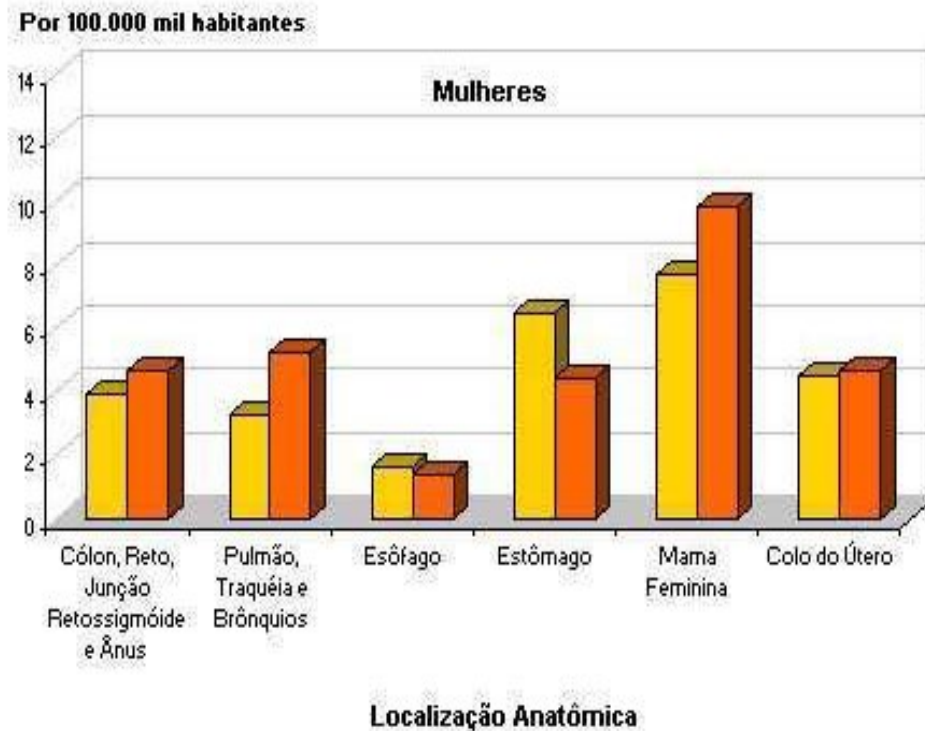
evolutivo do país. Analisando-se as taxas de mortalidade pôr câncer nas macro-regiões brasileiras, o mesmo é encontrado entre as primeiras causas de morte do país, ao lado das doenças do aparelho respiratório, causas externas, doenças do aparelho respiratório, afecções do período perinatal e doenças infecciosas (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER -INCA, 2003).

A magnitude das taxas de incidência e mortalidade de tumores previsíveis, como o câncer de pulmão e o câncer do colo uterino, justifica ações preventivas do INCA dirigidas à redução da incidência dessas neoplasias. No mundo todo, o câncer da cérvix uterina é o terceiro tumor mais freqüente, correspondendo a 9,8% de todos os cânceres da mulher (VISCIDI, 2002). ( ver gráfico 01).



É o mais incidente nos países em desenvolvimento (ELUF-NETO, 2001). No Nordeste do Brasil, o câncer do colo é superado apenas pelo câncer de mama (INCA, 2003).(ver gráfico 02).

Gráfico 02 - Taxas de Mortalidade por Neoplasias Malignas, do sexo Feminino.  
Brasil. 1980 - 1999.



Fonte : INCA – Instituto Nacional de Câncer

Entre os diversos estudos que configuram o vasto campo da patologia tumoral, cada dia é maior o interesse nos estudos no que se refere ao estudo das etapas iniciais, subclínicas, e as patologias malignas. Os tratamentos cirúrgicos, radioterápicos e quimioterápicos que a ciência tem posto em nossas mãos para combater o câncer têm-se aperfeiçoados de tal forma que, que na realidade a quantidade de câncer não tem aumentado tanto. No entanto, em todas as regiões do globo, as mulheres continuam morrendo de câncer. Sabemos que, entre mil mulheres que se consultam por uma doença ginecológica qualquer, se encontram, pelo menos, em dez delas câncer de colo uterino incipiente. Visto isto, é precisamente nesta população supostamente sã e não no grupo de pessoas com câncer avançado, como se vinha fazendo até pouco tempo, que temos que encontrar uma solução do problema. Alguém disse, exagerando talvez um pouco, que "em matéria de câncer, o começo

da sintomatologia representa o começo da incurabilidade". E assim pode ocorrer, de fato, porque o processo neoplásico, uma vez em marcha, queima rapidamente etapas.

O fato de que, como expressou Stoeckel em 1930, quando as fronteiras terapêuticas tem sido alcançadas e não podem estender-se muito mais, obriga-nos a orientar nossa ação para outros campos mais firmes e eficazes: o diagnóstico precoce. No conceito universal da luta contra o câncer, feitos por algumas nações privilegiadas e de boa economia, se vem concedendo máxima importância ao rastreamento das enfermidades em seus primeiros estágios de desenvolvimento. Análise estatística, nos permite afirmar de maneira conclusiva que o câncer é uma doença curável, desde que descoberta e tratada nos estágios iniciais. Daí a importância que se tem cobrado ultimamente em todos os países do mundo, a busca, sistematicamente planejada, de lesões carcinomatosas incipientes, susceptíveis de serem definitivamente erradicadas por procedimentos pouco mutilantes.

Esta é a razão pela qual as lesões intraepiteliais (de alto e baixo grau) do colo uterino, tem se tornado hoje o alvo principal de todas as formas de diagnóstico precoce (FERREIRA, 1999). O colo uterino, um dos órgãos de mais fácil e cômoda acessibilidade, tem sido denominado o “viveiro” das investigações cancerológicas. Com razão aponta Sirtori (1969) quando talvez seja a primeira vez na história do progresso médico que uma forma tumoral - o câncer cérvico-uterino, em sua modalidade *in situ* - se beneficia de tantas investigações ao mesmo tempo, seguindo os procedimentos técnicos mais variados (VISCIDI, 2002)

O campo da oncologia ginecológica tem se estendido tanto e tem adquirido tal complexidade, que já não pode ser alcançado por um só especialista. De tal forma, o médico que pretende reunir por si mesmo os conhecimentos que sobre esta matéria se acham dispersos em livros e revistas, geralmente em edições estrangeiras, se vêm logo rodeado por um intenso trabalho de seleção (FERNANDES, 2002). Não faltam, assim, obras de caráter monográfico que tentam dar uma visão atualizada do problema, mas por razões de idiomas, costumam ter escassa difusão entre nós.

O papel da atividade sexual na epidemiologia da neoplasia cervical tem sido apreciado há décadas. No início de 1842, Rigoni-Stern relatou que o câncer do útero (lugar, não especificado) ocorre menos freqüentemente entre as mulheres virgens do que entre as mulheres casadas. Desde este relato inicial, vários estudos têm confirmado a associação entre neoplasia de células escamosas da cérvix uterina e várias medidas de exposição sexual

incluindo múltiplos parceiros sexuais e a idade da primeira relação sexual. Recentes investigações têm demonstrado que a observação epidemiológica da associação entre comportamento sexual e câncer cervical é, devido ao subjacente parentesco entre tipos oncogênicos de Papiloma Vírus Humano (HPV) transmitidos sexualmente e a neoplasia cervical (VISCIDI, 2002).

As observações de Papanicolaou no ano de 1943, que as células cervicais esfoliadas encontradas no fundo vaginal poderiam ser usadas para detecção precoce de pequenas lesões foi a maior descoberta, permitindo a oportunidade para investigar a história natural da neoplasia cervical e o desenvolvimento de um efetivo programa de controle do câncer cervical. Embora, o conceito de que as lesões intraepiteliais pré-malignas são estágios em um contínuo, sustentavam inicialmente as bases para a implementação dos programas de rastreio populacional baseado em citologia no início dos anos de 1950, somente tornou-se amplamente aceito quando Richart e Barron relataram suas observações sobre a história natural da displasia leve em 1969 que confirmava o potencial progressivo das lesões pré-cancerosas (RICHART; BARRON, 1969).

A mortalidade por câncer cervical não teve alterações significativas durante os últimos 30 anos na maioria dos países na América Latina e o Caribe, enquanto importantes diminuições têm sido observadas nos Estados Unidos e Canadá, os dois países industrializados na Região das Américas. A citologia cervical, o método de rastreio convencional, tem sido amplamente disponível praticamente em países da região. No início dos anos de 1960, o programa de planejamento familiar nos Estados Unidos, introduziu a citologia cervical como parte de suas atividades nos cuidados primários (FRANCO; MONSONEGO, 1997).

Pesquisas de saúde na América Latina e Caribe, mostram que 50-80% das mulheres entre 15-49 anos de idade realizaram uma colpocitologia oncótica em pelo menos uma vez em suas vidas. Entretanto, a proporção de mulheres que tiveram uma colpocitologia oncótica durante os últimos três anos, diminuiu com a idade. Estudos qualitativos sugerem que as mulheres acreditavam que após os principais anos reprodutivos não existia mais necessidade de procurar cuidado a menos que elas estivessem doentes. O conceito de prevenção não foi bem entendido. Além disso, as mulheres que se beneficiavam com os exames preventivos tais como o rastreio do câncer cervical eram geralmente aquelas que tinham alto poder socioeconômico. Aproximadamente 50% das mulheres sem uma educação formal são diagnosticadas com câncer cervical em estágios avançados da doença, enquanto somente 20%

das mulheres com educação de nível superior são diagnosticadas naqueles estágios (FRANCO; MONSONEGO, 1997).

O câncer cervical é um importante problema na saúde das mulheres nos países em desenvolvimento, matando 200.000 mulheres a cada ano (ELUF-NETO, 1998). É o terceiro câncer mais comum e a causa principal de morte por câncer entre as mulheres em países em desenvolvimento. (ver gráfico 1, na página 95 - em Anexos). Pelo menos 370.000 novos casos são identificados a cada ano; 80% são em países em desenvolvimento. As taxas são mais altas na América Central e parte da África. Uma importante razão para a alta incidência de câncer cervical nos países em desenvolvimento é a falta de um programa de rastreio efetivo na detecção das lesões pré-cancerosas e tratá-las antes que progridam para câncer invasivo (VISCIDI, 2002).

Estima-se que aproximadamente 5% das mulheres nos países em desenvolvimento são rastreadas para câncer cervical nos últimos 5 anos comparadas com 40 a 50% de mulheres nos países desenvolvidos. (NATIONAL CERVICAL CANCER COALITION - NCCC, 2003).

### **1.3 Estimativa de Incidência e Mortalidade do Câncer do Colo Uterino**

Ao contrário do que ocorre nos países mais desenvolvidos, a taxa de mortalidade por câncer do colo do útero continuam elevadas no Brasil e, do ponto de vista temporal, vem aumentando: em 1979, a taxa era de 3,44/100.000, enquanto em 1999 era de 4,67/100.000, correspondendo uma variação percentual relativa de 36%. Os números de óbitos e casos novos esperados para o ano 2003 em todo o país são, respectivamente 4.110 e 16.480. Estes números esperados correspondem a taxas brutas de mortalidade e incidência de 4,49/100.000 e 19,82/100.000, respectivamente (INCA, 2003).

No ano de 2000 no mundo todo, foi diagnosticado 470.606 casos de câncer do colo uterino e tivemos 233.372 óbitos de mulheres pela doença no mesmo período. (GLOBOCAN, 2003).

Em países mais desenvolvidos que o Brasil, no ano de 2000, 91451 novos casos de câncer da cérvix uterina, foram diagnosticados, ocorrendo 39.350 óbitos neste ano, pela doença. Já no Canadá, a estimativa para o ano de 2001, é de 1450 novos casos de câncer do colo do útero, com 420 óbitos para o mesmo período. A taxa de mortalidade por 100.000

mulheres, variou de 6,4 em 1972 para 2,2 para o ano 2000, e estimativa de 2,1 para 2001 (GLOBOCAN, 2003).

Já em todos países em desenvolvimento, foram diagnosticados 379.153 novos casos de câncer da cérvix uterina no ano de 2000, com 194.025 óbitos por este tipo de câncer, no mesmo ano (GLOBOCAN, 2003).

Segundo a Organização Mundial de Saúde - OMS, no Brasil no ano de 2000, foram diagnosticados 24.445 novos casos de câncer do colo uterino, ocupando o primeiro lugar na América do Sul em quantidade, e ocorreram 8.815 óbitos no mesmo período. Em número de casos só é superado pelo câncer de mama (ORGANIZAÇÃO NACIONAL DE SAUDE - OMS, 2002).

A estimativa para o ano de 2003 para o Nordeste, é de 3.830 novos casos de câncer do colo uterino, com estimativa de 850 óbitos (INCA, 2003).(ver tabela 01).

**Tabela 01 – ESTIMATIVA DE INCIDÊNCIA E MORTALIDADE POR CÂNCER NO BRASIL – NORDESTE**

Estimativas para o ano 2003 das taxas brutas de incidência e mortalidade por 100.000 e de número de casos novos e de óbitos por câncer, em mulheres, segundo localização primária.								
Localização Primária Neoplasia Maligna	Estimativas dos Casos Novos				Estimativas dos Óbitos			
	Estado		Capital		Estado		Capital	
	Casos	Taxa Bruta	Casos	Taxa Bruta	Óbitos	Taxa Bruta	Óbitos	Taxa Bruta
Pele não Melanoma	2.730	10,62	940	17,04	85	0,24	50	0,38
Mama Feminina	4.970	19,91	2.470	44,69	1.230	4,95	630	11,12
Traquéia, Brônquios e Pulmão	540	2,17	270	4,50	620	2,31	300	5,00
Estômago	730	2,92	320	5,56	570	2,30	250	4,38
<b>Colo do Útero</b>	<b>3.830</b>	<b>15,36</b>	<b>1.560</b>	<b>28,26</b>	<b>850</b>	<b>3,38</b>	<b>355</b>	<b>6,21</b>
Cólon e Reto	780	3,14	440	7,73	400	1,55	210	3,83
Esôfago	205	0,81	95	1,38	165	0,61	60	1,04
Leucemias	510	2,07	200	3,67	370	1,44	160	2,55
Boca	430	1,68	170	2,93	135	0,53	70	0,92
Pele Melanoma	105	0,39	75	1,15	55	0,13	35	0,37
Outras Localizações	6.530	26,24	2.980	53,91	4.280	17,20	1.790	32,38
<b>Total</b>	<b>21.360</b>	<b>85,81</b>	<b>9.520</b>	<b>172,15</b>	<b>8.760</b>	<b>74,23</b>	<b>3.910</b>	<b>70,55</b>

Fonte : INCA – Ministério da Saúde

Para o Ceará no ano de 2003, há uma previsão de 510 novos casos de câncer do colo uterino, com uma estimativa de 110 óbitos pela doença (INCA, 2003).(ver tabela 02).

Em Fortaleza, para o ano de 2003, a estimativa é de 190 novos casos de câncer da cérvix uterina, com 40 óbitos para o mesmo período (INCA, 2003).(ver tabela 02).

**Tabela 02 - ESTIMATIVA DE INCIDÊNCIA E MORTALIDADE POR CÂNCER NO BRASIL – CEARÁ FORTALEZA**

Estimativas para o ano 2003 das taxas brutas de incidência e mortalidade por 100.000 e de número de casos novos e de óbitos por câncer, em mulheres, segundo localização primária.								
Localização Primária Neoplasia Maligna	Estimativas dos Casos Novos				Estimativa dos Óbitos			
	Estado		Capital		Estado		Capital	
	Casos	Taxa Bruta	Casos	Taxa Bruta	Óbitos	Taxa Bruta	Óbitos	Taxa Bruta
Pele não Melanoma	570	14,43	180	15,33	10	0,32	5	0,34
Mama Feminina	950	24,20	490	41,45	240	6,02	120	10,31
Traquéia, Brônquios e Pulmão	110	2,86	70	5,75	130	3,18	80	6,39
Estômago	200	5,13	90	7,45	160	4,04	70	5,87
<b>Colo do Útero</b>	<b>510</b>	<b>13,06</b>	<b>190</b>	<b>15,88</b>	<b>110</b>	<b>2,87</b>	<b>40</b>	<b>3,49</b>
Cólon e Reto	100	2,67	70	5,78	50	1,32	30	2,86
Esôfago	40	1,08	20	1,54	30	0,82	10	1,17
Leucemias	80	2,00	40	3,15	50	1,39	30	2,19
Boca	90	2,19	30	2,70	30	0,69	10	0,85
Pele Melanoma	10	0,37	10	0,92	5	0,12	5	0,30
Outras Localizações	1.430	36,52	930	79,28	865	22,09	470	40,07
<b>Total</b>	<b>4.090</b>	<b>104,41</b>	<b>2.120</b>	<b>180,29</b>	<b>1.680</b>	<b>94,88</b>	<b>870</b>	<b>73,89</b>

Fonte : INCA – Ministério da Saúde

O câncer do colo do útero, apesar de ser na sua quase totalidade passível de prevenção, continua a ser causa considerável de mortalidade no Brasil e em outros países em desenvolvimento (PISANI, 1999; BOSCH, 1997). Embora o exame de Papanicolaou seja altamente efetivo no diagnóstico precoce e na prevenção do câncer invasivo do colo do útero, as taxas de mortalidade e incidência mantêm-se entre as mais elevadas entre os tumores malignos que ocorrem nas mulheres brasileiras. O Ministério da Saúde, por meio do INCA, lançou em 1996 “O Viva Mulher” - Programa Nacional de Controle do Câncer do Colo do Útero e de Mama, com uma fase de intensificação (campanha), em 1988. Atualmente, o programa vem realizando cerca de 8 milhões de exames citopatológicos por ano, em todo o país. Com o objetivo de acelerar o processo de cobertura da população feminina, uma segunda

fase de intensificação deste Programa foi desencadeada no mês de março de 2002. Espera-se atingir mais de 2.500.000 mulheres que nunca se submeteram ao exame de Papanicolaou na vida ou o fizeram há três anos ou mais (INCA, 2003).

#### **1.4 Fatores de Risco para o Desenvolvimento e Progressão do Câncer do Colo Uterino**

Na década de sessenta Wynder e Hoffmann e na de setenta Starr comprovaram que existiam uma indubitável relação entre os hábitos de vida do homem e a origem de seus tumores malignos (WYNDER EL, 1983; HOFFMANN D, 1986). No que diz respeito ao colo uterino, apenas se tem dúvida de que as profundas modificações que experimentam o órgão ao longo da vida genital predispõem grandemente ao desenvolvimento neoplásico. É este um fato observado desde há muito tempo, mas que até hoje não se tem prestado as devidas atenções (LLADÓ, 1971; CRUM, 1997).

Há uma extensa literatura sobre a prevalência e a história natural da infecção por HPV cervical, desde o início dos anos de 1990. O quadro que emerge é de uma infecção viral quase generalizada, geralmente auto-limitada, e está raramente associado com doença. Uma questão ainda não respondida é se a infecção por HPV cervical é auto-limitada ou simplesmente persiste em um nível abaixo do limite de detecção dos métodos atuais. Embora a infecção por HPV seja necessária para o desenvolvimento de lesão intraepitelial escamosa de alto grau (LIEAG) e câncer invasivo, não é uma causa suficiente. Portanto, é importante identificar fatores de risco adicionais para a progressão da doença. Os tipos de fatores de risco postulados para influenciar a progressão para LIEAG e câncer cervical invasivo são fatores virais, fatores hospedeiros, e cofatores ambientais (VISCIDI, 2002; BURK, 1996).

##### **➤ HPV e Câncer**

Infecções com o vírus do HPV de alto risco não obrigatoriamente levam ao câncer. Verrugas e papilomas cervicais que estão infectados com HPVs de alto risco tais como os tipos 16 ou 18 progridem para um fenótipo maligno somente após um longo período de latência, estimado ser de 5 a 20 anos. Isto sugere a existência de importantes moduladores virais, e/ou moduladores imunes, celulares, de suas atividades transformadoras (MANSUR, 1993). Usando estudos de hibridação celular, foi mostrado que, quando as células as quais

foram imortalizadas pelo E6 e E7 são hibridadas com células primárias, elas frequentemente sofrem senescência (CHEN, 1993). Resultados de estudos mostram a evidência de que infecções com HPVs de alto risco não são suficientes para o desenvolvimento do câncer e que as células possuem mecanismos pelos quais pode haver interferência com a função da oncogênese viral, isto é, pela indução da senescência celular na presença da expressão da oncogênese viral. Para que a progressão maligna ocorra, estas funções supressivas de crescimento celular devem ser inativadas e assim, seria esperado ocorrerem outros eventos mutacionais. É claro que a oncogênese viral induz instabilidade genética, mas mais profundamente através da interação entre proteína E6 do HPV de alto risco e p53 (SMITH, 1988).

Pelo fato das mutações do gene p53 serem as lesões genéticas mais comuns em células cancerosas humanas, estas observações foram de extrema importância. Tornou-se óbvio durante os últimos cinco anos que o p53 está envolvido nas vias de reparo aos danos do DNA através da detenção de células na fase G1 após a exposição ao estresse genético. Isto permite o reparo antes da síntese do DNA replicativo. Em caso de danos intensos, que não podem mais ser reparados, o p53 induz a apoptose. Portanto, o p53 parece ter um papel crucial na manutenção da integridade do genoma celular, e a inativação do E6 pelo p53 pode resultar em um acúmulo de lesões genéticas e contribuir para a progressão tumoral. A expressão do E6, portanto, não é funcionalmente equivalente à perda do p53 através de mutações somáticas. A inativação da p53 pela E6 pode representar um passo importante na imortalização dos queratinócitos humanos (SCHENEFFNER et al, 1990; HURLIN, 1991).

A mutação exata que ocorre para levar a uma progressão maligna não foi identificada. Glicocorticóides são co-fatores que podem agir de uma maneira positiva para aumentar a capacidade de estimulação do HPV. Os HPVs de alto risco têm elementos responsivos aos glicocorticóides dentro da região regulatória de seu genoma e a adição de glicocorticóides nas análises de transformação relata-se aumentar o efeito de imortalização do HPV 16 (PATER et al. 1988). Enquanto que nenhum destes relatos elucidam o preciso caminho de sinalização através dos quais as células interagem e respondem as proteínas do HPV, eles tornam claro que estas interações são complexas e que, enquanto os vírus de alto risco codificam potentes proteínas de transformação, existe um número de mecanismos celulares que agem para salvaguardar o genoma e prevenir transformações malignas.

O estudo de HPV<sub>s</sub> e o câncer humano têm nos ensinado muito sobre a interação do vírus com a célula e o mecanismo de regulação do crescimento celular em geral (zur HAUSEN, 1989).

O papiloma vírus humano (HPV) é o maior fator de risco para o desenvolvimento do câncer cervical. Como somente algumas mulheres infectadas desenvolvem o câncer, outros fatores devem ser importantes para o desenvolvimento da doença (WALBOMERS, 1997). Estudos epidemiológicos genéticos mostram que fatores genéticos contribuem significativamente para o risco da doença. Susceptibilidade genética a exposição e/ou infecção ao HPV parece ser importante na determinação do risco individual para desenvolver este câncer induzido viralmente (KOBAYASHI et al., 2000).

Infecções com Papilomavírus Humano (HPV) de alto risco é o maior fator de risco para desenvolver lesão maligna da cérvix. O polimorfismo de genes de MHC e p53 parecem influenciar o resultado da infecção por HPV e a progressão para carcinoma de células escamosas da cérvix, embora dados controversos têm sido relatados. MHC são genes altamente polimórficos que codificam moléculas envolvidas na apresentação de antígenos, desenvolvendo um papel chave na regulação imune, enquanto o p53 é um gene supressor de tumor que regula a proliferação celular. A proteína HPV E6 dos tipos de alto risco liga-se ao p53 e media sua degradação pelo caminho da ubiquitina. O papel destes polimorfismos na susceptibilidade genética da infecção pelo HPV e para carcinoma de células escamosas da cérvix permanece sobre investigações (MACIAG, 1999, 2000).

O carcinoma cervical está ligado à infecção por HPV, mas outros fatores podem estar envolvidos na oncogênese cervical, tais como instabilidade de microsatélite (NISHIMURA et al., 2000; FRENCH et al., 2000).

## **1.5 Outros Fatores Associados ao Câncer do Colo**

### **➤ Fumo**

O hábito de fumar é considerado um cofator de risco potencial na etiologia e progressão de HSIL e câncer cervical invasivo (ROTELI-MARTINS, 1998). Em quatro estudos de caso controle que usaram o método de PCR para detectar infecção por HPV., o risco relativo é de 1,7 a 11,2. (HELLBERG, 1988; BORNSTEIN, 1995) e relatam que cotinine, nicotina e outros mutágenos usualmente encontrados no cigarro foram detectados no

muco cervical de mulheres fumantes em concentração maior que no sangue. Embora os metabólitos do tabaco como compostos do carbono por si só não sejam carcinogênicos, eles diminuem os mecanismos de defesa imunológica local, além de diminuir as células de Langerhans, e induzirem congestão local, onde o HPV poderia atuar sinérgicamente (DALING, 1992; BURGER et al., 1993).

Estudos biológicos moleculares demonstram que alterações genéticas eram mais freqüentes no material cervical de pacientes fumantes, comparados aos não fumantes (SIMONS et al, 1993). Entretanto, muitos estudos caso-controle conduzidos cuidadosamente não encontraram nenhuma associação entre o hábito de fumar e displasia cervical ou câncer cervical invasivo após infecção por HPV (CAVALCANTI et al., 2000). Portanto, a associação entre tabagismo e câncer cervical permanece controversa (ELUF-NETO, 1993).

#### ➤ **Contraceptivos Orais**

Existe um risco aumentado do câncer do colo uterino e o uso em longo prazo (12 anos ou mais) de contraceptivos orais (BRINTON, 1991). A associação é um pouco mais forte com o adenocarcinoma do que com o carcinoma de células escamosas. A associação com o uso de anticoncepcionais orais observados em estudos no qual o precancer é um resultado, pode ter sido devido a viés de detecção, visto que mulheres que usam contraceptivos orais submetem-se mais freqüentemente a exames ginecológicos, e são assim mais susceptíveis de ter as doenças detectadas mais precocemente, do que aquelas que não os usam. As dificuldades em avaliar corretamente o efeito do uso de contraceptivos orais procedem do fato de que esta variável está altamente associada com outros fatores de risco, tais como atividade sexual e história de rastreamento pelo exame preventivo (FRANCO; ELUF-NETO, 1997; GREEN, et al., 2003).

Por outro lado, o uso de contraceptivos orais, permite uma maior promiscuidade e, assim uma maior exposição a doenças sexualmente transmissíveis devido ao não uso de preservativos locais e possivelmente a modificações locais de receptividade ao HPV (FRANCO; ELUF-NETO, 1997).

Um estudo feito pela Organização Mundial de Saúde produziu a primeira evidência convincente da longa suspeita da ligação de contraceptivos orais e câncer cervical. A pesquisa, realizada pela Agência Internacional da Organização Mundial de Saúde para Pesquisa sobre o

Câncer, encontrou que o uso prolongado de contraceptivos orais aumenta o risco de câncer cervical em quatro vezes, mas somente em mulheres que são portadoras de HPV.

Estes resultados foram publicados recentemente na revista científica *The Lancet*. Mulheres que tinham tomado contraceptivos orais por 5-9 anos eram aproximadamente três vezes mais prováveis de desenvolver a doença do que as não usuárias. Mulheres que tomaram a pílula por mais de 10 anos eram quatro vezes mais propensas a desenvolver o câncer cervical do que as que não usaram. (BRABIN, 2002).

O estudo considerava somente mulheres que eram infectadas por HPV, visto que os autores aceitam o ponto de vista que o vírus é “provavelmente um pré-requisito para o desenvolvimento da doença” (MORENO et al., 2002).

Mulheres que tinham HPV positivo e que tiveram mais de cinco gestações a termo e que tinham tomado pílula por mais de cinco anos correm o risco de aproximadamente 12 vezes mais de desenvolver o câncer cervical do que mulheres nulíparas HPV positivo que não tomavam pílula (BOSCH et al., 1992).

### ➤ **Doenças Sexualmente Transmissíveis**

Várias são as doenças infecciosas de transmissão sexual que estão relacionadas com a gênese e progressão do câncer cervical. Ainda não é bem conhecido o processo pelo qual isto acontece, mas pode ser explicado diretamente pela interação de metabólitos ou outros carcinógenos que aumentam a susceptibilidade do epitélio inflamado ou reparativo (SVARE et al, 2002).

Dentre os agentes estão incluídos, principalmente a *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria Gonorrhoeae*; e provavelmente, o *Treponema pallidum*, *Mycoplasma*, e *Trichomonas vaginalis*, os quais modificam a síntese das proteínas e a estabilidade do DNA, e que podem levar à secreção de peróxidos, resultando na acumulação de radicais livres (DESANJOSE et al., 1994; FISCHER, 2002; KOSKELA, 2000).

O reconhecimento de que o risco de câncer cervical é fortemente influenciado pela atividade sexual levou à pesquisas dos agentes transmitidos sexualmente como um fator etiológico no câncer cervical e conduziu à descoberta do papel da infecção pelo HPV. Em estudos caso-controle de NIC 3 e câncer cervical invasivo realizado na Espanha e Colômbia, exposição a outros agentes transmitidos sexualmente eram medidos sorologicamente em

mulheres que eram examinadas para HPV usando análise pelo PCR. A presença e níveis de anticorpos para citomegalovirus, Treponema pallidum, e vírus do herpes simples do tipo 2 não foram relacionados ao NIC 3 ou ao câncer cervical invasivo; já as mulheres com anticorpos contra C. trachomatis tinham um risco moderado para NIC 3, e títulos altos de anticorpos era de alto risco para câncer cervical invasivo. Mulheres espanholas com anticorpos para N. gonorrhoeae tinham também um risco aumentado para câncer cervical. Em um estudo soroepidemiológico prospectivo de mulheres de países Nórdicos, anticorpos no soro para C. trachomatis estava associado com um risco aumentado de duas vezes para carcinoma de células escamosas em pacientes positivas para HPV (ANTTILA et al., 2001; MUÑOZ, et al., 1996; SMITH et al., 2002; LEHTINEN et al., 2002; ASHLEY, 2002).

Na verdade estes agentes funcionam como co-fatores, propiciando um melhor meio para a ação do HPV na gênese do câncer cervical.

Na prática diária observa-se que quanto maior é a quantidade de doenças sexualmente transmissíveis encontradas nas pacientes, maior é a probabilidade da ocorrência de lesões de alto grau da cérvix, mostrando que existe uma somatória dos vários cofatores no desenvolvimento das lesões do colo uterino.

Também se observam que os processos inflamatórios da ectocérvice e endocérvice provocados pelos agentes infecciosos de transmissão sexual, abrem uma porta para a ação carcinogênica do HPV.

### ➤ Fatores Dietéticos

Estudos epidemiológicos continuam a identificar uma associação de uma dieta rica em micronutrientes antioxidantes na prevenção do câncer. Um número de estudos caso-controle e de coorte têm demonstrado uma relação entre a alta ingestão de alimentos ricos em carotenóides, tocoferóis e vitamina C com um risco reduzido de doenças malignas humanas (POTISCHAMAN; BRINTON, 1996; PALAN et al., 1996).

Por outro lado em alguns estudos caso-controle conduzidos nos Estados Unidos não conseguiram identificar quaisquer efeitos para estes fatores dietéticos (ZIEGLER, 1990). Os resultados de estudos baseados em métodos de rememoração da dieta geralmente foram corroborados por pesquisas laboratoriais avaliando constituintes dietéticos no plasma

(BERNSTEIN, 1984). Como é verdade para os fatores reprodutivos, é provável que a dieta possa influenciar diferenças regionais na incidência do câncer cervical entre diversos países.

Pesquisas realizadas com o beta-caroteno (pro-vitamina A), revelaram que em pacientes com lesões precancerosas e cancerosas, a concentração destes micronutrientes no sangue e tecido cervical eram mais baixas do que em pacientes sem a doença. Nesta pesquisa também foi verificado que: nem toda concentração do beta-caroteno no plasma reflete a concentração do micronutrientes no tecido cervical; assim em muitos casos, é necessária a medida da concentração do micronutrientes nos tecidos para definir o papel do beta-caroteno na carcinogênese cervical, sendo assim, a manutenção adequada da concentração do beta-caroteno no plasma e tecido cervical é necessária para a prevenção do precancer e câncer cervical (GIULIANO, et al., 1997). O beta-caroteno vem recebendo mais atenção ultimamente, em razão de seu papel como antioxidante. Presume-se que neste caso o beta-caroteno previne o desenvolvimento de doenças nas quais está envolvida a ação dos radicais livres do oxigênio (GOODMAN, 1998).

Uma vez que o crescimento e a diferenciação das células epiteliais depende dos retinóides, e muitos tumores humanos são de origem epitelial (carcinomas), a vitamina A surge como um elemento protetor. Alguns estudos epidemiológicos demonstraram uma relação inversa entre o conteúdo de vitamina A na dieta e o risco de câncer (BROOM, 2000).

Em um outro trabalho observou-se que: a taxa de progressão do carcinoma *in situ* ou câncer cervical invasivo era de 4,5 vezes mais alta em mulheres com baixo nível de retinol no soro do que naquelas com altos níveis de retinol no soro. O retinol agiria como um modificador efetivo do risco para câncer cervical HPV- associado (LEHTINEN et al., 1999).

Os retinóides (retinol, retinal e ácido retinóico ou vitamina A) inibem o crescimento e a diferenciação reversa de células do carcinoma de células escamosas *in vitro*. *In vivo* inibem a angiogênese e induzem a apoptose das células tumorais (BROOM, 2000).

Estudos realizados entre mulheres negras, indicam que o licopeno e talvez a vitamina A possam desempenhar um papel protetor nos estágios iniciais da carcinogênese cervical (KANTESKY, et al., 1998).

As células em rápida divisão necessitam de grandes quantidades de ácido fólico, importante na síntese das purinas. Com base na toxicidade seletiva das células em crescimento

rápido como células tumorais, esta função do folato também constitui a base para o desenvolvimento de drogas antineoplásicas (BROOM, 2000).

Os estudos epidemiológicos previamente observados sobre o folato e o câncer cervical, e os ensaios clínicos sobre a suplementação na displasia cervical têm mostrado resultados controversos assinalam os especialistas. A equipe da Dra. Weinstein avaliou a relação do folato no soro e nos glóbulos vermelhos com o câncer cervical invasivo no estudo de casos-controle em grande escala. Os baixos níveis de folato no soro e glóbulos vermelhos se associaram de forma moderada, mas não significativa com o aumento do risco de câncer cervical invasivo. Estes achados sugerem um papel do metabolismo das moléculas com um átomo de carbono na etiologia do câncer cervical, assinalam os investigadores (WEINSTEIN, 2001; POTISCHMAN, 1996).

#### ➤ **Paridade**

No tocante ao grau de paridade, o problema oferece características muito semelhantes. Maliphant, em 1949 afirma, baseado no estudo de 1.200 casos de câncer da cérvix, que as multíparas tem dez vezes mais probabilidade de serem afetadas do que as nulíparas ou virgens, acrescentando que as mulheres com seis filhos, por exemplo, estão duplamente expostas que as que têm um só filho. Vários outros autores, desde 1949 a 1970, apresentam dados numéricos que apóiam ditas teses (WAHI, 1969). No entanto, segundo alguns autores, nem todas as estatísticas são coincidentes neste sentido, como Winder em 1954, Rotkin e King em 1962, entre outros, discordam abertamente desta opinião geral, dizendo da escassa importância que tem o número de partos como fator predisponente do câncer do colo uterino. Truelson, em 1949, reafirma este ponto de vista e diz que, em todo caso, só o primeiro parto seria patogenicamente decisivo. Christopherson e Parker, em 1965, acham que o índice de carcinoma aumenta em consonância com a paridade, atribuem o fato mais devido as circunstâncias, frequentes em tais casos, de haver iniciado os contatos sexuais precocemente (LLADÓ, 1971; BOSCH, 1992; ELUF-NETO, 1994).

#### ➤ **Início Precoce da Atividade Sexual**

Estatisticamente está comprovado que o câncer do colo uterino aparece com maior frequência nas mulheres que se casam ou começam a vida sexual ativa antes dos 20 anos.

Tanto nas mulheres índias (MALI et al., 1968; WAHI et al., 1969) como nas negras (ROTKIN; TAYLOR, 1969), entre as que é freqüente o matrimônio precoce, o câncer aparece cronologicamente muito antes das ocidentais. McGregor (1965) e Ludin e Erickson (1965) assinalam que entre o primeiro contato sexual e o desenvolvimento de um câncer *in situ* da cérvix, podem transcorrer uma média de 5 a 10 anos. Por tal razão não se deve estranhar que Rotkin, inclua as adolescentes sexualmente ativas no grupo de pacientes com risco elevado (ROTKIN, 1967) e Graham (1960), movido por idêntica inquietude, aconselha planejar as campanhas de prevenção do câncer do colo uterino centrando particularmente a atenção nas mulheres que tenham contraído matrimônio antes dos 20 anos. Atualmente sabe-se que alguns fatores associados ao coito desempenham um papel importante na gênese do câncer cervical, dentre eles parece ser o HPV o mais importante (LLADÓ, 1971; BOSCH, 1992; MUÑOZ, 1996; ELUF-NETO, 1998; CAVALCANTI et al., 2000).

#### ➤ **Multiplicidade de Parceiros**

Sabe-se que na gênese do câncer cervical, o fator quantidade de parceiros, em que a mulher manteve relações sexuais no decorrer de sua vida, é de muita importância, visto que as possibilidades de contrair o HPV são muito maiores, como também de adquirir outros fatores de risco, inclusive o HIV, e outras patologias de etiologia infecciosa. Aquelas mulheres com 10 ou mais parceiros têm três vezes mais risco de contrair a doença. A quantidade de homens atualmente infectados com HPV é cada vez maior. Na atualidade o herpes genital (HSV-2) pode ser considerado como um fator de risco para progressão das lesões cervicais, uma vez que estudos mostram o sinergismo com o HPV na história natural do câncer cervical (MUÑOZ, 1996; CAVALCANTI et al., 2000; ELUF-NETO, 1998; SVARE et al., 2002; SMITH, 2002).

#### **1.5.1 Fatores genéticos**

Grupos familiares foram observados em alguns cânceres humanos, tais como câncer de mama, próstata, pulmão, colon, e estômago (LYNCH, 1995). A possibilidade de predisposição genética no câncer cervical é sugerida por relatos ocasionais na literatura descrevendo famílias nas quais vários membros foram afetados pelo câncer cervical (ANDREWS et al., 1981; BENDER, 1976). FURGYIK et al. (1986), conduziu o primeiro

estudo prospectivo de risco familiar para câncer cervical. Eles encontraram que o câncer cervical foi diagnosticado significativamente com maior frequência em mães e irmãs de pacientes com câncer cervical (15,6%) do que em membros familiares femininos do companheiro masculino. Estudos em gêmeos também sugerem que determinadas mulheres podem possuir uma susceptibilidade genética ao câncer cervical. AHLBOM *et al.* (1987), identificaram pares de gêmeas nos quais um ou ambos os membros tinham câncer cervical *in situ*, observação pesquisada no Registro Sueco de Gêmeas para o Registro Sueco de Câncer. Gêmeos monozigóticos tinham duas vezes o risco maior de câncer cervical do que gêmeas dizigóticas, sugerindo um efeito genético em oposição ao fator familiar ambiental. Em um estudo, o Registro de Câncer Sueco foi usado para identificar parentesco de pacientes com câncer cervical e selecionados aleatoriamente nos controles pareados pela idade (MAGNUSSON, SPAREN, GYLLENSTEN, 1999). Irmãs de mãe biológica tinham aproximadamente duas vezes maior risco de desenvolver câncer cervical quando comparadas com irmãs adotivas. Os estudos dão evidência epidemiológica para a predisposição genética ao câncer cervical. Entretanto, os riscos relativos são pequenos, e grupos familiares poderiam também ser consistente com a diferença conhecida no risco de câncer cervical associados com diferentes grupos socioeconômicos (FAJAL, 1981; MAGNUSSON, 2000; VOGELSTEIN, 2002).

### **1.5.2 Fatores Imunológicos**

A imunossupressão local ou generalizada pode aumentar a sobrecarga das infecções de HPV e HSV no trato genital, aumentando o risco para o desenvolvimento de neoplasias intraepiteliais e aumentar a taxa de progressão para o câncer invasivo (KOBAYASHI, 2000; HANCHIUGA, 2001).

A imunossupressão local pode resultar de efeitos tais como, cigarro, irradiação ou exposição repetida ao plasma seminal. A redução generalizada na imunocompetência pode ser devido a condições tais como linfomas, infecções por HIV, doença de Hodgkin e terapias imunossupressoras (corticosteróide) para problemas tais como, asma severa, lupus eritematoso sistêmico e transplante de órgãos (BORNSTEIN, 1995; SESHADRI, 2001). As mulheres também aumentam seu risco para NIC envolvendo-se em outros conhecidos comportamentos que suprimem o sistema imune. Estes incluem o uso de drogas, álcool e cigarros. O último é particularmente importante porque enquanto tem ocorrido uma diminuição no uso do cigarro

pelos homens, o número de mulheres que fumam tem aumentado dramaticamente nos últimos anos - especialmente em garotas adolescentes (HELLBERG, 1986). A nicotina e os subprodutos do cigarro aumentam na mulher o risco relativo de câncer cervical porque a concentração destas toxinas no muco cervical diminui a capacidade imune das células de Langerhans para proteger o tecido cervical da invasão de fatores oncogênico, tais como infecção pelo HPV (YLITALO et al., 1999).

É amplamente aceito o conceito de que mulheres infectadas por HIV são particularmente de alto risco para desenvolver neoplasias anogenital (JUDSON, 1992). Além disso, muitas mulheres infectadas por HIV são de se esperar que tenham outros fatores de risco epidemiológico para o desenvolvimento de câncer cervical invasivo e a infecção por papiloma vírus humano (HPV), incluindo múltiplos parceiros sexuais, sexo com homens de alto risco, primeira relação sexual muito jovem, fumo, baixo poder socioeconômico, e ao baixo comparecimento aos exames de prevenção do câncer ginecológico. Em dois estudos, ambos em áreas de alta prevalência de HIV, uma associação estatisticamente significativa entre HIV e NIC foi observada. Por causa do número de adolescentes, bem como de adultos, com HIV está aumentando na maioria dos países onde o câncer cervical é em grande parte não tratado, é de se esperar que a taxa de câncer cervical continue aumentando, especialmente em áreas onde as taxas de DST e HIV/AIDS são altas (LANDESMAN, 2000).

Em 1987, foi publicado em Londres o primeiro relato ligando a neoplasia intra-epitelial cervical (NIC) com infecção pelo HIV. Este relato inicial foi limitado a 11 mulheres infectadas pelo HIV submetidas a um rastreamento citológico de rotina. Oito (73%) destas pacientes tinham citologia anormal e, quando a colposcopia era realizada em 9 destas mulheres, 5 tiveram NIC confirmadas pela biópsia, inclusive 2 casos de NIC de alto grau. Após estes relatos iniciais, vários outros estudos, envolvendo números relativamente pequenos de mulheres infectadas por HIV, confirmaram uma elevada prevalência de NIC em mulheres infectadas por HIV, variando de 17% em um grupo de mulheres infectadas pelo HIV através de inseminação artificial ou transfusão sanguínea, a 27% em mulheres infectadas através do uso de drogas intravenosas. No entanto, esses primeiros estudos não possuíam grupos-controle apropriados e foram criticados com bases no fato de que as taxas elevadas de NIC detectadas nos grupos infectados pelo HIV podem ter sido secundárias à elevada prevalência de fatores de risco para o NIC, ao invés da infecção HIV per si (PETRY et al., 1994).

### 1.5.3 Fator viral no desenvolvimento do câncer do colo do útero

#### ➤ Papilomavírus Humano (HPV)

Os papilomavírus são vírus de DNA epiteliotrópico que atacam uma ampla variedade de animais. Os papilomavírus humano (HPVs) especificamente induzem doenças em muitos locais diferentes por todo o corpo humano. A verruga comum é o resultado de infecção pelo HPV e tem sido identificada clinicamente há mais de 2.000 anos. A etiologia viral destas verrugas foi demonstrada em 1907 por Ciuffo, quem induziu a sua transmissão através de um filtrado de células livres. Em 1842, uma relação entre o câncer cervical e atividade sexual foi descrita por Rigoni-Stern, o qual observou que o câncer cervical quase sempre nunca era visto em virgens e mais comum em prostitutas (VISCIDI, 2002). No Brasil, Magalhães, já em 1920, verificou que as verrugas conservavam o poder infectante por até 72 horas após a colheita, relatando também período de incubação de 20 dias para manifestações cutâneas visíveis em bezerros sadios inoculados com emulsão intravenosa. A partir dos estudos realizados por Barret et al. (1954), verrugas genitais foram relatadas como sendo sexualmente transmissíveis com base em evidência de mulheres que as desenvolvera após manterem relações sexuais com seus maridos; os homens levaram para casa as verrugas adquiridas sexualmente no estrangeiro durante a guerra da Coreia (YAMAMOTO; ALVES, 1998).

O trabalho de Shope em 1933 foi o primeiro a estabelecer uma conexão entre o papilomavírus e o câncer. Esses estudos sobre o papilomavírus de coelho, ou vírus Shope, relataram a constatação de que os papilomavírus eram os primeiros vírus de DNA a ser tumorigênicos em mamíferos. Antes do final da década de 70, um pequeno interesse por infecções do papilomavírus humano, foi focado em verrugas genitais externas (*Condylomata acuminatum*), suspeitas de serem doenças sexualmente transmissíveis (DST) desde a antiguidade, e convincentemente provadas em 1954. O final da década de 70 testemunhou uma grande ruptura, à microscopia óptica, com a descrição da coilocitose (o efeito citopático do HPV, regularmente presente nos condilomas exofíticos) como também em lesões epiteliais planas, ligando, assim, o HPV com lesões precancerosas do colo uterino e de outras mucosas genitais (MEISELS; FORTIN, 1976; PUROLA; SAVIA, 1977; JACYNTHO, 1994). Entretanto, devido ao fato dos papilomavírus não poderem se desenvolver em cultura, posteriormente pesquisas sobre a tumorigenicidade desses vírus não foram possíveis até 1970,

quando a tecnologia de DNA recombinante abriu novas possibilidades para a compreensão do vírus. Os estudos de Zur HAUSEN et al. (1974), levaram à descoberta de DNA de HPV no carcinoma do colo uterino. Em 1983, Durst, trabalhando no laboratório de Zur Hausen, descobriu um novo genótipo de HPV, tipo 16 (HPV16), em uma amostra de biópsia de câncer cervical invasivo. Outros pesquisadores no mundo inteiro já confirmaram essa associação, e descreveram malignidade em muitos outros locais urogenitais (VISCIDI, 2002; MONSONEGO, 1990).

As doenças causadas pelas infecções virais, foram historicamente difíceis para estabelecer a natureza da associação e a evidencia da razão que levou à doença. Embora se acreditasse que certas doenças fossem devido a algum agente infeccioso, a existência de muitos vírus só foi provada após a tecnologia da microscopia eletrônica capaz de visualizar as partículas infecciosas. Os vírus do grupo Papilomavírus Humano (HPVs) não são exceção a esta regra, e foram primeiramente relatados por Strauss em 1949. Antes disso, as verrugas foram reconhecidas como infecções transmissíveis por meio de experiências com auto-inoculação (YAMAMOTO; ALVES, 1998; JACYNTHO, 1994).

As pesquisas da infectividade e capacidades dos vírus, foram capazes de progredir durante a ultima metade do século vinte, enquanto as pesquisas do papilomavírus foram dificultadas pelo fato de que a cultura do vírus em uma variedade de células hospedeiras parecia impossível. O advento das técnicas de biologia molecular e sua difusão de aplicação na década de 70 foram os principais ímpetus para a evolução de nosso entendimento da biologia do papilomavírus e teve um enorme salto na pesquisa básica e aplicação clínica (STERLING, 2001).

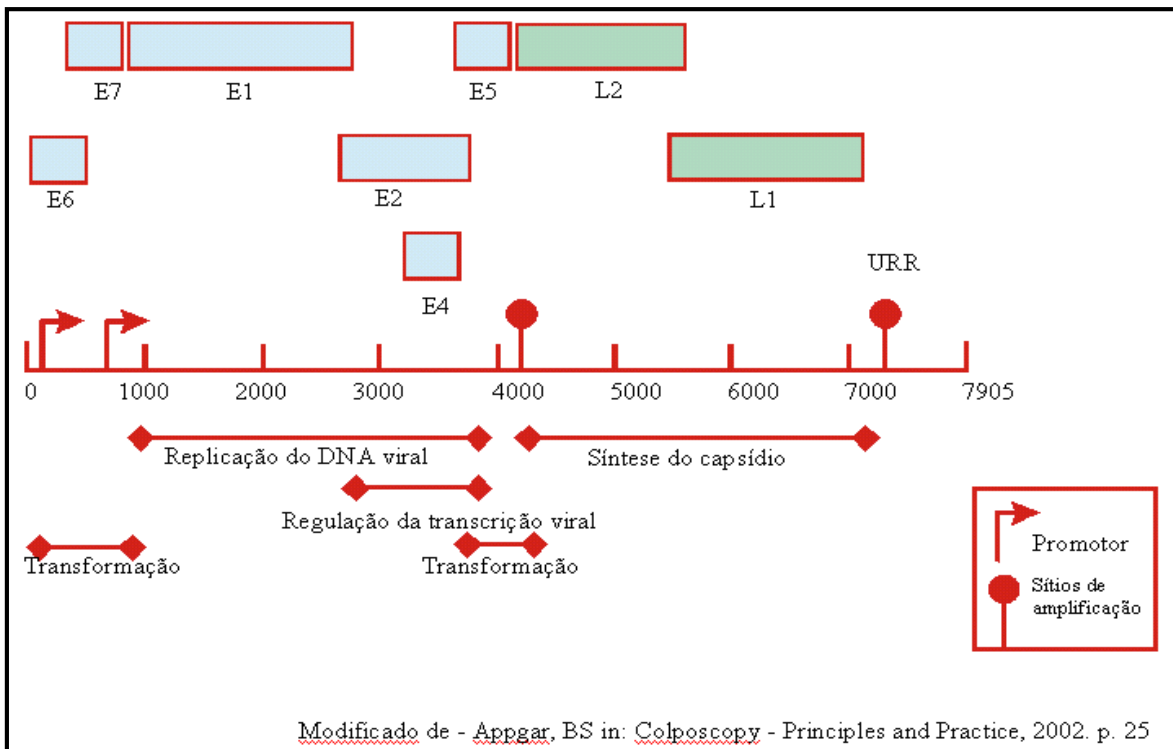
Em um trabalho realizado por Walboomers *et al.* demonstraram, usando uma metodologia bem controlada, que o DNA papilomavírus humano (HPV) está presente em quase todo carcinoma cervical invasivo (SCHIFFMAN, 2000). O carcinoma HPV negativo, portanto, parece ser raro (HARRINGTON, 1997). Isto tem uma implicação significativa não somente em consideração a nosso entendimento do câncer da cérvix, mas também para o papel do teste de HPV no rastreamento cervical (WALBOOMERS, 1999).

➤ **Biologia do HPV - Classificação, Estrutura viral e Tipos de HPV**

Os papilomavírus pertencem à família **Papovaviridae**, espécies-específicas e sítios-específicos, sendo classificado de acordo com a espécie de origem (Papilomavírus Humano - HPV), Papilomavírus Bovino - (BVP) (ARENDS, 1998; COLE, 1993).

Os papilomavírus formam partículas virais ou vírions, não envelopados, que possuem uma dupla hélice, fortemente espiralada, e genoma circular de aproximadamente 7.200 a 8.000 pares de base (ZUR HAUSEN; VILLIERS, 1994; ZUR HAUSEN 1996; DE VILLIERS, 1997). (ver figura 01).

**FIGURA 1 – Genoma da HPV**



Os papilomavírus humano não podem se multiplicar facilmente em culturas celulares infectadas. Portanto, não tem sido possível estabelecer nenhuma classificação por sorotipo. Sucesso limitado tem sido obtido com a produção *in vitro*, fazendo cultura em células humanas infectadas, porém, esse procedimento não tem produzido partículas viróticas

infecciosas. Ao invés de estabelecer classificação por sorotipo, elas foram desenvolvidas por genótipo com base na homologia do DNA (VILLA, 1998; ALMEIDA FILHO, 1994).

Atualmente, mais de cem (100) genótipos do HPV já foram identificados, baseados nas diferenças de suas seqüências de nucleotídeos (ZUR HAUSEN, VILLIERS, 1994). Por análise de hibridação para caracterizar um novo tipo de genoma viral deve ser diferente em material de DNA em pelo menos 50% dos já descritos (BERNARD, 1994).

Quanto ao potencial oncogênico os vírus (HPV) foram classificados em 3 grupos: potencial baixo ou nenhum potencial oncogênico; neste grupo são incluídos os tipos HPV 6, 11 e de 40 a 44, geralmente associados aos condilomas exofíticos que afetam a pele anogenital e a parte inferior da vagina e nas lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau (NIC-I), os quais raramente progridem para câncer e que a maioria destas lesões regridem espontaneamente. Os de potencial oncogênico alto inclui os tipos de HPV 16, 18, 45, 56, e provavelmente algum tipo caracterizado mais recentemente, os quais estão associados com lesões intraepiteliais escamosas de alto grau e carcinoma cervical. Os HPVs de potencial oncogênico intermediário, inclui os tipos 31, 33, 35, 51 e 52 cujas freqüências combinadas de associação aumentam dentro do espectro de lesões intraepiteliais escamosas, porém se reduzem no carcinoma. (SYRJANEN, 1989; VISCIDI, 2002; ZUR HAUSEN, 1991).

### **- Organização do Genoma do HPV**

Apesar de sua variedade, todos os papilomavírus humanos parecem compartilhar uma organização genética semelhante, apesar de haver diferenças nas funções dos genes virais individuais e na sua regulação. O tipo de HPV genital mais comum associado com o carcinoma genital, o HPV16, tem sido o mais extensamente estudado (TUREK; SMITH, 1997; HO, 1998).

Em sua organização genética o DNA-HPV consiste de *segmentos de leituras abertas* (**Open Reading Frames - ORF's**), que são uma seqüência de nucleotídeos, que tem um potencial de codificar todas as proteínas virais (segmento de codificação de genes). Assim, o genoma viral pode ser subdividido em três regiões:

1. *Região Reguladora Superior* ou *Região Reguladora não Codificada*, também referida como *Região de Controle Longo*, e também denominada de *Região Regulatória Contracorrente* (**Upstream Regulatory Region - URR**) que contem

os elementos de controle para transcrição e replicação e a origem da replicação viral. Representa 15% do genoma virótico, ficando localizada entre os segmentos de leitura inicial e tardio. Numerosos fatores celulares influenciam positivamente ou negativamente a transcrição do HPV pela ligação ao URR (TUREK, 1994)

2. Região genética inicial viral, também chamada de Primeira Região ou Região Iniciadora (early region - E), envolvendo aproximadamente metade do genoma, é transcrita antes, bem como durante a síntese do DNA viral. Os genes iniciais são: E2, o qual codifica as proteínas requeridas para controlar a transcrição de outros genes (como E6 e E7) (SCHLOSSER; HOWETT, 2002); E1 e E2 estão envolvidos na replicação e transcrição do DNA viral; o E6 e o E7, são responsáveis pela alteração dos padrões de crescimento das células infectadas (proliferação celular) e agindo pelo menos em parte pela interferência com controle da célula-hospedeira da transcrição e do ciclo celular; e o E5, parece alterar o crescimento celular pela estimulação do crescimento via tradução de sinais (PIM, 1992); o gene E4, apesar de estar localizado na região inicial, é ativo em paralelo com os genes tardios. O polipeptídeo E4 desestabiliza redes de filamentos intermediários (citoqueratina) na camada superior do epitélio escamoso e da pele, desta forma aparente facilitando a liberação do vírion (ZHOU, 1991). O E3 e o E8 não apresentam um nível tão elevado de conservação e não estão presentes em alguns HPVs.
3. A última região ou Região Tardia (late region - L), consiste dos genes virais L1 e L2, que codificam as proteínas estruturais do capsídio viral, os quais, são requeridas para a integração de partículas infecciosas virais, ou seja, são expressos somente em infecções virais produtivas, onde seus produtos gênicos estão restritos as células epiteliais de diferenciação suprabasal (BORNSTEIN, 1995). O HPV não possui a membrana exterior observada em outros vírus, o que pode explicar o porquê do baixo nível de antigenicidade das infecções por HPV (SCHLOSSER, 2002; TUREK; SMITH, 1997; VILLA, 1998; SINGER, 1995; COSSART, 1995).(ver figura 2, na página 83 em Anexos).

## **- Características Citológicas do HPV**

Embora estudos com papilomavírus animal tenha estabelecido seu papel potencial na gênese da neoplasia, a mais significativa ligação entre HPV e neoplasia cervical humana veio na forma de observação das atipias coilocíticas, uma característica citológica comum na colpocitologia anormal, que é o marcador morfológico celular para a presença de infecção genital por HPV (DE VILLIERS, 1987). Assim, a hipótese inicial de que o HPV era um vírus oncogênico na cérvix era derivado não somente da biologia molecular mas também da evidencia morfológica através da associação do papilomavírus genital, o esfregaço de Papanicolaou anormal, e precancer cervical. A cópia exata dos HPVs genital redirecionou a atenção da morfologia do HPV-infecção para a patologia molecular das doenças HPV-relacionadas, na qual os ensaios moleculares poderiam identificar ácidos nucleicos do HPV na ausência de partículas virais ou proteínas capsídios. Assim, tornou-se possível identificar o ácido nucleico do HPV não somente no condiloma, mas também no precancer e carcinoma escamoso do trato genital feminino (MEISELS et al, 1981; CASAS-CORDERO, 1981).

### **1.5.4 Hormônios sexuais e carcinogênese**

Nos últimos anos, tem se tornado muito evidente de que várias espécies de hormônios estão relacionadas como agentes etiológicos de tumores benignos e malignos, e são envolvidos ativamente na patogênese de lesões neoplásicas (GONZÁLEZ-SANCHEZ, 1996).

O papel dos hormônios na regulação do crescimento e desenvolvimento já é conhecido há muito tempo. Da mesma forma, sabe-se que os hormônios desempenham um importante papel na gênese de tumores benignos como o adenoma da hipófise (FURTH, 1955). Além disso, a importância dos hormônios sexuais na glândula mamária e prostática é bem conhecida (HENDERSON, 1982; WILLIAMS, 1991). Os hormônios podem estimular o crescimento de células incluindo células mutadas, e eles tem, portanto, um papel importante como co-carcinogênico. Pela estimulação da mitose, os hormônios aumentam o risco de mutação somente pelo aumento do número de divisões celulares (AMES, 1990). Normalmente a maioria das mutações é corrigida pelos mecanismos de reparo do DNA

(LINDAHL, 1976). Este processo de reparação é rápido, e existem razões para acreditar-se que a velocidade da divisão celular pode aumentar o risco de mutações permanentes que são transferidas para as células filhas. Assim, os hormônios podem não somente ser cocarcinogênico, mas na realidade estarem entre os mais importantes carcinógenos pelo aumento do risco de mutações em suas células alvos normais e ao mesmo tempo estimular o crescimento das células mutadas (THOMSON, 2000).

### **1.5.5 Hormônios sexuais e persistência de infecção por vírus**

Embora o HPV seja fortemente ligado ao câncer cervical e seus precursores (PFISTER, 1997), displasias cervicais, está claro que outros fatores de risco estão associados com a aquisição e retenção do vírus e oncogênese viral associada (MOSCICKI et al., 1998). Mais recentemente, pesquisadores tem dado mais atenção aos fatores que influenciam a persistência do HPV na cérvix visto que aquelas mulheres que tem infecção viral persistente são de grande risco para o desenvolvimento da displasia cervical (HO et al. 1998; CAVALCANTI, 1999). Ainda não é completamente entendido porque algumas mulheres adquirem infecção mais facilmente do que outras ou permanecem infectadas.

Estudos clínicos e laboratoriais têm sugerido que os hormônios sexuais podem ser um fator adicional na influência da infecção viral (MOODLEY, 2003). Contraceptivos orais e gravidez mostraram que representam um fator de risco para aquisição do HPV e displasia cervical (KOUTSKY, 1997), enquanto a gravidez tem sido associada com a persistência da infecção por HPV (ARMBRUSTER-MORAES, 2000). Adicionalmente, o estradiol mostra uma atividade na região regulatória **upstream** do HPV-18 em camundongo transgênico (MICHELIN, 1997). Este efeito estimulador e subsequente ativação de gene do HPV pelo estrogênio, pode ser o resultado do complexo receptor estrogênio que se liga ao elemento de resposta a esteróides dentro do vírus por um mecanismo não conhecido. Ainda não está claro se o aumento da transcrição do gene viral é responsável pela persistência do vírus nas células infectadas por HPV.

A influência do estrogênio ou dos receptores de estrogênio na infecção cervical por HPV e/ou na persistência ainda não é completamente compreendida. Vários estudos estão sendo realizados para determinar se a expressão do receptor de estrogênio está associada com

a infecção cervical por HPV em humanos. Visto que os receptores de estrogênio foram quantificados, os efeitos do estrogênio são mediados através de seus receptores cognatos e é o complexo receptor-estrogênio que foi associado com o aumento da transcrição do gene do HPV (SHEW, *et al.*, 2002).

As mulheres que eram positivas para receptores de estrogênio cervical eram significativamente mais prováveis ter infecção cervical por HPV. Revisando a fisiologia dos receptores de estrogênio, a maior concentração de receptor de estrogênio foi encontrada na região da cérvix que contem o epitélio colunar, com menos atividade notada no epitélio escamoso (GOULD, 1983). Dentro do epitélio escamoso os receptores de estrogênio parece terem a sua maior concentração na camada basal e diminuindo nas camadas superiores. O estrogênio encontra-se claramente em maior quantidade nas mulheres na perimenarca e vai diminuindo com a idade, mas o exato papel do estrogênio circulante nos receptores de estrogênio é desconhecido. Está claro que a ativação dos receptores de estrogênio ocorre pela ligação de seu ligante cognato, E2. No endométrio os receptores de estrogênio são mais abundantes durante a época de maior influência estrogênica tais como a fase proliferativa tardia do ciclo menstrual (LESSEY, 1988). Embora poucos tenham relatado menos receptores de estrogênio no tecido cervical durante a fase secretora e no período pós-menopausa (CIOCCA *et al.*, 1986; CANO, 1990), não foi encontrada nenhuma relação entre o ciclo menstrual e detecção de receptores de estrogênio, e nas mulheres mais jovens era muito mais provável de serem positivas para receptores de estrogênio.

A capacidade para responder ao estrogênio na cérvix é um tanto limitado quando comparada ao endométrio, já durante a gravidez e nos processos de metaplasia escamosa algumas das células cervicais parecem ser muito reativas à estimulação estrogênica (DRESSLER, 1986). Embora o ciclo de vida do HPV não seja completamente compreendido, acredita-se que as células do epitélio colunar cervical sejam mais vulneráveis a infecções pelo HPV devido à sua acessibilidade física, ou seja, o HPV penetrando no canal cervical (MOSCICKI *et al.*, 1999).

Se o receptor de estrogênio é, em parte, responsável pela aquisição da infecção por HPV, isto pode explicar a vulnerabilidade da adolescente, adultos jovens, e mulheres grávidas a estas infecções. Embora a expressão dos receptores de estrogênio seja mais comum em amostras de mulheres jovens, a associação encontrada entre as mulheres jovens e idosas é semelhante. O comportamento sexual contribui claramente como fator de risco para HPV, já a

preocupação levantada é em relação a vulnerabilidade cervical a fatores biológicos, que são importantes com referência à aquisição de infecção por HPV e displasia cervical (MOSCICKI, 1999). A demonstração de que mulheres mais jovens estão associadas não somente com HPV, mas também com a presença de receptores de estrogênio, é evidente que a aquisição de infecção por HPV, não é somente a consequência do comportamento sexual, mas é também relacionada à vulnerabilidade biológica. Pode ser que a presença do receptor facilite a penetração do HPV nas células, aumentando a transcrição, e/ou a infectividade continuada do vírus. Ao invés disso, poderia ser que as células infectadas por HPV tenham uma maior quantidade de RNA de receptores de estrogênio quando comparadas com as células não infectadas.

#### **1.5.6 Hormônios e suas funções - definição, classificação, e síntese dos hormônios esteróides sexuais.**

Hormônios são moléculas que são secretadas por um tipo de célula e transportados através dos vasos sanguíneos para os tecidos onde eles agem para regular funções específicas. Estas ações são mediadas pela ligação do hormônio a receptores moleculares (LINGAPPA, 2001).

Em geral, estruturalmente, os hormônios podem ser divididos em três tipos. O primeiro tipo são os hormônios lipídicos, derivados da molécula do colesterol, nos quais incluem-se os hormônios esteróides (ex., testosterona, progesterona, estradiol e a vitamina D). O segundo, são os hormônios polipeptídicos ou protéicos, solúveis em água e que não atravessam a barreira lipídica das membranas celulares, (ex., hormônio do crescimento e insulina). O terceiro tipo, são os hormônios derivados de aminoácidos, tais como as catecolaminas e hormônios da tireóide (BEASTALL, 2000).

Os hormônios esteróides são produzidos a partir do colesterol em uma série de reações que envolvem a clivagem da cadeia lateral do colesterol para formar a pregnenolona, seguido por uma variedade de modificações que incluem hidroxilações, mais reações de clivagem, e modificações na estrutura do anel (LINGAPPA, 2001).

### **- Mecanismo de Ação dos Hormônios**

Quase sem exceção, um hormônio afeta seu tecido-alvo ativando primeiro os receptores-alvo nas células dos tecidos. Isto altera a função do próprio receptor, e este receptor passa a ser a causa direta dos efeitos hormonais (GUYTON, 1996).

### **- Receptores Hormonais**

Os receptores hormonais estão presentes na superfície ou dentro das células e ligam-se especificamente a hormônios e com alta afinidade. Na visão tradicional dos receptores hormonais, eles são ativos na presença e inativos na ausência de hormônios. Entretanto, sabe-se que existem receptores não ligados que podem ser operativos, como é o caso de muitos receptores nucleares (BAXTER, 2001).

A combinação do hormônio com o receptor costuma então iniciar uma *casca de reações* na célula, com cada estágio da reação na cascata tornando-se mais poderosamente ativado que o estágio prévio, de modo que mesmo um pequeno estímulo hormonal inicial leva a um grande efeito final (GUYTON, 1996).

Para cada classe de hormônio existem agonistas, agonistas parciais, ou antagonistas. Em geral, agonistas ligados aos receptores estimulam a ação hormonal. Antagonistas ligados aos receptores, inibem a ação hormonal (BAXTER, 2001; HORWITZ, 1996).

### **- Receptores que se ligam à Proteína G**

Esta é uma classe de receptores de superfície celular que levam à ativação de outro componente da membrana chamada de proteína G. Quando em repouso, esta proteína está ligada a uma molécula de difosfato de nucleotídeo de guanosina (GDP). A ligação de um hormônio a esta molécula do receptor, possibilita uma alteração de conformação da molécula deixando exposta a proteína G; a associação proteína-receptor, leva ao deslocamento de GDP para GTP, resultando na dissociação da proteína ativada do receptor,

contribuindo para a ligação da subunidade alfa da proteína G com a enzima adenilato ciclase. Isto acarretará ativação de adenilato ciclase e geração de numerosas moléculas de AMP cíclico. O sistema GDP-GTP é recíproco, e pode através, de hidrólises se dissociar voltando ao estado de repouso o que está na dependência de fosforilação da subunidade alfa da proteína G. Uma propriedade deste tipo de receptor é a existência em sua composição de uma cadeia polipeptídica, que cruza a camada bi-molecular de lipídios da membrana por sete vezes, sendo por esta razão conhecida como domínio *seven transmembrane*. A este tipo de receptor associa-se uma grande família de hormônios, como por exemplo, os hormônios hipotalâmicos TRH (hormônio liberador de tireotrofina) e GnRH (hormônio liberador de gonadotrofina), também os hormônios glicoproteicos como o TSH (hormônio estimulador da tireóide), o LH (hormônio luteinizante), o FSH (hormônio folículo estimulante), o HCG (gonadotrofina coriônica humana), e ainda o ACTH (hormônio adrenocorticotrófico), a PTH (hormônio paratireóide) e o glucagon (ARAÚJO, 2002).

#### **- Receptores com Domínio Transmembranar**

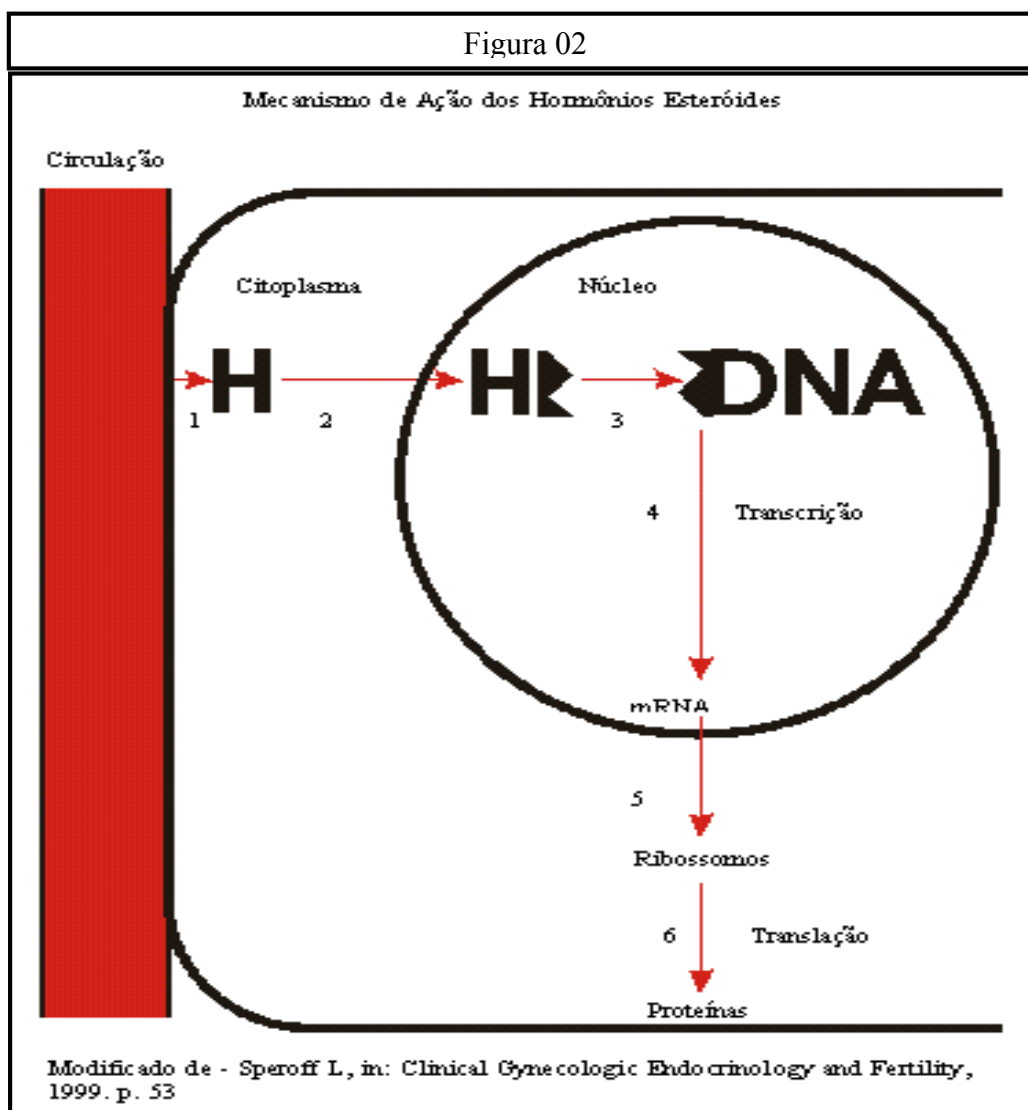
Os receptores com domínio transmembranar são aqueles que tem uma parte de sua molécula em um domínio extracelular e outro domínio que atravessa a capa bimolecular de lipídios da membrana. Costuma-se dividi-los em dois grupos, distintos pela atividade enzimática tirosina-quinase. Estes são sub-classificados como receptores do tipo I e receptores do tipo II.

A insulina e o Fator de Crescimento Epidermal (EGF) são os representantes mais importantes do grupo I, os quais possuem atividade tirosina-quinase. Os chamados receptores do grupo II, não expressam atividade tirosina-quinase e os seus representantes são os Hormônios do Crescimento (GH) e a Prolactina (PRL), além das citocinas. Como não possuem em sua constituição atividade de tirosina-quinase, estes receptores sofrem alterações na região citosólica do receptor, o que na prática, vai resultar em ativação secundária de classes diferentes de tirosina-quinase (ARAÚJO, 2002).

#### **1.5.7 Mecanismo de ação dos hormônios esteróides**

A especificidade da reação dos tecidos aos hormônios esteróides sexuais decorre da presença de receptores intracelulares. Diferentes tipos de tecidos, tais como fígado, rins, e útero, respondem de maneira semelhante. O mecanismo é complexo e inclui várias etapas como:

- 1) difusão de hormônios esteróides através da membrana celular,
- 2) ligação dos hormônios esteróides a receptores,
- 3) interação do complexo hormônio-receptor com o DNA nuclear,
- 4) síntese do RNA mensageiro (RNAm),
- 5) transporte do RNAm ao ribossomo, e finalmente,
- 6) síntese protéica no citoplasma que resulta numa atividade celular específica



BEATO, 1996). (ver figura 02).

Os receptores de hormônios esteróides afetam primariamente a transcrição gênica, mas também regulam eventos pós-transcripcionais e eventos não genômicos. Os receptores esteróides regulam a transcrição gênica através de múltiplos mecanismos, mas nem todos requerem interação direta com o DNA (O'MALLEY, 1992).

Os hormônios estrógeno e progesterona são rapidamente transportados através da membrana celular por simples difusão. Os fatores responsáveis por esta transferência são desconhecidos, mas a concentração do hormônio livre na corrente sanguínea parece ser um determinante importante e que influencia a função celular. Uma vez dentro da célula, eles atravessam a membrana nuclear e se ligam aos seus receptores dentro do núcleo (KING, 1984; GARDNER, 2001). Durante este processo, ocorre transformação ou ativação do receptor. A transformação refere-se à alteração conformacional do complexo receptor-hormônio revelando ou produzindo o local de ligação que é necessário para o complexo ligar-se à cromatina. No estado livre ou desligado, o receptor está associado com a proteína de choque térmico que estabiliza e protege o receptor e mantém a região de ligação do DNA em um estado inativo. A ativação do receptor é dirigida por ligação de hormônio que causa uma dissociação da complexa proteína de choque térmico-receptor (SPEROFF, 1999; CIOCCA, 1993).

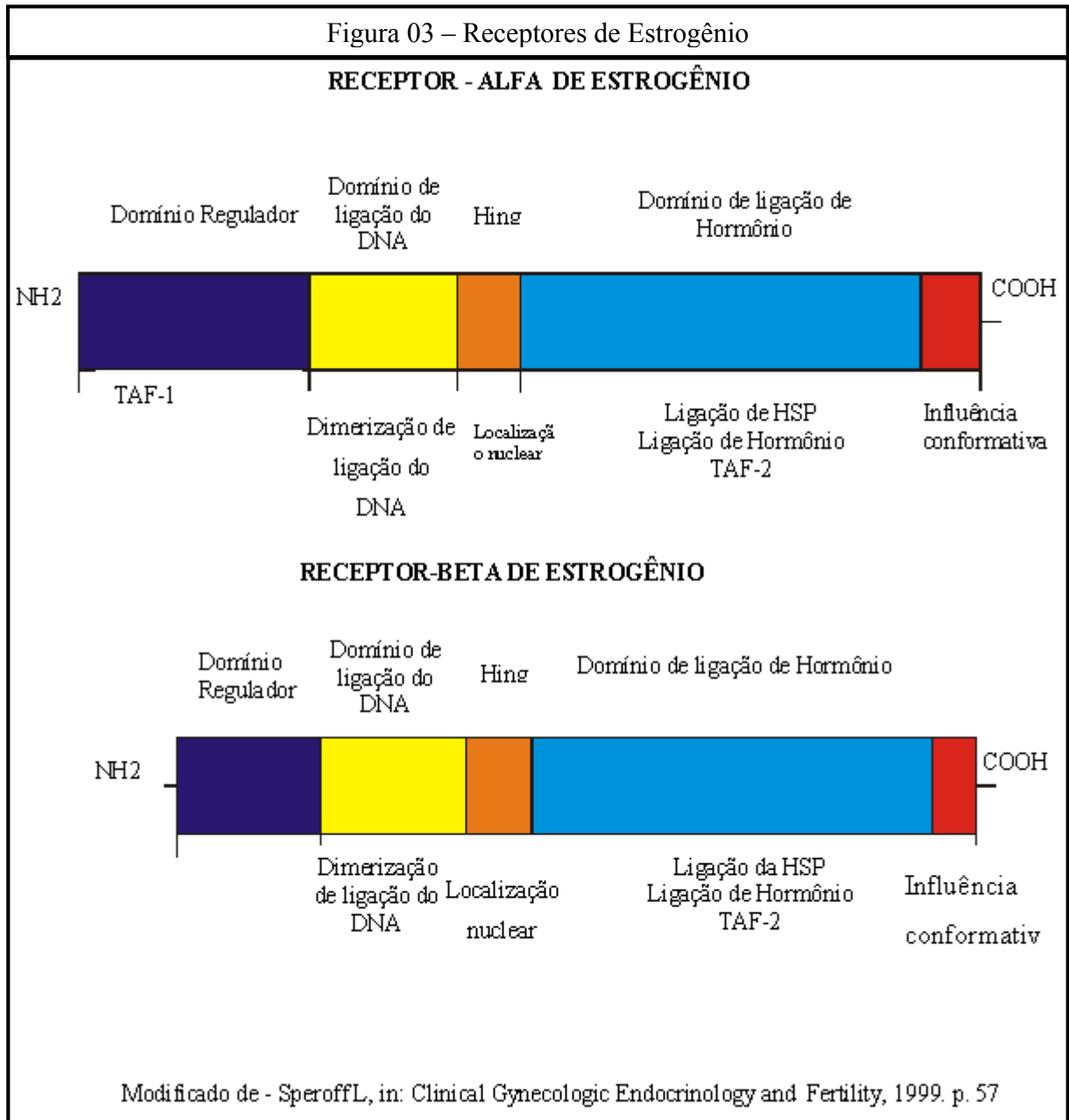
O complexo receptor-hormônio liga-se ao DNA em uma região específica, próxima da região promotora do gene, numa seqüência de nucleotídeos bastante conservada, contendo 140 pares de base, que são conhecidos como **Elementos de Resposta Hormonal** (HREs). Há uma interação entre a região promotora e a região aonde se encontram os elementos de resposta hormonal, no sentido de uma ação que se assemelha a uma retroalimentação ("feedback"). Desta forma, entende-se que quando um dado hormônio esteróide se liga ao seu receptor, isto induz uma dimerização e, os dímeros produzidos poderão ligar-se aos elementos de resposta hormonal (HREs). Em termos funcionais, a capacidade para dimerização parece ser responsável pela especificidade da resposta hormonal nos tecidos (BROOK; MARSHALL apud ARAÚJO, 2002).

### **- A Superfamília dos Receptores**

Receptores de hormônios esteróides compartilham uma estrutura comum com receptores para hormônio tireóideo, Vitamina D, e ácido retinóico; assim estes receptores são chamados de uma superfamília (EVANS, 1988). Cada receptor contém domínios característicos que são semelhantes e permutáveis. Portanto, não é surpresa que hormônios específicos possam interagir com mais de um receptor nesta família. Esta família contém aproximadamente 150 proteínas, presentes em praticamente em todas as espécies, dos vermes aos humanos (SPEROFF, 2002; BEATO, 1996; CARSON-JURICA, 1990).

### **- Os Receptores de Estrogênio**

Dois receptores de estrogênio foram identificados, designados de receptor de estrogênio alfa (RE- $\alpha$ ) e receptor de estrogênio beta (RE- $\beta$ ) (KUIPER, 1997; SAUNDERS, 1998; PAIGE, 1999; PELLETIER, 2000). O receptor de estrogênio alfa foi descoberto em 1960, e a seqüência de aminoácidos foi relatada em 1986 (GREEN, 1986). Sua meia-vida é de aproximadamente de 4 a 7 horas, assim o receptor de estrogênio alfa é uma proteína de vida curta, com uma rápida rotatividade. O receptor de estrogênio beta, foi descrito mais recentemente (ENMARK, 1997; BARKHEM, 1998). (ver figura 03).



Os receptores de estrogênio estão divididos em 6 regiões classificadas de A a F com 5 domínios (MOSELMAN, 1996).

Tanto os receptores alfa ( $\alpha$ ) quanto os beta ( $\beta$ ) respondem de maneira semelhante aos mesmos hormônios (KUIPER, 1997), com exceção dos fitoestrogênios que têm uma grande afinidade por RE- $\beta$  mais do que por RE- $\alpha$  (KUIPER, 1998).

### **- O Domínio Regulatório**

O domínio regulatório é consideravelmente diferente nos dois receptores de estrogênio. A região N-terminal é a mais variável na superfamília dos receptores contendo vários sítios de fosforilação e o **Fator de Ativação de Transcrição**, chamado **TAF-1** que pode estimular a transcrição na ausência de ligação de hormônios. TAF-1 está significativamente modificado ou ausente e é altamente variável em seqüência e tamanho (WEBB, 1999; WEIGEL, 1996).

### **- O Domínio de Ligação ao DNA**

O domínio de ligação para DNA consiste de 100 aminoácidos com 9 cisteínas em posição fixa, que formam moléculas alongadas em forma de dedos que contém zinco (**zinc fingers**). Este domínio é essencial para ativação e transcrição e foi extensivamente investigado, especialmente com respeito ao reconhecimento de elementos de resposta seletiva e propriedades de dimerização. A ligação aos hormônios induz alterações conformativas que permitem a ligação aos elementos de resposta hormonal. O domínio de ligação de DNA controla genes que irão ser regulados pelo receptor (LAUDET, 2002; SPEROFF, 1999).

### **- Região D**

Situada entre o domínio de ligação do DNA e o domínio de ligação de hormônio há uma área de sinalização que é importante para o movimento do receptor para o núcleo após a síntese no citoplasma. Este sinal de localização nuclear deve estar presente para que o receptor de estrogênio permaneça dentro do núcleo na ausência do hormônio (GUIOCHON-MANTEL, 1994).

### - O Domínio de Ligação de Hormônios

O que caracteriza de maneira marcante o receptor nuclear é o seu domínio de ligação aos ligantes na região E. Esta região de ligação de hormônios é responsável pela dimerização e contém a **Função de Ativação de Transcrição** chamada **TAF-2**. Este é também o lugar para ligação das proteínas de choque térmico (principalmente a hsp 90), e é esta ligação com a proteína de choque térmico que impede a dimerização e a ligação ao DNA. Ao contrário da atividade do TAF-1, o TAF-2 depende da ligação dos hormônios para a sua completa atividade. (WURTZ, 1996). Após ligar-se com o hormônio, há uma alteração estrutural que cria novas interfaces de contacto que podem interagir com proteínas co-ativadoras e co-repressoras.

### - Modulação da Transcrição

Esta região modula a transcrição gênica pelo estrogênio e antiestrogênio, influenciando a eficácia antiestrogênica na supressão da transcrição estimulada por estrogênio. A região F do RE- $\alpha$  é um segmento de 42 aminoácidos C-terminal (TEUTSCH, 1994). Ela afeta a magnitude da atividade do receptor ligado ao ligante. A região F afeta as atividades de TAF-1 e TAF-2, tendo efeito na sua conformação (MONTANO, 1995).

### - Mecanismo de Ação

Os receptores de estrogênio encontram-se predominantemente no núcleo mesmo quando não ligados a um ligante, mas eles passam pelo o que é chamado de FLUXO NÚCLEO - CITOPLASMÁTICO um vai e vem do núcleo para o citoplasma e vice-versa, o RE constantemente se difunde para fora do núcleo e rapidamente é transportado de volta para ele. Quando este **FLUXO DIMINUI**, os receptores são rapidamente degradados no citoplasma. Agentes que inibem a dimerização inibem a translocação nuclear e assim aumentam a degradação citoplasmática. Antes de se ligar ao hormônio o receptor de

estrógeno é um complexo inativo com uma variedade de proteínas, incluindo a proteína de choque térmico (principalmente a hsp90) (PARKER, 1995).

### **- Principais Etapas da Ligação Receptor - Hormônio**

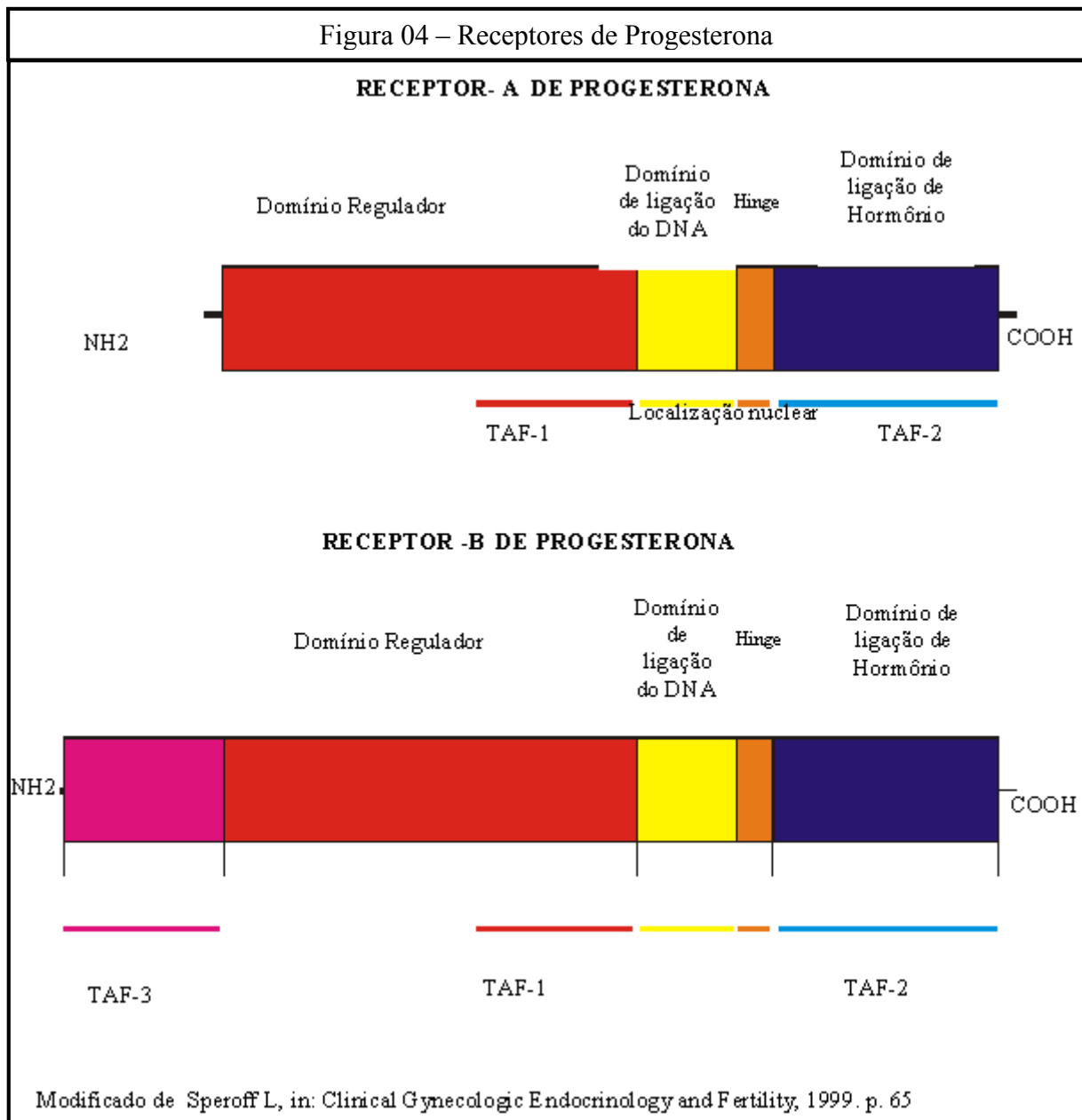
1. Ligação do hormônio ao domínio de ligação de hormônio que se encontra em um estado inativo por várias proteínas de choque térmico.
2. Ativação do complexo receptor-hormônio, pela alteração conformativa, seguindo a dissociação das proteínas de choque térmico.
3. Dimerização do complexo.
4. Ligação do dímero aos elementos de resposta hormonal no DNA pela área do **zinc finger** do domínio de ligação ao DNA.
5. Estimulação da transcrição, mediado pela funções de ativação de transcrição (TAFs) e influenciado pela proteína (outros fatores de transcrição e coativadores/co-repressores) de contexto de célula, e pela fosforilação. (SPEROFF, 1999)

### **- Receptores de Progesterona**

O receptor de progesterona (RP) é um receptor esteroide associado ao GR (receptor de glicocorticóides), AR (receptor de androgênio) e MR (receptor mineralocorticóide), membro da superfamília de hormônios esteroide/tireoide de fatores de transcrição ativado por ligantes (EVANS, 1988). Ele se liga a progesterona, um hormônio envolvido na fisiologia reprodutiva feminina, especialmente durante a gravidez, em mamíferos, é uma grande proteína de 933 aminoácidos em humanos (LAUDET, 2002).

É induzida pelos estrogênios ao nível transcrição e é reduzido pelos progestágenos ao nível tradução e transcrição (provavelmente através de receptor de fosforilação) (HORWITZ, 1995). Possui duas principais formas, chamadas receptores A e B, e ambos são capazes de se ligar ao DNA e ao hormônio (HEINE, 1988). As duas formas são expressas por

um único gene; elas são uma consequência da transcrição de promotores distintamente diferentes, em um complexo sistema de regulação de transcrição (KASTNER, 1990). Cada forma está associada com proteínas adicionais, as quais são importantes para a estruturação do polipeptídeo na estrutura que permite a ligação do hormônio e atividade do receptor (WEN, 1994). (ver figura 04).



## 2 OBJETIVOS

Foram objetivos deste estudo:

- Verificar a expressão imunohistoquímica de receptores hormonais (RE e RP) em biópsias do colo uterino, em pacientes pré e pós-menopausadas com lesões escamosas e invasivas, de acordo com a idade, as fases do ciclo menstrual e *status* menopausal.
- Avaliar se existe correlação entre a expressão dos receptores hormonais (RE e RP) e progressão neoplásica nas lesões do colo uterino.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Analisaram-se 144 casos de lesões escamosas cervicais, em um estudo retrospectivo, no período de 2000 e 2001, do Laboratório de Patologia do Instituto de Prevenção do Câncer do Ceará, órgão pertencente à Secretaria de Saúde do Estado do Ceará.

Os dados epidemiológicos foram coletados através de protocolos abrangendo os seguintes itens: número do caso, número do prontuário, idade, número de filhos, última menstruação, hábito de fumar, achados colposcópicos, achados colpocitológicos, procedimentos realizados (biópsia e/ou conização) e exame anatomopatológico.

Além destes dados em pacientes portadoras de carcinoma epidermóide invasivo, foi também identificado o estadiamento clínico do tumor.

#### 3.1 Seleção da Amostra

A coleta do tecido do colo uterino obedeceu a seguinte seqüência:

- ✓ retirada de material colposcopicamente comprometido através de biópsia em saca-bocados (*biopsy punch*) (Stiefel Company), que consiste em extrair um pequeno fragmento de tecido por meio de pinça especial (pinça de biópsia de SCHUBERT).
- ✓ retirada de material através de exérese cônica do colo uterino que abrange toda zona de transformação atípica e parte do canal cervical.
- ✓ todo tecido colhido era colocado em formol, e no Laboratório foram convenientemente desidratados em álcool etílico, diafanizados pelo xilol, e a seguir, impregnados pela parafina líquida em estufa e após incluídas. Utilizando-se micrótomo tipo Reichert-Jung modelo 2040, ajustado para 3µm a 5µm, obteve-se cortes histológicos de cada fragmento usando-se navalha descartável até o término do material.

### 3.2 Processamento da Amostra

Os critérios utilizados para a seleção dos casos para o estudo anatomopatológico foram as condições dos blocos de parafina, tamanho da peça (maior do que 5mm) e profundidade suficiente na inclusão em parafina que permitisse a obtenção de pelo menos 08 lâminas , para o estudo da expressão dos receptores de estrogênio e progesterona.

### 3.3 Análise Histopatológica

As secções histológicas com espessura de 5µm, coradas pelo HE, foram analisadas em microscópio ótico Nikon por dois patologistas separadamente sendo seguidos apenas os casos em que houve concordância diagnóstica entre eles.

As amostras foram agrupadas segundo a classificação histológica do Consenso Paris Tolbiac, de 1991 (KOSS, 1997), sendo assim classificados:

- Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LIEBG);
- Lesão intraepitelial escamosa de alto grau (LIEAG);
- Lesão escamosa invasora (CEC).

As lesões invasoras epidermóide, foram agrupadas de acordo com a classificação estabelecida pelo Comitê Internacional de Terminologia para Câncer da Cérvix Uterina (VOOIJIS, 1991):

- Carcinoma epidermóide de grandes células;
- Carcinoma epidermóide de pequenas células, e;
- Carcinoma ceratinizante.

Nas secções coradas pelo HE, também foram pesquisados os sinais para HPV, como coilocitose, binucleação, disqueratose e papilomatose.

### 3.4 Imunohistoquímica (RE e RP)

1. A detecção dos receptores de estrogênio e de progesterona, foi realizada usando a técnica do estrepABC - PAP para imunohistoquímica (ver o quadro número 1, na página 80 - em Anexos).
2. Análise realizada em microscópio ótico Nikon comum com objetivas de 40x e ocular de 10x.
3. Critérios para interpretação dos resultados: Os casos foram classificados em positivos e negativos para expressão de RE e RP. Os que coraram positivamente foram classificados segundo a intensidade da reação: intensidade leve = 1, intensidade moderada = 2 e intensidade forte = 3; e segundo a dispersão: 1 = um foco pequeno; 2 = dois ou três focos pequenos; 3 = quatro ou mais focos; e estabelecidos escores de 1 a 9 (grau da reação x grau de dispersão). Tanto no epitélio quanto no estroma. Nas lesões de baixo grau, os focos foram avaliados, ainda, em relação às camadas do revestimento (de 1 a 4 pontos é considerado como escore baixo e 5 a 9 é considerado alto). A análise foi realizada em 10 campos aleatórios do epitélio e do estroma da lesão, observando os núcleos nos quais a reação foi positiva (Fernandes et al.,2002). A correlação entre os parâmetros avaliados pelo Teste exato de Fisher - Yates (DAYA, S.), com probabilidade de 95% (p= 0,05). Neste estudo as 144 amostras, foram assim distribuídas:
  - Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau - 62 casos;
  - Lesão intraepitelial escamosa de alto grau - 41 casos;
  - Carcinoma escamoso invasivo - 41 casos. (ver tabela 08 , em Anexos)

A idade variou de 20 a 68 anos. (ver tabela 9 em Anexos)

Pormenores relativos à menarca, número de gestações, paridade e número de parceiros não foram estudados.

### **3.5 Critérios de Elegibilidade para o Estudo**

Foram usados com critérios de elegibilidade para inclusão no estudo: pacientes pré e pós-menopausada; portadoras de Lesões Intraepiteliais Escamosas de Baixo Grau (NIC-I), e Lesões Intraepiteliais Escamosas de Alto Grau (NIC-II e NIC-III) e carcinomas escamosos invasores; **patologias** sem terapia prévia; análise colposcópica e colpocitológica de todos os casos.

### **3.6 Critérios de Exclusão do Estudo**

Foram excluídos do estudo, casos com amostras de dimensões menores do que 0,5 cm e os que, após revisão por dois patologistas tiveram diagnóstico discordante.

## 4 RESULTADOS

A marcação imuno-específica com anticorpo anti-RE, e anticorpo anti-RP, era exclusivamente para o núcleo, mas observou-se alguma marcação citoplasmática com RP em ceratinócitos. (figura 05 a 10, em Anexos).

Os resultados foram avaliados para reatividade nuclear ao RE e RP levando em conta as fases do ciclo menstrual, idade (pré e pós-menopausa), os graus de lesão intraepitelial escamosa e câncer invasor, e em relação à localização epitelial e estromal. (ver as tabelas de 10 a 21 em Anexos).

Em relação ao epitélio, verificou-se uma diminuição crescente de reatividade nuclear ao RE e RP das Lesões Intraepiteliais Escamosas de Baixo Grau ao Câncer invasor. No estroma, a reatividade nuclear do RE e RP mostraram uma tendência no aumento da expressão, das Lesões Intraepiteliais Escamosas de Baixo Grau, nas de Alto Grau, e do Câncer invasor, porém com menores escores no CEC. (ver as tabelas de 03 a 07 abaixo) .

Em relação às fases do ciclo menstrual, nas Lesões Intraepiteliais Escamosas de Baixo Grau e de Alto Grau, a reatividade nuclear tanto de RE como de RP, sempre foram maiores na primeira fase do ciclo menstrual. (ver as tabelas de 10 a 17 em Anexos) .

Já no Câncer invasor a reatividade nuclear de RE e RP foram maiores na segunda fase do ciclo menstrual. (ver as tabelas de 18 a 21 em Anexos).

Com relação à idade (pré e pós-menopausa), nas lesões neoplásicas invasoras não se observou alterações significativas à reatividade nuclear ao RE e RP, nas pacientes acima ou abaixo de 50 anos. (ver tabela 22 em Anexos).

O índice geral de reatividade nuclear para RE foi de: 57,6% nas LIEBG, e de 29,3% nos CEC ( $p=0,01$ ); e para RP houve uma variação significativa ( $p=0,006$ ) quando feita a comparação das LIEAG (7,3%) e CEC (34%). (ver tabelas 3 e 4 abaixo e tabela 23 em Anexos).

O índice geral de reatividade nuclear para RE no estroma foi de 85,1% nas LIEAG e 72,2% nos CEC, e nível de significância ( $p= 0,01$ ) quando comparados os escores (alto x baixo). Quanto a expressão de RP nas diferentes lesões escamosas estudadas, não houve

diferença significativa entre os grupos ( $p= 0,1$ ). (ver tabelas 5 e 6 abaixo e tabela 24 em Anexos).

Houve significância estatística quando se comparou reatividade citoplasmática de RP entre as LIEBG x LIEAG ( $p= 0,006$ ). (ver tabela 7 abaixo e tabela 25 em Anexos)

**TABELA 03: Reatividade nuclear ao RE em lesões intraepiteliais escamosas e invasivas do colo uterino**

LESÃO	NEG X POS	p	SCORE ALTO X BAIXO	p
Baixo x alto grau	22/30x 23/18	0,2	12/18 x 14/4	<b>0,02</b>
Baixo x CEC	22/30x 29/12	<b>0,01</b>	12/18x 5/7	<b>0,06</b>
Alto x CEC	23/18x 29/12	0,2	14/4x 5/7	<b>0,06</b>

Teste exato de Fisher (p). Há perda de expressão, com a progressão tumoral

**TABELA 04: Reatividade nuclear ao RP em lesões intraepiteliais escamosas e invasivas do colo uterino (epitélio)**

LESÃO	NEG X POS	p	SCORE ALTO X BAIXO	p
Baixo x alto grau	40/12 x 38/3	<b>0,07</b>	4/8 x 1/2	1
Baixo x CEC	40/12x 27/14	0,3	4/8 x 4/10	1
Alto x CEC	38/3 x 27/14	<b>0,006</b>	½ x 4/10	1

Teste exato de Fisher (p); tendência à diminuição da expressão com progressão

**TABELA 05: Reatividade Nuclear ao RE em lesões intraepiteliais escamosas e invasivas do colo uterino (estroma)**

LESÃO	NEG X POS	P	ESCORE ALTO X BAIXO	p
Baixo x alto grau	7/50 x 7/40	0,9	28/22 x 15/25	0,1
Baixo x CEC	7/50 x 10/26	0,1	28/22 x 7/19	0,1
Alto x CEC	7/40 x 10/26	0,2	15/25 x 7/19	<b>0,01</b>

Teste exato de Fisher (p). Tendência ao incremento, porém com menores escores nos CEC

**TABELA 06: Reatividade nuclear ao RP em lesões intraepiteliais escamosas e invasivas do colo uterino (estroma)**

LESÃO	NEG X POS	P	ESCORE ALTO X BAIXO	p
Baixo x alto grau	12/24 x 4/23	0,9	20/4 x 20/3	0,9
Baixo x CEC	12/24 x 13/16	0,1	20/4 x 12/4	0,6
Alto x CEC	4/23 x 13/16	0,1	20/3 x 12/4	0,4

Teste exato de Fisher(p)

**TABELA 07: Reatividade citoplasmática ao RE e ao RP em lesões intraepiteliais escamosas e invasivas do colo uterino (camada intermediária)**

LESÃO	RE		RP	
	POS X NEG	p	POS X NEG	p
Baixo x alto grau	15/14 x 15/6	0,2	22/7 x 7/14	<b>0,006</b>
Baixo x CEC	15/14/x 22/12	0,4	22/7 x 24/10	0,8
Alto x CEC	15/6 x 22/12	0,8	7/14 x 24/10	<b>0,01</b>

Teste exato de Fisher (p); reações mais fortes de RP nos ceratinócitos

## 5 DISCUSSÃO

O epitélio escamoso da cérvix uterina é influenciado por hormônios sexuais esteróides, como é muito bem visto nos esfregaços de Papanicolaou da vagina e cérvix uterina nas mulheres maduras (HUNTER *et al.*, 1987). Vários pesquisadores identificaram receptores de estrogênio (RE) e receptores de progesterona (RP) no colo uterino normal (HUNTER *et al.* 1987; YAJIMA *et al.*, 1985; POTISH *et al.*, 1986; SANBORN *et al.*, 1975; KIM *et al.*, 1992; FUJIMOTO *et al.*, 1986). Para investigar o mecanismo biológico, SANBORN *et al.* (1975), caracterizaram locais de ligações específicas para estrogênio (RE) e para progesterona (RP) em variados locais da cérvix uterina (o epitélio colunar, o epitélio escamoso e as células do estroma). Segundo FUJIMOTO *et al.* (1986), os esteroides demonstram seu efeito biológico via seus próprios receptores na cérvix. A análise bioquímica da concentração dos receptores no epitélio escamoso normal do colo uterino produz uma variedade de resultados. Entretanto, a maioria dos trabalhos não faz distinção precisa se a expressão dos receptores ocorre no epitélio e/ou no estroma (MOSNY *et al.*, 1989). Em alguns casos esta distinção não é possível em virtude das investigações bioquímicas usarem uma mistura do epitélio e estroma para o estudo da quantificação de receptores. Somente Bloch menciona a dificuldade de separação do epitélio para medições bioquímicas da proteína de receptor de estrogênio pelo método *dextran-coated charcoal (DCC)* (MOSNY, 1989). Já foi muito bem demonstrado que o estrogênio age em uma variedade de tecidos para induzir o crescimento e expressar produtos gênicos específicos. O mecanismo molecular destes hormônios tem sido objeto de intensas investigações desde o trabalho pioneiro de Beatson em 1896 demonstrando o efeito paliativo da ooforectomia em câncer de mama avançado (KIM *et al.*, 1992). Os estudos realizados para avaliar a expressão de RE e RP nas lesões do colo uterino, bem como em outras lesões proliferativas, apresentaram resultados tão variados, quanto uma positividade para RE, entre 13% a 100% (SOUTHERN *et al.*, 1998; CAO *et al.*, 1983; NONOGAKI *et al.*, 1990; KIM *et al.*, 1992; KENG *et al.*, 1994). A positividade para RP variou entre 0% e 100% (FORD *et al.*, 1983; HUNTER *et al.*, 1987; KONISHI *et al.*, 1991; KIM *et al.*, 1992; ROBERTSON *et al.*, 1993; KENG *et al.*, 1994). Estas variações podem ser resultantes de vários motivos: maior ou menor quantidade de mulheres na pós-menopausa, metodologia empregada, tipo histológico do tumor, tamanho da lesão, o tipo de HPV associado, e até mesmo o tempo de doença e seu *status* hormonal (SOUTHERN *et al.*, 1998;

MARTIN et al., 1986). Vários métodos podem ser usados para medir os RE e RP. Um dos fatores limitantes entre os vários métodos empregados para a detecção dos receptores hormonais pode ser a falta de padronização que impossibilita comparação entre os métodos.

Com o desenvolvimento do anticorpo monoclonal, acrescentou-se um grau de vantagem à pesquisa. Um desses avanços foi o uso dos métodos de imunoensaio baseados na capacidade de ligação dos esteroides (*radio-ligand binding assay*), que permitem estudos tanto no citosol (*enzyme immunoassay - EIA*), como em tecidos (*immunocytochemistry assay - ICA*) e (*immunohistochemistry assay*) (KELL et al., 1993).

O estudo imunohistoquímico usando anticorpos monoclonais para RE e RP nos tecidos neoplásicos do colo uterino, demonstrou marcação confinada ao núcleo e sem expressão citoplasmática como descrito em estudos bioquímicos anteriores para localização dos receptores esteroides hormonais (NONOGAKI et al., 1990).

Neste estudo avaliou-se a expressão nuclear dos receptores (RE e RP) por imunohistoquímica no epitélio das neoplasias intraepiteliais cervicais (NIC) e carcinoma escamocelular (CEC) do colo uterino. Verificou-se uma perda da expressão da reatividade nuclear de RE com a progressão tumoral (ver tabela 3 na p. 55 e tabela 23 em Anexos), dados consistentes com os trabalhos de KANAI et al. (1998) e CIOCCA (1995). Nas NIC de baixo grau encontrou-se uma positividade epitelial para RE de 57,6%, enquanto para NONOGAKI et al. (1990), esta positividade era de apenas 19%. No CEC, 70,7% das pacientes foram RE negativo ( $p=0,01$ ), dados consistentes com os da literatura, NONOGAKI et al., (1990) 86%, HARDING et al., (1990) 74%, KANAI et al. (1998) 81,8% e KONISHI et al. (1991) 91%. Estes resultados foram diferentes dos de MOSNY et al. (1989) em relação à progressão tumoral; a expressão de RE que no seu trabalho mostrou um incremento dessa expressão, enquanto que neste estudo o que ocorre é o inverso. Para NONOGAKI et al. (1990), a perda dos RE nas NIC, sugere que as células neoplásicas perdem ou contêm níveis insuficientes de RE para ser positivo pela imunohistoquímica, e sugerem que a maioria das células neoplásicas do câncer invasivo da cérvix perdem seu RE durante as alterações do processo neoplásico, embora em poucos casos do CEC, exista RE positivo com intensidade fraca. Portanto, algumas células escamosas neoplásicas mantêm seus receptores, fato que também se concordou, tendo em vista os resultados deste trabalho.

Sabe-se que o câncer cervical é altamente correlacionado com o HPV. Além disso, hormônios sexuais esteróides e HPV têm sido associados com a progressão tumoral.

Nesta casuística a expressão dos RP nas NIC e CEC, também mostrou tendência à perda de expressão com a progressão tumoral, sendo muito significativa principalmente quando foi comparada a negatividade das NIC de alto grau (92,7%) para CEC (65,8%) ( $p=0,006$ ). (ver tabela 4 na p. 55 e tabela 23 em Anexos) Há também uma tendência em escores menores à medida que o tumor progride. Esses dados são semelhantes aos de HUNTER *et al.*, (1987), que apresentaram 30% de reatividade positiva para RE no CEC. FUJIMOTO *et al.*, (1986), também afirmou que a taxa de detecção do RP era significativamente mais baixa do que o RE. No trabalho de SCAMBIA *et al.*, (1990), 58% das pacientes tem RP positivo nos tumores, o que é semelhante aos resultados de KENG *et al.* (1994) 42,8%, HARDING *et al.* (1990) 42%, e HUNTER *et al.* (1987) 30%. O *status* do RP na cérvix normal foi significativamente mais alto do que no câncer cervical (KENG *et al.*, 1994). Na literatura em estudos recentes, verificou-se uma positividade de 95,2% na expressão do RP nas NIC e no CEC de 72,7% KANAI *et al.* (1998), dados semelhantes aos de KONISHI *et al.* (1991), que encontrou 73% e 59,1% nas NIC e CEC respectivamente.

Outros dados relatam variação na expressão do RP positivo no CEC de 0 a 19% CIOCCA (1995), ROBERTSON *et al.* (1993), o que não foi consistente com os resultados deste trabalho.

Quando se estudou a expressão dos RE nas células do estroma (ver tabela 5 na p. 56), verificou-se uma expressão nuclear que tendem a ser mais forte principalmente nas células do estroma perivascular e, formulou-se a hipótese neste ponto que este achado poderia representar um dado importante na indução tumoral, já que a aumentada expressão de RE nas células estromais perivascularares pode representar uma via de sinalização parácrina com as células tumorais.

Encontrou-se uma concentração de RE mais alta no tecido do estroma cervical do que no epitélio escamoso da ectocérvice, o que também foi visto por CAO *et al.* (1983), MOSNY *et al.* (1989), SANBORN *et al.* (1975), e SOUTHERN *et al.* (1998).

Neste trabalho a reatividade nuclear do RE no estroma, nas NIC de baixo grau do colo uterino, foi de 87,7% e de 72,2% no CEC. ( $p=0,1$ ) (ver tabela 24 em Anexos).

NONOGAKI *et al* (1990), faz um comentário sobre o contraste entre as células RE negativas dos tumores e as células RE positivas no estroma, fato que também verificamos em nosso estudo.

A reatividade nuclear do RP no estroma das neoplasias do colo uterino (ver tabela 6 na p. 56 e tabela 24 em Anexos) foi um pouco menor do que a do RE, alcançando 55,1% no CEC e 66,6% nas NIC de baixo grau ( $p=0,1$ ).

As amostras de NIC de alto grau e principalmente no câncer cervical contiveram altos níveis de receptores esteroides hormonais, principalmente RP nas células estromais subjacentes quando comparado com outros grupos histológicos.

Na análise da reatividade citoplasmática de RE e RP na camada intermediária das várias lesões estudadas, verificou-se um aumento da marcação dos ceratinócitos, principalmente em relação ao RP, sendo bastante significativa, quando comparamos as NIC de alto grau (33,4% de positividade) e os CEC (70,5% de positividade) ( $p=0,01$ ) (ver tabela 7 na p. 57 e tabela 25 em Anexos).

Em relação ao ciclo menstrual e *status* menopausal, observa-se que não houve variações significativas dos receptores na progressão das neoplasias intraepiteliais cervicais e carcinoma escamocelular do colo uterino. Estes dados são consistentes com os achados de POTISH *et al.* (1986), CIOCCA (1995); GAO *et al.* (1983), KIM *et al.* (1992), e SCAMBIA *et al.* (1990). Para KENG *et al.* (1994), só há concordância com estes dados em relação ao RE no CEC, porém os níveis de RP nas pacientes pós menopausadas, eram significativamente mais baixos do que nas pacientes na pré-menopausa. HARDING (1990), demonstrou maior positividade dos RE na pré-menopausa do que na pós-menopausa.

Assim, esta pesquisa possibilitou uma análise da expressão de receptores hormonais em pacientes portadoras de neoplasia cervical em variados graus de evolução. Apesar de já existirem dados na literatura, foi possível apresentar uma hipótese de trabalho consistente com a possibilidade da existência de um efeito parácrino exercido pelas células estromais imunomarcadas para receptor de estrógeno. O estudo da expressão citoplasmática de marcadores hormonais em ceratinócitos parece ser uma novidade e merece maiores investigações.

## 6 CONCLUSÕES

Foi possível demonstrar a expressão nuclear imunohistoquímica dos RE e RP com distribuição variável em todos os tipos de lesões avaliadas.

Houve tendência a percentuais e escores de marcação nuclear menores tanto de RE quanto de RP, à medida da progressão tumoral.

Observou-se expressão nuclear mais conspícua de RE nas células estromáticas mormente nas perivasculares.

A expressão de RE no estroma sugere uma possível relação parácrina entre parênquima e estroma da neoplasia cervical.

Não houve variações significativas da expressão de RE e RP em relação ao ciclo menstrual e **status** menopausal considerando-se a progressão tumoral.

Foi observado um incremento de marcação dos ceratinócitos particularmente em relação a progesterona, que se destaca nas lesões com tendência ceratinizante.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHLBOM, A.; LICHTENSTEIN, P.; MALMSTROM, H.; FEYCHTING, M.; HEMMINKI, K.; PEDERSEN, N. L. Cancer in twins: genetic and monogenetic familial risk factors. *J. Natl. Cancer Inst.*, v. 89, p. 287-293, 1997.

ALMEIDA FILHO, G. Ciclo fisiopatológico viral. In: JACYNTHO, C.; ALMEIDA FILHO, G.; MALDONADO, P. *HPV infecção genital feminina e masculina*. Rio de Janeiro: Revinter, 1994. cap. 2, p. 5-9.

\_\_\_\_\_. Histórico. In: JACYNTHO, C.; ALMEIDA FILHO, G.; MALDONADO, P. *HPV infecção genital feminina e masculina*. Rio de Janeiro: Revinter, 1994. cap. 1, p. 1-4.

\_\_\_\_\_. Epidemiologia. In: JACYNTHO, C.; ALMEIDA FILHO, G.; MALDONADO, P. *HPV infecção genital feminina e masculina*. Rio de Janeiro: Revinter, 1994. cap. 3, p. 11-17.

AMES, B. N.; GOLD, L. S. Too many rodent carcinogens: mitogenesis increases mutagenesis. *Science*, v. 249, p. 970-971, 1990.

ANDREWS, F. J.; LINEHAN, J. J.; MELCHER, D. H. Cervical carcinoma in both mother and daughter. *Acta Cytol.*, v. 25, p. 3, 1981.

ANTTILA, T.; SAIKKU, P.; KOSKELA, P.; BLOIGU, A.; DILLNER, J.; IKAHEIMO, I.; JELLUM, E.; LEHTIEN, M.; LENNER, P.; HAKULINEN, T.; NARVANEN, A.; PUKKALA, E.; THORESEN, S.; YOUNGMAN, L.; PAAVONEN, J. Serotypes of *Chlamydia trachomatis* and risk for development of cervical squamous cell carcinoma. *JAMA*, v. 285, n. 1, p. 47-51, 2001.

ARAÚJO, R. W. B. *Utilização de linhagens celulares como modelo de estudo em carcinogênese mamária: métodos de estabelecimento, resposta a estímulos hormonais e expressão da enzima adenosinadeaminase (ADA)*. 2002.; **Tese (Doutorado em Patologia - Anatomia Patológica e Patologia Forense)**- Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, Uberaba, 2002. p.93.

ARENDS, M. J.; BUCKLEY, C. H.; WELLS, M. A etiology, pathogenesis, and pathology of cervical neoplasia. *J. Clin. Pathol.*, v. 51, n. 2, p. 96-103, 1998.

ARMBRUSTER-MORAES, E.; IOSHIMOTO, L. M.; LEO, E; ZUGAIB, M. Prevalence of "high risk" human papillomavirus in the lower genital tract of Brazilian gravidas. *Int. J. Gynaecol. Obstet.*; v. 69, n. 3, p. 223-227, 2000

ASHLEY, R. Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, v. 94, n. 21, p. 1604-1613, 2002.

- BARKHEM, T.; CARLSSON, V. B.; NILSSON, Y.; ENMARK, E.; GUSTAFSSON, J.; NILSSON, S. Differential response of estrogen receptor alpha and estrogen receptor beta to partial estrogen agonists/antagonists. *Mol. Pharmacol.*, v. 54, n. 1, p. 105-112, 1998.
- AXTER, J. D. Introduction to Endocrinology. In: GREENSPAN, F. S.; GARDNER, D. G. *Basic & Clinical Endocrinology*. 6. ed., New York (USA): The McGraw-Hill Companies, 2001. cap. 2, p. 38-58.
- BEASTALL, G. Endocrinologia Bioquímica. In: BAYNES, J.; DOMINICZAK, M. H.; *Bioquímica Médica*. São Paulo. Manole, 2000. cap. 35; p. 451-467.
- BEATO, M.; CHÁVEZ, S.; TRUSS, M. Transcriptional regulation by steroid hormones. *Steroids*, v. 61, n. 4, p. 240-251, 1996.
- BENDER, S. Carcinoma in situ of cervix in sisters. *Br. Med. J.*, v. 1, p. 502, 1976.
- BERNARD, H. U.; CHAN, S. Y.; DELINS, H. Evolucion of papillomaviruses. *Curs. Top. Microbiol. Immunol.*, v. 186, p. 33-53, 1994.
- BERNSTEIN, A.; HARRIS, B. The relationship of dietary and serum vitamin A to the occurrence of cervical intraepithelial neoplasia in sexually active women. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 148, p. 309-312, 1984.
- BORNSTEIN, J; RAHAT, M. A; ABRAMOVICI, H. Etiology of cervical cancer: current concepts. *Obstet Gynecol Surv*; v. 50, n. 2, p. 146-154, 1995
- BOSCH, F. X.; MUNOZ, N.; DESANJOSE, S.; IZARZUGAZA, I.; GILI, M.; VILADIU, P.; TORMO, M. J.; MOREO, P.; ASCUNCE, N.; GONZALEZ, L. C. Risk factors for cervical cancer in Colombia and Spain. *Int. J. Cancer*, v. 52, p. 750, 1992.
- BOSCH, F. X.; SANJOSÉ, S.; CASTELLSAGUÉ, X. N. Geographical and social patterns of cervical cancer incidence. In: FRANCO, E.; MONSONEGO, J. *New developments in cervical cancer screening and prevention*. Toronto; Blackwell Science, 1997. cap. 3, p. 23-33.
- BRABIN, L.; BARR, F. Oral contraceptives and cervical cancer. *Lancet*. V. 360, p.409-410, 2002.
- BRINTON, L. A. Oral contraceptives and cervical neoplasia. *Contraception*, v. 43, p. 581, 1991.
- BROOM, J. Vitaminas, minerais e nutrição. In: BAYNESS, J.; DOMINICZAK, M. H. *Bioquímica médica*. São Paulo: Manole, 2000. cap. 10, p. 109-122.
- BURGER, M. P. M.; HOLEMA, H.; GOUW, A. S. H.; PIETERS, W. J. L. M.; UINT, W. G. V. Cigarette smoking and human papillomavirus in patients with reported cervical cytological abnormality. *Br. Med. J.*, v. 306, p. 749-752, 1993.

BURK, R. D.; HO, G. Y.; BEARDSLEY, L.; LEMPA, M.; PETERS, M.; BIERMAN, R. 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.

CANO, A.; SERRA, V.; RIVERA, J.; MONMENEU, R.; MARZO, C. Expression of estrogen receptors, progesterone receptors, and an estrogen receptor-associated protein in the human cervix during the menstrual cycle and menopause. *Fertil. Steril.*, v. 54, n. 6, p.1058-1064, 1990.

CAO, Z. Y.; EPPENBERG, U.; ROOS, W.; TORHORST, J.; ALMENDRAL, A. Cytosol estrogen and progesterone receptor levels measured in normal and pathological tissue of endometrium, endocervical mucosa and cervical vaginal portion. *Arch. Gynecol.*, v. 233, n. 2, p. 109-119, 1983.

CARSON-JURICA, M. A.; SCHRADER, W. T.; O'MALLEY, B. W. Steroid receptor family: structure and functions. *Endocr. Rev.*, v. 11, n. 2, p.201-220, 1990.

CASAS-CORDERO, M.; MORIN, C.; ROY, M.; FORTIER, M.; MEISELS, A. Origin of the koilocyte in condylomata of the human cervix: ultrastructural study. *Acta Cytol.*, v. 25, p. 383-392, 1981.

CAVALCANTI, S. M. B.; ZARDO, L. G.; PASSOS, M. R. L.; OLIVEIRA, L. H. S. Infecções causadas por papilomavírus e desenvolvimento de câncer: aspectos virológicos e epidemiológicos. *J. Bras. Doenças Sex. Transm.*, v. 11, n. 4, p. 10-14, 1999.

\_\_\_\_\_. Epidemiological aspects of human papillomavirus infection and cervical cancer in Brazil. *J. Infect.*, v. 40, n. 1, p. 80-87, 2000.

CHEN, T. M.; PECARARO, G.; DEFENDI, V. Genetic analysis of in vitro progression of human papillomavirus transfected human cervical cells. *Cancer Res.*, v. 53, p. 1167-1171, 1993.

CIOCCA, D. R.; OESTERREICH, S.; CHAMNESS, G. C.; MCGUIRE, W. L.; FUQUA, S. A. Biological and clinical implications of heat shock protein 27,000 (Hsp27): a review. *J. Natl. Cancer Inst.*, v. 85, n. 19, p. 1558-1570, 1993.

CIOCCA, D. R.; PUY, L. A.; LO CASTRO, G. Localization of an estrogen-responsive protein in the human cervix during menstrual cycle, pregnancy, and menopause and in abnormal epithelial without atypia. *Am. J. Obstet. Gynecol.*; v. 155, n. 5, p. 1090-1096, 1986.

CIOCCA, D. R.; ROIG, L. M. Estrogen receptors in human nontarget tissues: biological and clinical implications. *Endocr. Rev.*, v. 16, p. 35-62, 1995.

COELHO, F. R. G. Avaliação dos receptores para estrógeno e progesterona em colo do útero normal, neoplasia intraepitelial cervical (NIC I, II e III) e carcinoma invasor associados ou não à presença de papilomavírus humano-HPV. São Paulo, 1998. **Tese (Doutorado)**- Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, 1998. p. 98.

COLE, H. M.; BUCKLEY, C. H.; WELLS, M. Diagnostic and therapeutic technology assessment (DATTA) – Human papillomavirus DNA testing in the management of cervical neoplasia. *JAMA*, v. 270, n. 24, p. 2976-2979, 1993.

COSSART, Y. E.; THOMPSON, C.; ROSE, B. Virology. In.: MINDEL, A. ***Genital warts, human papillomavirus infection***. London: Arnold, 1995. cap. 1, p. 1-34.

CRUM, C. P.; CIBAS, E. S.; LEE, K. R. Viral pathogenesis and natural history of cervical neoplasia. In: \_\_\_\_\_. ***Pathology of early cervical neoplasia***. New York: Churchill Livingstone, 1997. chapt. 2, p. 7-27.

DALING, J. R.; SHREMAN, K. J.; HISLOP, T. G.; MADEN, C.; MANDELSON, M. T.; BECKMANN, A. M.; WEISS, N. S. Cigarette smoking and the risk of anogenital cancer. *Am. J. Epidemiol.*, v. 135, p. 180-189, 1992.

DAYA, S. Fisher exact test. ***Evidence-based Obstetr. Gynecol.***, v. 4, n. 1, p. 3-4, 2002.

DE VILLIERS, E. M. Human pathogenic papillomavirus types: an update. ***Curs. Top. Microbiol. Immunol.***, v. 186, p. 1-12, 1997.

DE VILLIERS, E. M.; WAGNER, D.; SCHNEIDER, A.; WESCH, H.; MIKLAW, H.; WAHRENDORF, J.; PAPENDICK, U.; ZUR HAUSEN, H. Human papillomavirus infections in women with and without abnormal cervical cytology. *Lancet*; v. 2, n. 8561, p. 703-706, 1987.

De SANJOSÉ, S.; MUNOZ, N.; BOSCH, F. X.; REIMANN, K.; PEDERSEN, N. S.; ORFILA, J.; ASCUNCE, N.; GONZÁLEZ, L. C.; TAFUR, L.; GILI, M. Sexually transmitted agents and cervical neoplasia in Colômbia and Spain. *Int. J. Cancer*, v. 56, n. 3, p. 358-363, 1994.

DRESSLER, L. G.; RAMZY, I.; SLEDGE, G. W.; McGUIRE, W. L. A new marker of maturation in the cervix: the estrogen-regulated 24K protein. *Obstet. Gynecol.* ; v. 68, n. 6, p. 825-831.

ELUF NETO, J. Cigarette smoking and cervical cancer [letter]. *Br. Med. J.*, v. 307, p. 384, 1993.

\_\_\_\_\_. Epidemiologia das lesões relacionadas ao HPV no anogenital. In: BIBBO, M.; MORAES FILHO, A. M. ***Lesões relacionadas à infecção por HPV no trato anogenital***. Rio de Janeiro: Revinter, 1998. p. 9-27.

ELUF NETO, J.; BOOTH, M.; MUNOZ, N.; BOSCH, F. X.; MEIJER, C. J. L. M.; WALBOOMERS, J. M. M. Human papillomavirus and invasive cervical cancer in Brazil. *Br. J. Cancer*, v. 69, p. 114-119, 1994.

ELUF NETO, J.; NASCIMENTO, C. M. Cervical cancer in Latin America. *Semin. Oncol.*, v. 28, n. 2, p. 188-197, 2001.

ENMARK, E.; PELTO-HUIKKO, M.; GRANDIEN, K.; LAGERCRANTZ, S.; LAGERCRANTZ, J.; FREÍD, G.; NORDENSKJÖLD, M.; GUSTAFSSON, J. A. Human

estrogen receptor beta-gene structure, chromosomal localization, and expression pattern. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, v. 82, n. 12, p. 4258-4265, 1997.

EVANS, R. M. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science*, v. 240, n. 4854, p. 889-895, 1988.

FAJAL, E.; SIMMONS, M. E.; CAMPERT, J. B. Factors associated with high and low risk of cervical neoplasia. *J. Natl. Cancer Inst.*, v. 66, p. 631, 1981.

FERNANDES, M. G. M.; FERREIRA, F. V. A.; FERREIRA, S. N. H.; LIMA, S. M. S.; ROCHA FILHO, F. D.; RIBEIRO, A. V. M. F.; RABENHORST, S. H.; MESQUITA, S. M.; FERREIRA, G.; AMORIN, L. H. M. MIB 1 and p53 in penile intraepithelial and invasive squamous HPV - related lesions. *Rev. Bras. Cancerol.*, v. 48, n. 1, p. 29-37, 2002.

FERREIRA, S. N. H. Lesões malpighianas invasoras (CEC) intraepiteliais de alto grau (LIM-AG) e de baixo grau (LIM-BG) do colo uterino: avaliação da proliferação celular (MIB1) da expressão de proteína p53, segundo a idade. Fortaleza, 1999. **Dissertação (Mestrado)** - Faculdade de Medicina, Departamento de Patologia e Medicina Legal, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1999.

FISCHER, N. Chlamydia trachomatis infection in cervical intraepithelial neoplasia and invasive carcinoma. *Eur. J. Gynecol. Oncol.*, v. 23, n. 3, p. 247-250, 2002.

FORD, L. C.; BEREK, J. S.; LAGASSE, L. D.; HACKER, N. F.; HEINS, Y. L.; DELANGE, R. J. Estrogen and progesterone receptor sites in malignancies of the uterine cervix, vagina, and vulva. *Gynecol. Oncol.*, v. 15, p. 27-31, 1983.

FRANCO, E.; ELUF-NETO, J. Epidemiologia das verrugas anogenitais e do cancer. In: LÖRING, A. T.; REID, R. *HPV*. Rio de Janeiro: Interlivros, 1997. cap. 2, p. 19-44.

FRANCO, E.; MONSONEGO, J. New developments in cervical cancer screening and prevention. Toronto: Blackwell *Science*, 1997. 470 p.

FRENCH, A. L.; KIRSTEIN, L. M.; MASSAD, L. S.; SEMBA, R. D.; MINKOFF, H.; LANDESMAN, S.; PALEFSKY, J.; YOUNG, M.; ANASTOS, K.; COHEN, M. H. Association of vitamin A deficiency with cervical squamous intraepithelial lesions in human immunodeficiency virus-infected women. *J. Infect. Dis.*, v. 182, n. 4, p. 1084-1089, 2000.

FRENCH, D.; CERMELE, C.; VECCHIONE, A.; CENCI, M. HPV infection and microsatellite instability in squamous lesion of the uterine cervix. *Anticancer Res.*, v. 20, n. 5B, p. 3417-3421, 2000.

FUJIMOTO, J.; TAMAYA, T.; WATANABE, Y.; ARAHORI, K.; SATO, S.; OKADA, H. Steroid receptors in uterine cervical cancers. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi.*, v. 38, n. 4, p. 575-582, 1986.

FURGYIK, S.; GRUBB, R.; KULLANDER, S.; SANDAHL, B.; WINGERUP, L.; EYDAL, A. Familial occurrence of cervical cancer stage O-IV. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, v. 65, n. 3, p. 223-227, 1986.

FURTH, J.; DENT, J. N.; BURNETT, W. T.; GADSDEN, E. L. The mechanism of induction and the characteristics of pituitary tumors induced by thyroidectomy. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, 1955, v. 15, p. 81-87, 1955.

GAO, Y. L.; TWIGGS, L. B.; LEUNB, B. S.; YU, W. C. Y.; POTISH, R. A.; ORAGAKI, T.; ADCOCK, L. L.; PREM, K. A. Cytoplasmic estrogen and progesterone in primary cervical carcinoma: clinical and histopathologic correlates. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 146, p. 299-306, 1983.

GARDNER, D. G. Mechanism of hormone action. In: GREENSPAN, F. S.; GARDNER, D. G. *Basic clinical endocrinology*. 6<sup>th</sup> ed. New York. MacGraw-Hill, 2001. Chapt. 3. p. 59-79.

GIULIANO, A. R.; PANPENFUSS, M.; NOUR, M.; CANFIELD, L. M.; SCHNEIDER, A.; HATCH, K. Antioxidante nutrients: association with persistent human papillomavirus *Infection. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, v. 6, n. 11, p. 917-923, 1997.

GLOBOCAN 2000. Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. Database guide. Disponível em: <<http://www-dep.iarc.fr/globocan/globocan.html>>. Acesso em: 20 jun. 2003.

GONZÁLEZ-SÁNCHEZ, J. L.; CALZADA-SÁNCHEZ, L.; GALINDO-VITAL, A.; SALAZAR-ESQUIVEL, L. Receptores a estradiol en neoplasia intraepitelial cervical y cancer cervicouterino. *Ginecol. Obstet. Mex.*, v. 64, p. 438-442, 1996.

GOODMAN, M. T.; KIVIAT, N.; Mc DUFFIE, K.; HANKIN, J. H.; HERNANDEZ, B.; WILKENS, L. R.; FRANKE, A.; KUYPERS, J.; KOLONEL, L. N.; NAKAMURA, J.; ING, G.; BRANCH, B.; BERTRAM, C. C.; KAMEMOTO, L.; SHARMA, S.; KILLEEN, J. The association of plasma micronutrients with the risk of cervical dysplasia in Hawaii. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, v. 7, n. 6, p. 537-544, 1998.

GOULD, S. F.; SHANNON, J. M.; CUNHA, G. R. The autoradiographic demonstration of estrogen binding in normal human cervix and vagina during the menstrual cycle, pregnancy, and the menopause. *Am. J. Anat.*; v. 168, n. 2, p. 229-238, 1983.

GREEN, J.; GONZALEZ, A. B.; SMITH, J. S.; FRANCESCHI, S.; APPLEBY, P.; PLUMMER, M.; BERAL, V. Human papillomavirus infection and use of oral contraceptives. *Br. J. Cancer*, v. 88, n. 11, p. 1713-1720, 2003.

GREEN. S.; WALTER, P.; GREENE, G.; KRUST, A.; GOFFIN, C.; JENSEN, E.; SCRACE, G.; WATYERFIELD, M.; CHAMBON, P. Cloning of the human estrogen receptor cDNA. *J. Steroid Biochem.*, v. 24, n. 1, p. 77-83, 1986.

GUIOCHON-MANTEL A, DELABRE K, LESCOP P, MILGROM E. Nuclear localization signals also mediate the outward movement of proteins from the nucleus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 91, n. 15, p. 7179-7183, 1994.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Introdução a Endocrinologia. In: \_\_\_\_\_ *Tratado de Fisiologia Medica*. 9. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1996. cap. 74, p. 840-846.

- HACHISUGA, T.; FUKUDA, K.; KAWARABAYASHI, T. Local immune response in squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Gynecol. Obstet. Invest.*, v. 52, n. 1, p. 3-8, 2001.
- HARDING, M.; McINTOSH, J.; PAUL, J.; SYMONDS, R. P.; REED, N.; HABESHAW, T.; STEWART, M.; LEAKE, R. E. Oestrogen and progesterone receptors in carcinoma of the cervix. *Clin. Oncol.*, v. 2, n. 6, p. 313-317, 1990.
- HARRINGTON, C. S. Do HPV-negative cervical carcinomas exist? –revisited. *J. Pathol.*, v. 189, n. 1, p. 1-3, 1997.
- HEINE, M. J. S.; GRONEMEYER, H. Nuclear receptors as targets for drugs design: new options and old challenges. In: GRONEMEYER, H.; FURHRMANN, U.; PARCZYK, K. *Molecular basis of sex hormone receptor function*. Berlin: Springer-Verlag, 1998. cap. 1, p. 1-41.
- HELLBERG, D.; NILSSON, S.; HALEY, N. J.; HOFFMAN, D.; WYNDER, E. Smoking and cervical intraepithelial neoplasia: nicotine and cotinine in serum and cervical mucus in smokers and nonsmokers. *Am. J. Obstet. Gynecol.*; v. 158, n. 4, p. 910-913, 1988.
- HELLBERG, D.; VALENTIN, J., NILLSON, S. Smoking an cervical intraepithelial neoplasia. An association independent of sexual and other risk factors?. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, v. 65, n. 6, p. 623-631, 1986.
- HENDERSON, B. E.; ROSS, R. K.; PIKE, M. C.; CASAGRANDE, J. T. Endogenous hormones as a major factor in human cancer. *Cancer Res.*, v. 42, p. 3232-3239, 1982.
- HOFFMANN, D.; WYNDER, E.L. Chemical constituents and bioactivity of tobacco smoke. *IARC Sci Publ*, v. 74, p. 145-165, 1986
- HO, G. Y.; BIERMAN, R.; BEARDSLEY, L.; CHAN, C. J.; BURK, R. D. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N. Engl. J. Med.*, v. 338, n. 7, p. 423-428, 1998.
- HO, G. Y.; KADISH, A. S.; BURK, R. D.; BASU, J.; PALAN, P. R.; MIKHAIL, M.; ROMNEY, S. L. HPV 16 and cigarette smoking as risk factors for high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Int. J. Cancer*, v. 78, n. 3, p. 281-285, 1998.
- HORWITZ, K. B.; JACKSON, T. A.; BAIR, D. L.; RICHER, J. K.; TAKIMOTO, G. S.; TUNG, L. Nuclear receptor coactivators and corepressors. *Mol. Endocrinol.*, v. 10, p. 1167-1177, 1996.
- HORWITZ, K. B.; TUNG, L.; TAKIMOTO, G. S. Novel mechanisms of -- actions of steroid. *Biochem. Mol. Biol.*, v. 53, p. 9, 1995.
- HUNTER, R. E.; LONGCOPE, C.; KEOUGH, P. Steroid hormone receptors in carcinoma of the cervix. *Cancer*, v. 60, p. 392-396, 1987.

HURLIN, P. J.; KAUR, P.; SMITH, P. P.; PEREZ, R. N.; BLANTON, R. A.; McDOUGALL, J. K. Progression of human papillomavirus type 18-immortalized human seratinocytes to a malignant phenotype. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 88, p. 570-574, 1991.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER - INCA. *Estimativa da incidência e mortalidade por câncer no Brasil*. Rio de Janeiro 2003.

JUDSON, F. N. Interactions between human papillomavirus and human immunodeficiency virus infection. *IARC Sci. Publ.* n. 119, p. 199-207, 1992.

KANAI, M.; SHIOZAWA, T.; XIN, L.; NIKAIDO, T.; FUJII, S. Immunohistochemical detection of sex steroid receptors, cyclins, and cyclin-dependent kinase in the normal and neoplastic squamous epithelia of the uterine cervix. *Cancer*, v. 82, n. 9, p. 1709-1719, 1998.

KANTESKY, P. A.; GAMMON, M. D.; MANDELBLATT, J.; ZHANG, Z. F.; RAMSEY, E.; DNISTRAN, A.; NORKUS, E. P.; WRIGHT Jr., T. C. Dietary intake and blood levels of lycopene: association with cervical dysplasia among non-Hispanic, black women. *Nutr. Cancer*, v. 31, n. 1, p. 31-40, 1998.

KASTNER, P.; KRUST, A.; TURCOTTE, B.; STROPP, U.; TORA, L.; GRONEMEYER, H.; CHAMBON, P. Two distinct estrogen-regulated promoters generate transcripts encoding the two functionally different human progesterone receptor forms A and B. *EMBO J*, v. 9, n. 5, p. 1603-1614, 1990.

KELL, D. L.; KAMEL, O. W.; ROUSE, R. V. Immunohistochemical analysis of breast carcinoma estrogen and progesterone receptors in paraffin-embedded tissue. *Appl. Immunohistochem.*, v. 1, p. 275-281, 1993.

KENG, S.; YUENG, W.; NGAN, H. Estrogen and progesterone receptor in normal cervix and primary cervical carcinoma. *Chin. Med. J.*, v. 107, n. 9, p. 648-652, 1994.

KIM, J. W.; SUNG, H. R.; KIM, D. K.; SONG, C. H. Estrogen and progesterone receptor assay carcinoma of the cervix with monoclonal antibodies. *Gynecol. Oncol.* v. 47, p. 306-310, 1992.

KIM, K. K.; JANG, T. J.; KIM, J. R. HSP70 and ER expression in cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. *J. Korean Med. Sci.*, v. 13, n. 4, p. 383-388, 1998.

KING, W. J.; GREENE, G. L. Monoclonal antibodies localize oestrogen receptor in the nuclei of target cells. *Nature*. V. 307, n. 5953, p. 745-747, 1984

KOBAYASHI, A.; MIASKOWSKI, C.; WALLHAGEN M.; SMITH-McCUNE, K. Recent developments in understanding the immune response to human papillomavirus infection and cervical neoplasia. *Oncol. Nurs. Forum*, v. 27, v. 4, p. 643-651, 2000.

KONISHI, I.; FUJII, S.; NONOGAKI, H.; NANBU, Y.; IWAI, T.; MORI, T. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors, progesterone receptors, Ki-67 antigen, and human papillomavirus DNA in normal and neoplastic epithelium of the uterine cervix. *Cancer*, v. 68, n. 6, p. 1340-1350, 1991.

KOSKELA, P.; ANTTILA, T.; BJORGE, T.; BRUNSVIG, A.; DILLNER, J.; HAKAMA, M.; HAKALINES, T.; JELLUM, E.; LEHTINEN, M.; LENNER, P.; LUOSTARINEN, T.; PUKKALA, E.; SAIKKU, P.; THORESEN, S.; YOUNGMAN, L.; PAAVONEN, J. Chlamydia trachomatis infection as a risk factor for invasive cervical cancer. *Int. J. Cancer*, v. 85, n. 1, p. 35-39, 2000.

KOSS, L. G. Concept of genesis and development of carcinoma of the cervix. *Obstet. Gynecol. Surv.*; v. 24, n. Pt2, p. 850-860, 1969.

KOSS, L. G. The cervix cancer screening program in the UK. *Hum. Pathol.* V. 28, n. 10, p. 1218-1219, 1997.

KOUTSKY, L. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Am. J. Med.*, v. 102, n. 5<sup>A</sup>, p. 3-8, 1997.

KUIPER, G. G.; GUSTAFSSON, J. A. The novel estrogen receptor-beta subtype: potential role in the cell-and promoter-specific actions of estrogens and anti-estrogens. *FEBS Lett.*; v. 410, n. 1, p. 87-90, 1997.

KUIPER, G. G.; CARLSSON, B.; GRANDIEN, K.; ENMARK, E.; HÄGGBLAD, J.; NILSSON, S.; GUSTAFSSON, J. A. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology*; v. 138, n. 3, p. 863-870, 1997.

KUIPER, G. G.; LEMMEN, J. G.; CARLSSON, B.; CORTON, J. C.; SAFE, S. H.; van der SAAG, P. T.; van der BURGER, B.; GUSTAFSSON, J. A. Interction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. *Endocrinology*. V. 139, n. 10, p. 4252-4263, 1998.

LANDESMAN, S.; PALEFSKY, J.; YOUNG, M.; ANASTOS, K.; COHEN, M. H. Association of vitamin A deficiency with cervical squamous intraepithelial lesions in human immunodeficiency virus-infected women. *J. Infect. Dis.*, v. 182, n. 4, p. 1084-1089, 2000.

LAUDET, V.; GRONEMEYER, H. ER. In: \_\_\_\_\_. *The nuclear receptor*. San Diego: Academic Press, 2002. Sect. 2, p. 308-335.

LAUDET, V.; GRONEMEYER, H. PR. In: \_\_\_\_\_. *The nuclear receptor*. San Diego: Academic Press, 2002. Sect. 2, p. 375-390.

LEHTINEN, M.; KOSKELA, P.; JELLUM, E.; BLOIGU, A.; ANTTILA, T.; HALLAMANS, G.; LUUKKAALA, T.; THORESEN, S.; YOUNGMAN, L.; DILLNER, J.; HAKAMA, M. herpes simplex virus and risk of cervical cancer: a longitudinal, nested case-control study in the Nordic countries. *Am. J. Epidemiol.*, v. 156, n. 8, p. 687-692, 2002.

LEHTINEN, M.; LUOSTARINEN, T.; YOUNGMAN, L. D.; ANTTILA, T.; DILLNER, J.; HAKULINEN, T.; KOSKELA, P.; LENNER, P.; HALLMANS, G. Low levels of serum vitamins A and E in blood and subsequent risk for cervical cancer: interaction with HPV seropositivy. *Nut.r Cancer* , v. 34, n. 2, p. 229-234, 1999.

LESSEY, B. A.; KILLAM, A. P.; METZGER, D. A.; GREENE, G. L.; McCARTY, K. S. Immunohistochemical analysis of human uterine estrogen and progesterone receptors throughout the menstrual cycle. *J. Cli. Endocrinol. Metab.*; v. 67, n. 2, p. 334-340, 1988.  
LINDHAL, T. New class of enzymes acting on damaged DNA. *Nature*, v. 259, p. 64-66, 1976.

LINGAPPA, V. R.; MELLON, S. H. Hormone Synthesis & Release. In: GREENSPAN, F. S.; GARDNER, D. G. *Basic & Clinical Endocrinology*. 6. ed. New York (USA): The McGraw-Hill Companies, 2001. cap. 2, p. 38-58.

LLADÓ, L. B. História. In: \_\_\_\_\_. *El carcinoma in situ del cuello uterino*. Barcelona: Editorial Espaxs, 1971. P. 1-5.

MACIAG, P. C.; SCHLECHT, N. F.; SOUZA, P. S.; FRANCO, E. L.; VILLA, L. L.; PETZL-ERLER, M. L., Major histocompatibility complex class II polymorphisms and risk of cervical câncer and human papillomavirus infection in Brazilian women. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, v. 9, n. 11, p. 1183-1191, 2000.

MACIAG, P. C; VILLA, L. L., Genetic susceptibility to HPV infection and cervical cancer. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v. 32, n. 7, p 915-922, 1999.

MAGNUSSON, P. K.; GYLLENSTEN, U. B. Cervical cancer risk: is there a genetic component? *Mol. Med. Today*, v. 6, n. 4, p. 145-148, 2000.

MAGNUSSON, P. K.; SPAREN, P.; GYLLENSTEN, U. B. Genetic link to cervical tumours. *Nature*, v. 400, p. 29, 1999.

MALI, S.; WAHI, P. N.; LUTHRA, U. K. Cancer of the uterine cervix. Clinico-pathological study of 1625 cases. *Indian. J. Cancer*. v. 5, n. 3, p. 269-273, 1968.

MANSUR, C. P.; ANDROPHY, E. J. Cellular transformation by papillomavirus oncoproteins. *Biochim. Biophys. Acta*, v. 1155, p. 323-345, 1993.

MARTIN, J. D.; HAHNEL, R.; McCARTNEY, A. J.; DE KLERK, N. The influence of estrogen and progesterone receptors on survival in patients with carcinoma of the uterine cervix. *Ginecol. Oncol.* v. 23, n. 3, p. 329-335, 1986.

MEISELS, A; FORTIN, R. Condylomatous lesions of cervix and vagina. I. Cytologic patterns. *Acta Cytol.*; v. 20, n. 6, p. 505-509, 1976.

MEISELS, A.; ROY, M.; FORTIER, M.; CASAS-CORDERO, M.; SHAH, K. V.; TURGEON, H. Human papillomavirus infections of the cervix: the atypical condiloma. *Acta Cytol.*, v. 25, n. 1, p. 7-16, 1981.

MICHELIN, D.; GISSMANN, L.; STREET, D.; POTKUL, R. K.; FISHER, S.; KAUFMANN, A. M.; QUIAO, L.; SCHRECKENBERG, C. Regulation of human papillomavirus type 18 in vivo: effects of estrogen and progesterone in transgenic mice. *Gynecol. Oncol.*; v. 66, n. 2, p. 202-208, 1997.

- MONSONEGO, J.; MAGDELENAT, H.; CATALAN, F.; COSCAS, Y.; ZERAT, L.; SASTRE, X. Estrogen and progesterone receptors. *Int. J. Cancer*, v. 48, n. 4, p. 533-539, 1991.
- MONSONEGO, J. Human papillomavirus (HPV), co-factors and carcinogenesis of the uterine cervix. In: \_\_\_\_\_. *Papillomaviruses in human pathology recent progress in epidermoid precancers*. New York, USA, Raven Press, 1990. p. 31-48.
- MONTANO, M. M.; MÜLLER, V.; TROBAUGH, A.; KATZENELLENBOGEN, B. S. The carboxy-terminal F domain of the human estrogen receptor: role in the transcriptional activity of the receptor and the effectiveness of antiestrogens as estrogen antagonists. *Mol. Endocrinol.*, v. 9, n. 7, p. 814-825, 1995.
- MOODLEY, M.; MOODLEY, J.; CHETTY, R.; HERRINGTON, C. S. The role of steroid contraceptive hormones in the invasive cervical cancer: a review. *Int. J. Gynecol. Cancer*. v. 13, n. 2, p. 103-110, 2003
- MORENO, V.; BOSCH, F. X.; MUNOZ, N.; MEIJER, C. J.; SHAH, K. V.; WALBOOMERS, J. M.; HERRERO, R.; FRANCESCHI, S. Effect of oral contraceptives on risk of cervical cancer in women with human papillomavirus infection: the IARC multicentric case-control study. *Lancet*, v. 359, n. 9312, p. 1085-1092, 2002.
- MOSCICKI, A. B.; BURT, V. G.; KANOWITZ, S.; DARRAGH, T.; SHIBOSKI, S. The significance of squamous metaplasia in the development of low grade squamous intraepithelial lesions in young women. *Cancer*; v. 85, n. 5, p. 1139-1144, 1999.
- MOSCICKI, A. B.; SHIBOSKI, S.; BROERING, J.; POWELL, K.; CLAYTON, L.; JAY, N.; DARRAGH, T. M.; BRESCIA, R.; KANOWITZ, S.; MILLER, S. B.; STONE, J.; HANSON, E.; PALEFSKY, J. The natural history of human papillomavirus infections as measured by repeated DNA testing in adolescent and young women. *J. Pediatr.*, v. 132, n. 2, p. 277-284, 1998.
- MOSNY, D. S.; HERHOLZ, J.; DEGEN, W.; BENDER, H. G. Immunohistochemical investigations of steroid receptors in normal and neoplastic squamous epithelium of the uterine cervix. *Gynecol. Oncol.*, v. 35, n. 3, p. 373-377, 1989.
- MOSSELMAN, S.; POLMAN, J.; DIJKEMA, R. ER beta: identification and characterization of a novel human estrogen receptor. *FEBS Lett.*, v. 392, n. 1, p. 49-53, 1996.
- MUÑOZ, K.; KATO, I.; BOSCH, F. X.; ELUF-NETO, J.; DE SANJOSÉ, S.; ASCUNCE, N.; GILI, M.; IZARZUGAZA, I.; VILADIU, P.; TORMO, M. J.; MOREO, P.; GONZALEZ, L. C.; TAFUR, L.; WALBOOMERS, J. M.; SHAH, K. V. Risk factors for HPV DNA detection in middle-aged women. *Sex. Transm. Dis.*, v. 23, n. 6, p. 504-510, 1996.
- NANOGAKI, H.; FUJII, S.; KONISHI, I.; NANBU, Y.; OZAKI, S.; ISHIKAWA, Y.; MORI, T. Estrogen receptor localization in normal and neoplastic epithelium of the uterine cervix. *Cancer*, v. 66, n. 12, p. 2620-2627, 1990.

NATIONAL CERVICAL CANCER COALITION - NCCC, 2002. Disponível em:  
<http://www.nccc-online.org>

NISHIMURA, M.; FURUMOTO, H.; KAMADA, M.; AONO, T. Microsatellite instability is a late event in the carcinogenesis of uterine cervical cancer. *Gynecol. Oncol.*, v. 79, n. 2, p. 201-206, 2000.

NONOGAKI, H.; FUJII, S.; KONISHI, I.; NANBU, Y.; OZAKI, S.; ISHIKAWA, Y.; MORI, T. Estrogen receptor localization in normal and neoplastic epithelium of the uterine cervix. *Cancer*, v. 66, n. 12, p. 2620-2627, 1990.

O'MALLEY, B. W.; TSAY, M. J. Molecular pathways of steroid receptor action. *Biol. Reprod.*, v. 46, n. 2, p. 163-167, 1992.

PAIGE, LA; CHRISTENSEN, D. J.; GRON, H.; GOTTLIN, E. B.; PADILLA, K. M.; CHANG, C. Y.; BALLAS, L. M.; HAMILTON, P. T.; McDONNELL, D. P.; FOWLKES, D. M. Estrogen receptor (ER) modulators each induce distinct conformational changes in ER alfa and ER beta. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* V. 96, n. 7, p. 3999-4004, 1999.

PALAN, P. R.; MIKHAIL, M. S.; GOLDBERG, G. L.; BASU, J.; RUNOWICZ, C. D.; ROMNEY, S. L. Plasma levels of beta-carotene, lycopene, canthaxanthin, retinal, and alpha- and tau-tocopherol in cervical intraepithelial neoplasia and cancer. *Clin. Cancer Res.*, v. 2, n. 1, 181-185, 1996.

PARKER, M. G. Structure and function of estrogen receptors. *Vitam. Horm.* V. 51, p. 267-287, 1995.

PATER, M. M.; HUGHES, G. A.; HYSLOP, D. E. W.; NAKSHATRI, H.; PATER, A. Glucocorticoid-dependent oncogenic transformation by type 16 but not type 11 human papilloma virus DNA. *Nature*, v. 335, n. 6193, p. 832-835, 1988.

PELLETIER, G.; EL-ALFY, M. Immunocytochemical localization of estrogen receptors alpha and beta in the human reproductive organs. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, v. 85, n. 12, p. 4835-4840, 2000.

PETRY, K. U.; SCHEFFEL, D.; BODE, U.; GABRYSIK, T.; KOCHER, H.; KUPSCH, E.; GLAUBITZ, M.; NIESERT, S.; KUHNLE, H.; SCHEDEL, I. Cellular immunodeficiency enhances the progression of human papillomavirus-associated cervical lesions. *Int. J. Cancer*, v. 57, n. 6, p. 836-840, 1994.

PFISTER, H. Papel do papilomavírus humano no cancer anogenital. In: LORINCZ, T. L., REID, R. *HPV*. Rio de Janeiro: Interlivros, 1997. cap. 1, p. 3-18.

PIM, D.; COLLINS, M.; BANKS, L. Human papillomavirus type 16 E5 gene stimulates the transforming activity of the epidermal growth factor receptor. *Oncogene*, v. 7, n. 1, p. 27-32, 1992.

PISANI, P; PARKIN, DM; BRAY, F; FERLAY, J. Estimates of the worldwide mortality from 25 cancers in 1990. *Int J Cancer*, v. 83, n. 1, p. 18-29, 1999.

POTISCHMAN, N.; BRINTON, L. A. Nutrition and cervical neoplasia. *Cancer Causes Control*, v. 7, n. 1, p. 113-126, 1996.

POTISH, R. A.; TWIGGS, L. B.; ADCOCK, L. L.; PREM, K. A.; SAVAGE, J. E.; LEUNG, B. S. Prognostic importance of progesterone and estrogen receptors in cancer of the uterine cervix. *Cancer*, v. 58, p. 1709-1713, 1986.

PUROLA, E.; SAVIA, E. Cytology of gynecologic condyloma acuminatum. *Acta Cytol.* V. 21, n. 1, p. 26-31, 1977.

RICHART, R. M.; BARRON, B. A. A follow up study of patients with cervical dysplasia. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 105, p. 386, 1969.

ROBERTSON, D. I.; PASLAWSKI, D.; DUGGAN, M. A.; STUART, G. C. E.; NATION, J. G. Estrogen and progesterone receptor, human papillomavirus, and DNA ploidy analysis in invasive carcinoma of the cervix in pregnancy. *Am. J. Clin. Pathol.*, v. 100, n. 1, p. 18-21, 1993.

ROTELI-MARTINS, C. M.; PANETTA, K.; ALVES, V. A.; SIQUEIRA, S. A.; SYRJANEN, K. J.; DERCHAIN, S. F. Cigarette smoking and high-risk HPV DNA as predisposing factors for high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN) in young Brazilian women. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, v. 77, n. 6, p. 678-682, 1998.

ROTKIN, I. D. Adolescent coitus and cervical cancer: associations of related events with increased risk. *Cancer Res.*, v. 27, n. 4, p. 603-617, 1967.

ROTKIN, I. D.; TAYLOR, W. E. Ethnic comparability of the relation between early coital trends and cervical cancer. *Cancer*, v. 23, n. 2, p. 458-460, 1969.

SANBORN, B. M.; HELD, B.; KUO, H.S. Specific estrogen binding proteins in human cervix. *J. Steroid Biochem.*, v. 6, n. 7, p. 1107-1112, 1975.

SAUNDERS, P. T. Oestrogen receptor beta (ER beta). *Ver. Reprod.* V. 3, n. 3, p. 164-171, 1998.

SCAMBIA, G.; PANICI, P. B.; BAIOCCHI, G.; BATTAGLIA, F.; FERRANDINA, G.; GREGGI, S.; MANCUSO, S. Steroid hormone receptors in carcinoma of the cervix: lack of response to an antiestrogen. *Ginecol. Oncol.*, v. 37, n. 3, p. 323-326, 1990.

SCHENEFFENER, M.; WERNESS, B. A.; HUIBREGTSE, J. M.; LEVINE, A. M.; HOWLEY, P. M. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promote the degradation of p53. *Cell*, v. 63, p. 1129-1136, 1990.

SCHIFFMAN, M.; HERRERO, R.; HILDESHEIM, A. Detección del ADN del papiloma virus en el rastreo del cancer cervical. *J. Am. Med. Assoc.*, v. 283, p. 87-93, 2000.

SCHLOSSER, B. J.; HOWETT, M. Human papillomavirus: molecular aspects of the viral life cycle and pathogenesis. In: APGAR, B. S.; BROTZMAN, G. L.; SPITZER, M. *Colposcopy*. Philadelphia: W. B. Saunders, 2002. cap. 2, p. 23-39.

SESHADRI, L.; GEORGE, S. S.; VASUDEVAN, B.; KRISHNA, S. Cervical intraepithelial neoplasia and human papillomavirus infection in renal transplant recipients. *Indian J. Cancer*, v. 38, n. 2-4, p. 93-95, 2001.

SHEW, M. L.; McGLENNEN, R.; WESTERHEIM, M.; IRELAND, M.; ANDERSON, S. Oestrogen receptor transcripts associated with cervical human papillomavirus infection. *Sex. Transm. Infect.*, v. 78, p. 210-214, 2002.

SIMONS, A. M.; PHILIPS, D. H.; COLEMAN, D. V. Damage for DNA cervical epithelium related to smoking tobacco. *Br. Med. J.*, v. 306, p. 1444-1448, 1993.

SINGER, A.; HO, L.; TERRY, G. KWIE, T. S. Association of human papillomavirus with cervical cancer and precancer. In: MINDEL, A. *Genital warts, human papillomavirus infection*. London: Arnold, 1995. Chapt. 5, p. 105-129.

SMITH, J. S.; HERRERO, R.; BOSETTI, C.; MUÑOZ, N.; BOSCH, F. X.; ELUF-NETO, J.; CASTELLSAGUÉ, X.; MEIJER, C. J.; VAN DEN BRULE, A. J.; FRANCESCHI, S.; SOUTHERN, S. A., HERRINGTON, C. S. Molecular events in uterine cervical cancer. *Sex. Transm. Infect.*, v. 74, n. 2, p. 101-119. 1998.

SMITH, J. S.; HERRERO, R.; BOSETTI, C.; MUÑOZ, N.; BOSCH, F. X.; ELUF-NETO, J.; CASTELLSAGUÉ, X.; MEIJER, C. J.; VAN DEN BRULE, A. J.; FRANCESCHI, S.; ASHLEY, R. Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, v. 94, n. 21, p. 1604-1613, 2002.

SOUTHERN, S. A.; HERRINGTON, C. S. Molecular events in uterine cervical cancer. *Sex Trans. Infect.*, v. 74, n. 2, p. 101-119, 1998.

SPEROFF, L.; GLASS, R. H.; KASE, N. G. Hormone biosynthesis metabolism, and mechanisms of action. In: \_\_\_\_\_. *Clinical gynecology endocrinology and infertility*. 6<sup>th</sup> ed. Baltimore: 1999. Chapt. 2, p. 31-105.

STRELING, J. C. Introduction. In: *Human papillomavirus clinical and scientific advances*. London: Artnold, 2001. cap. 1, p. 2-7.

SVARE, E. I.; KJAER, S. K.; WORM, A. M.; OSTERLIND, A.; MEIJER, C. J.; VAN DEN BRULE, A. J. Risk factors for genital HPV DNA in men resemble those found in women: a study of male attendees at a Danish STD clinic. *Sex. Transm. Infect.*, v. 78, n. 3, p. 215-218, 2002.

SYRJANEN, K. J. Epidemiology of human papillomavirus (HPV) infections and their associations with genital squamous cell cancer. *APMIS*, v. 97, n. 11, p. 957-970, 1989.

TEUTSCH, G.; PHILIBERT, D. History and perspectives of antiprogestins from the chemist's point of view. *Hum. Reprod.*, v. 9 suppl. 1, p. 12-31, 1994.

THOMSON, S. W.; HEIMBURGER, D. C.; CORNWELL, P. E.; TURNER, M. E.; SAUBERLICH, H. E.; FOX, L. M.; BUTTERWORTH, C. E. Correlates of total plasma homocysteine: folic acid, copper, and cervical dysplasia. *Nutrition*, v. 16, p. 411-416, 2000.  
TUREK, L. P. Structure, function, and regulation of papillomaviral genes in infection and cervical cancer. *Adv. Virus Res.*, v. 44, p. 305, 1994.

TUREK, L. P.; SMITH, E. M. Programação genética dos papillomavirus humanos genitais na infecção e no câncer. In.: LÖRING, A. T.; REID, R. *HPV*. Rio de Janeiro: Interlivros, 1997. cap. 9, p. 147-169.

VILLA, L. L. Aspectos moleculares da oncogênese por papillomavirus. In.: BIBBO, M.; SILVA FILHO, A. M. *Lesões relacionadas à infecções por HPV no trato anogenital*. Rio de Janeiro: Revinter, 1998. cap. 4, p. 51-58.

VISCIDI, R. P. Epidemiology of genital tract human papillomavirus infections. In.: APGAR, B. S. *Colposcopy*. Philadelphia: W. B. Saunders, 2002. chapt. 1, p. 1-22.

VOGELSTEIN, B.; KINZLER, K. W. The genetic basic of human câncer. In: PARK, M. *Oncogenes*. 2<sup>nd</sup> ed. New York: McGraw-Hill, 2002. p. 177-196.

VOOIJIS, G. P. Benign proliferative reactions, intraepithelial neoplasia and invasive cancer of the uterine cervix. In: BIBBO, M. *Comprehensive cytopathology*. Philadelphia: W. B. Saunders, 1997. p. 161-230.

WALBOMERS, J. M.; JACOBS, M. V.; MANOS, M. M.; BOSCH, F. X.; KUMMER, J. A.; SHAH, K. V.; SNIJDERS, P. J.; PETO, J.; MEIJER, C. J.; MUNOZ, N. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J. Pathol.*, v. 189, n. 1, p. 12-19, 1999.

WALBOMERS, J. M.; MEIJER, C. J. Do HPV-negative cervical carcinomas exist? *J. Pathol.*, v. 181, n. 3, p. 253-254, 1997.

WEBB, P.; NGUYEN, P.; VALENTINE, C.; LOPEZ, G. N.; KWOK, G. R.; MCLNERNEY, E.; KATZENELLENBOGEN, B. S.; ENMARK, E.; GUSTAFSSON, J. A.; NILSSON, S.; KUSHNER, P. J. The estrogen receptor enhances AP-1 activity by two distinct mechanisms with different requirements for receptor transactivation functions. *Mol. Endocrinol.* V. 13, n. 10, p. 1672-1685, 1999.

WEIGEL, N. L. Steroid hormone receptores and their regulation by phosphorylation. *Biochem. J.*, v. 319, p. 657-667, 1996.

WEINSTEIN, S. J.; ZIEGLER, R. G.; FRONGILLO, E. A.; COLMAN, N.; SAUBERLICH, H. E.; BRINTON, L. A.; HAMMAN, R. F.; LEVINE, R. S.; MALLIN, K.; STOLLEY, P. D.; BISOGNI, C. A.; Low serum and red blood cell folate are moderately, but nonsignificantly associated with increased risk of invasive cervical cancer in U. S. Women. *J. Nutr.*, v. 131, n. 7, p. 2040-2048, 2001.

WAHI, P. N.; LUTHRA, U. K.; MALI, S. Cervical dysplasia: its significance. I. Cytomorphological studies. *Indian J. Med. Res.*; v. 57, n. 4, p. 617-623, 1969.

WEN, D. X.; XU, Y. F.; MAIS, D. E.; GOLDMAN, M. E.; McDONNELL, D. P. The A and B isoforms of the human progesterone receptor operate through distinct signaling pathways within target cells. *Mol. Cell. Biol.*, v. 1, n. 12, p. 8356-8364, 1994.

WILLIAMS, G.; ANDERSON, E.; HOWELL, A.; WATSON, R.; COYNE, J.; ROBERTS, S. A.; POTTEN, C. S. Oral contraceptive use increases proliferation and decreases oestrogen receptor content of epithelial cells in the normal human breast. *Int. J. Cancer*, v. 48, p. 206-210, 1991.

WURTZ, M.; BOURGUET, W.; RENAUD, J. P.; VIVAT, V.; CHAMBON, P.; MORAS, D.; GRONEMEYER, H. A canonical structure for the ligand-binding domain of nuclear receptors. *Nat. Struct. Biol.*, v. 3, n. 1, p. 87-94, 1996.

WYNDER, E.L. Tumor enhancers: underestimated factors in the epidemiology of lifestyle-associated cancers. *Environ Health Perspect*, v. 50; p. 15-21, 1983.

YAJIMA, A.; YAMAUCHI, R.; WADA, Y.; FURUHASHI, N.; TOKI, T.; TASE, T.; OIKAWA, N.; SATO, S.; TAKABAYASHI, T.; OZAWA, N. Cytoplasmic estrogen receptors in carcinoma of the uterine cervix. *Ginecol. Obstet. Invest.*, v. 20, n. 2, p. 103-108, 1985.

YAMAMOTO, L. S. U.; ALVES, V. A. F. Histórico. In: BIBBO, M.; SILVA FILHO, A. M. *Lesões relacionadas à infecções por HPV no trato anogenital*. Rio de Janeiro: Revinter, 1998. cap. 1, p. 1-7.

YLITALO, N.; SORENSEN, P.; JOSEFSSON, A.; FRISCH, M.; SPARÉN, P.; POTÉN, J.; GYLLENSTEN, U.; MELBYE, M.; ADAMI, H. O. Smoking and oral contraceptives as risk factors for cervical carcinoma in situ. *Int. J. Cancer*. v. 81, n. 3. p. 357-365, 1999.

ZHOU, J.; DOORBAR, J.; SUN, X. Y.; CRAWFORD, L. V.; McLEAN, C. S.; FRAZER, I. H. Identification of the nuclear localization signal of human papillomavirus type 16 L1 protein. *Virology*. V. 185, n. 2, p. 625-632.

ZIEGLER, R. G.; BRINTON, L. A.; HAMMAN, R. F.; LEHMAN, H. F.; LEVINE, R. S.; MALLIN, K.; NORMAN, S. A.; ROSENTHAL, J. F.; TRUMBLE, A. C.; HOOVER, R. N. Diet and the risk of invasive cervical cancer among white women in the United States. *Am. J. Epidemiol.*, v. 132, p. 432-445, 1990.

Zur HAUSEN, H. Papillomaviruses in anogenital cancer as a model to understand the role of viruses in human cancers. *Cancer Res.*, v. 49, n. 17, p. 4677-4681, 1989.

\_\_\_\_\_. Human papillomaviruses in the pathogenesis of anogenital cancer. *Virology*. 1991 Sep; 184(1):9-13.

\_\_\_\_\_. Papillomaviruses in human cancers. *Proc. Assoc. Am. Physicians*, v. 111, n. 6, p. 581-587, 1999.

\_\_\_\_\_. Papillomaviruses infections: a major cause of human cancers. *Biochim. Biophys. Acta*, v. 1288, n. 2, p. F55-F78, 1996.

Zur HAUSEN, H.; de VILLIERS, E. M. Human papillomaviruses. *Annu. Rev. Microbiol.*, v. 48, p. 427-447, 1994.

Zur HAUSEN, H.; MEINHOF, W.; SCHEIBER, W.; BORNKAMM, G. W. Attempts to detect virus-specific DNA in human tumors. I. Nucleic acid hybridizations with complementary RNA of human wart virus. *Int. J. Câncer*, v.13, n. 5, p. 650-656, 1974.

# **ANEXOS**

**QUADRO 01 - TÉCNICA DO PAP (PARAFINA) PEROXIDASE ANTI-  
PEROXIDASE- AVIDINA BIOTINA**

- 1) Desparafinar e hidratar o tampão Tris (pH 7.2)
- 2) Colocar as lâminas num recipiente de plástico em Tampão Citrato (pH 6.0)
- 3) Colocar as lâminas no micro-ondas programado na potencia máxima. Ligar o micro-ondas e esperar a ebulição do tampão citrato. Após o início da ebulição marcar 7,30'.
- 4) Deixar as lâminas no tampão citrato à temperatura ambiente por 20'.
- 5) Lavar em TBS por 5'.
- 6) Bloqueio da peroxidase endógena com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 3% em metanol por 10'
- 7) Lavar em TBS por 5'.
- 8) Incubação em câmara úmida no soro normal de coelho (1:5) por 20'. Após a incubação retirar o excesso do soro sobre as lâminas (aspiração).
- 9) Incubação em câmara úmida, no **anticorpo primário** diluído de acordo com o protocolo - over-night a 8 graus C.
- 10) Lavar em TBS por 5'
- 11) Incubação em câmara úmida, no **anticorpo secundário** (coelho anti-mouse biotinilado) diluído 1:200 por 30'.
- 12) Lavar em TBS por 5'.
- 13) Incubação em câmara úmida, no **complexo ABC** por 30'.
- 14) Lavar em TBS por 5'.
- 15) Revelação com **Diaminobenzidina (DAB)** por 7'. Não esquecer de adicionar 10µl de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no momento do uso.
- 16) Lavar em água corrente.
- 17) Contrastar com hematoxilina - 30 seg.
- 18) Desidratar e montar em bálsamo

Tabela 08 - Reatividade Nuclear ao RE em Lesão de Baixo Grau

**p=0,008****p #**

1ª Fase do Ciclo			2ª Fase do Ciclo		
Pos	Neg	Ea x Eb	Pos	Neg	Ea x Eb
14	3	12 x 2	1	5	1 x 0

Tabela 09 - Reatividade nuclear ao RP em Lesão de Baixo Grau

**p= 0,7****p #**

1ª Fase do Ciclo			2ª Fase do Ciclo		
Pos	Neg	Ea x Eb	Pos	Neg	Ea x Eb
3	14	2 x 1	1	5	1 x 0

Tabela 10 - Reatividade nuclear ao RE em Lesão de Alto Grau

**p= 0,5****p #**

1ª Fase do Ciclo			2ª Fase do Ciclo		
Pos	Neg	Ea x Eb	Pos	Neg	Ea x Eb
5	6	5 x 0	3	2	1 x 2

Tabela 11 - Reatividade ao RP em Lesão de Alto Grau

**p= 1,0****p #**

1ª Fase do Ciclo			2ª Fase do Ciclo		
Pos	Neg	Ea x Eb	Pos	Neg	Ea x Eb
2	14	1 x 1	0	5	0 x 0

Tabela 12 - Reatividade Nuclear ao RE no Estroma em Lesão de Baixo Grau

**p= 0,8****p #**

1ª Fase do Ciclo			2ª Fase do Ciclo		
Pos	Neg	Ea x Eb	Pos	Neg	Ea x Eb
14	3	14 x 0	4	2	2 x 2

Tabela 13 - Reatividade Nuclear ao RP no Estroma em Lesão de Baixo Grau

**p= 0,6****p= 0,2**

1ª Fase do Ciclo			2ª Fase do Ciclo		
Pos	Neg	Ea x Eb	Pos	Neg	Ea x Eb
11	6	10 x 1	3	3	2 x 1

Tabela 14 - Reatividade Nuclear ao RP no Estroma em Lesão de Alto Grau  
 $p=0,5$   $p=0,5$

1ª Fase do Ciclo			2ª Fase do Ciclo		
Pos	Neg	Ea x Eb	Pos	Neg	Ea x Eb
9	2	8 x 1	3	2	2 x 1

Tabela 15 - Reatividade Nuclear ao RE no Estroma em Lesão de Alto Grau  
 $p=0,2$   $p=0,7$

1ª Fase do Ciclo			2ª Fase do Ciclo		
Pos	Neg	Ea x Eb	Pos	Neg	Ea x Eb
9	2	5 x 4	2	3	1 x 1

Tabela 16 - Reatividade Nuclear ao RE no CEC

1ª Fase do Ciclo			2ª Fase do ciclo		
Pos	Neg	Ea x Eb	Pos	Neg	Ea x Eb
0	1	0 x 0	2	2	0 x 2

Tabela 17 - Reatividade Nuclear ao RP no CEC

1ª Fase do Ciclo			2ª Fase do Ciclo		
Pos	Neg	Ea x Eb	Pos	Neg	Ea x Eb
0	1	0 x 0	0	4	0 x 0

Tabela 18 - Reatividade Nuclear ao RE no estroma no CEC

1ª Fase do ciclo			2ª Fase do ciclo		
Pos	Neg	Ea x Eb	Pos	Neg	Ea x Eb
0	1	0 x 0	1	3	1 x 0

Tabela 19 - Reatividade Nuclear ao RP no Estroma no CEC

1ª Fase do Ciclo			2ª Fase do Ciclo		
Pos	Neg	EA x Eb	Pos	Neg	Ea x Eb
0	1	0 x 0	1	3	1 x 0

Tabela 20 - LIEBG - HPV POSITIVO (16 casos)

	EPITELIAL	ESTROMA	CERATINÓCITOS
RE pos neg	8	13	8
	7	2	7
RP pos neg	2	10	12
	14	5	4

Tabela 21 - LIEBG - HPV NEGATIVO (07 casos)

	EPITELIAL	ESTROMA	CERATINÓCITOS
RE pos neg	4	6	5
	3	0	2
RP pos neg	4	6	5
	3	0	2

Tabela 22 - LIEAG - HPV POSITIVO (11 casos)

	EPITELIAL	ESTROMA	CERATINÓCITOS
RE pos neg	4	8	5
	7	2	6
RP pos neg	2	9	1
	9	1	10

Tabela 23 - LIEAG - HPV NEGATIVO (08 casos)

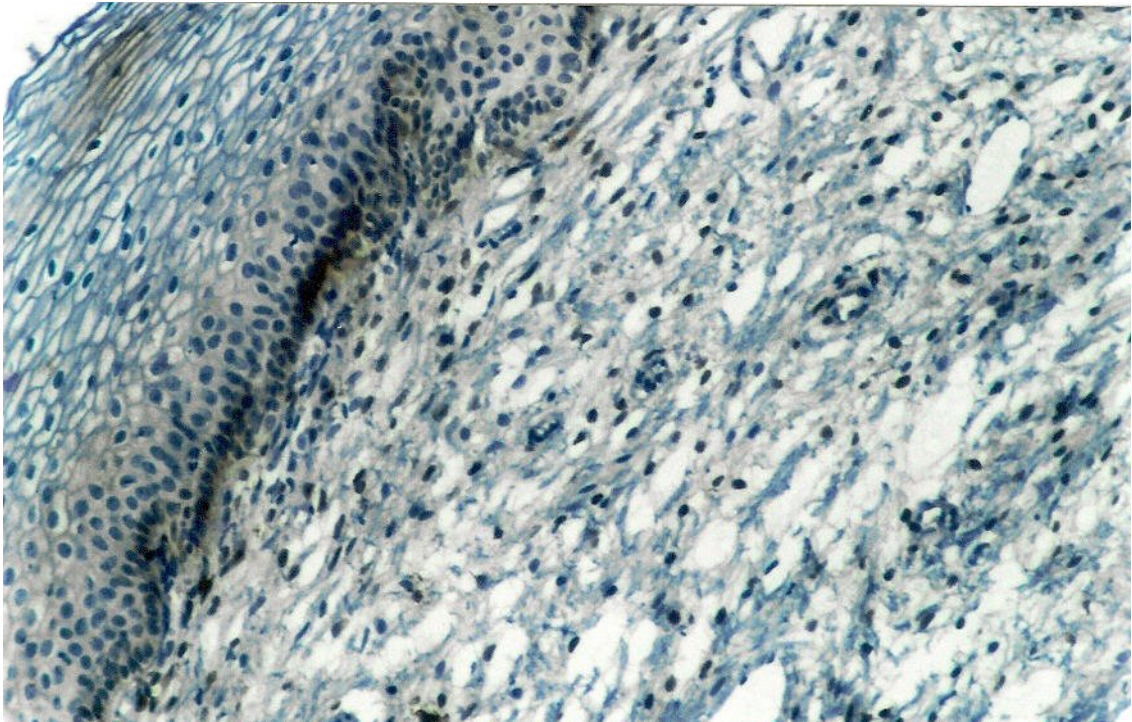
	EPITELIAL	ESTROMA	CERATINÓCITOS
RE pos neg	1	7	4
	7	1	4
RP pos neg	0	6	3
	8	2	5

Tabela 24 - CEC - HPV NEGATIVO (32 casos)

	EPITELIAL	ESTROMA	CERATINÓCITOS
RE pos neg	5	17	20
	27	8	4
RP pos neg	10	15	22
	22	10	7

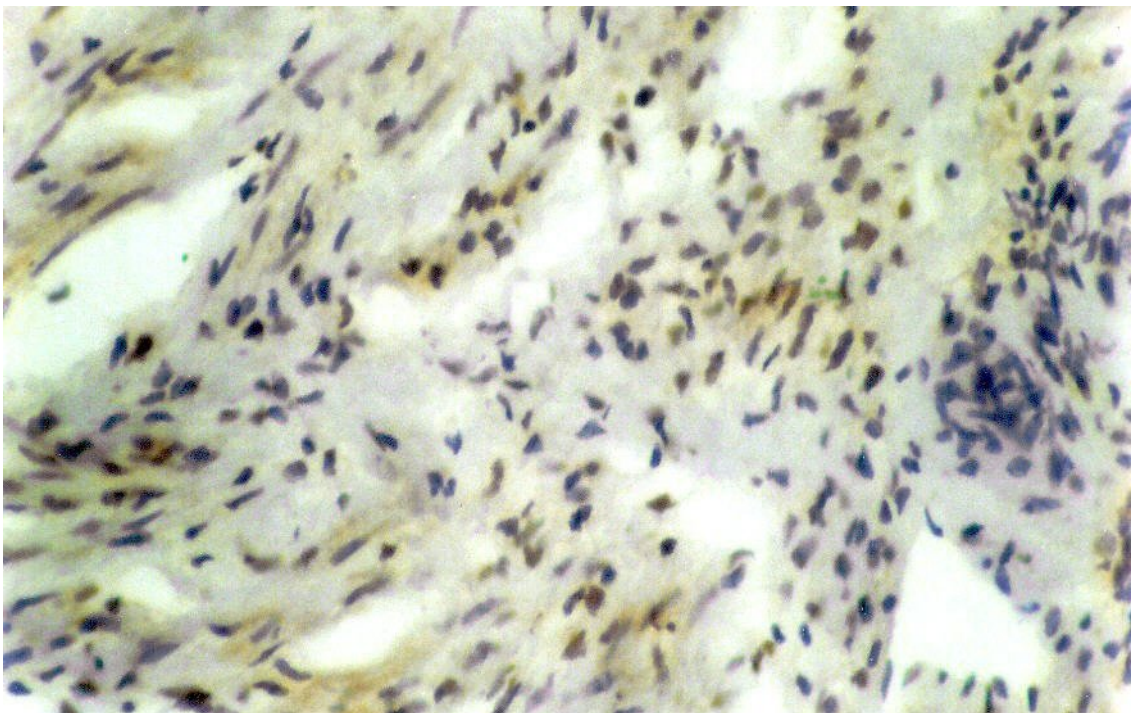
Tabela 25 - CEC - HPV POSITIVO (Somente 01 caso)

EPITELIAL - RE e RP - negativo
CERATINÓCITO - positivo em RE
ESTROMA - RE - positivo
RP - negativo
CERATINÓCITO - positivo em RP



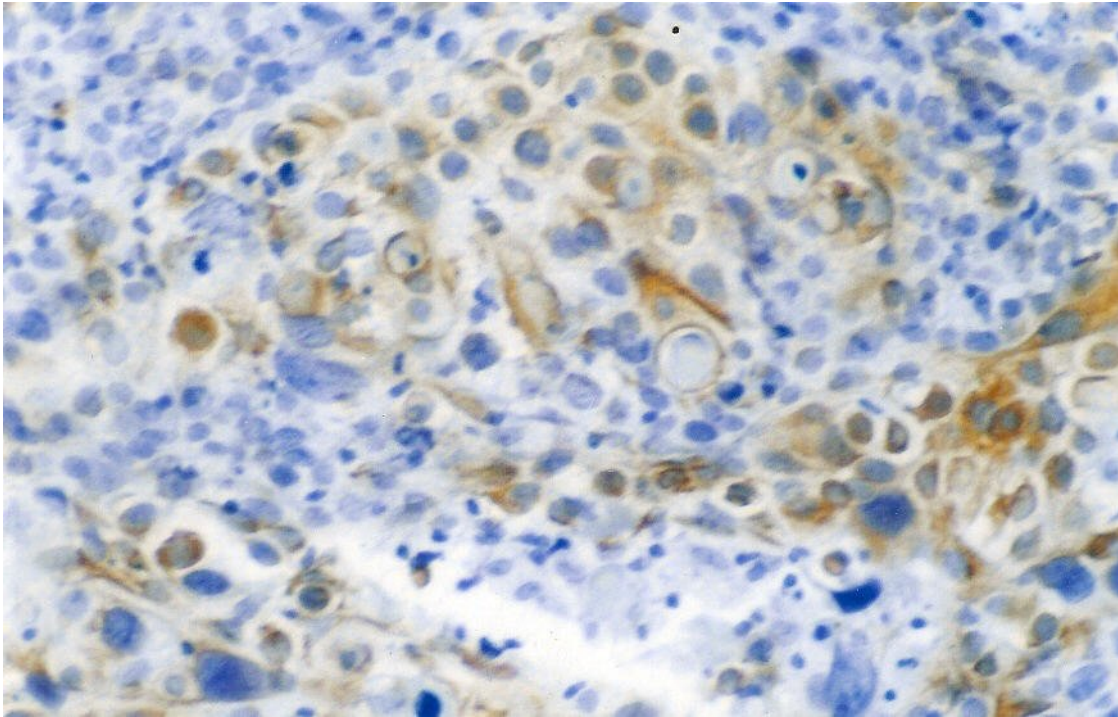
CASO: 6675

**figura 05: Receptor de estrogênio (RE) Epitélio e estroma-colo (PAP)  
(200 X)**



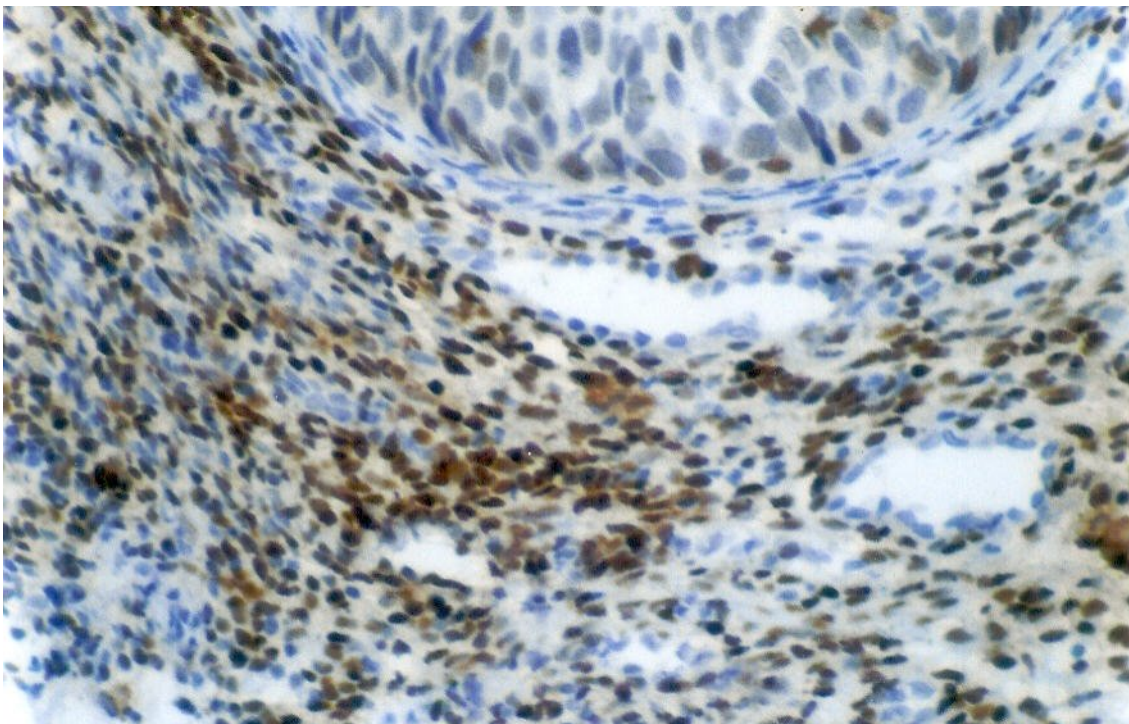
CASO: 2786

**Figura 06: Receptor de estrogênio (RE) estroma-colo (PAP)  
(200 X)**



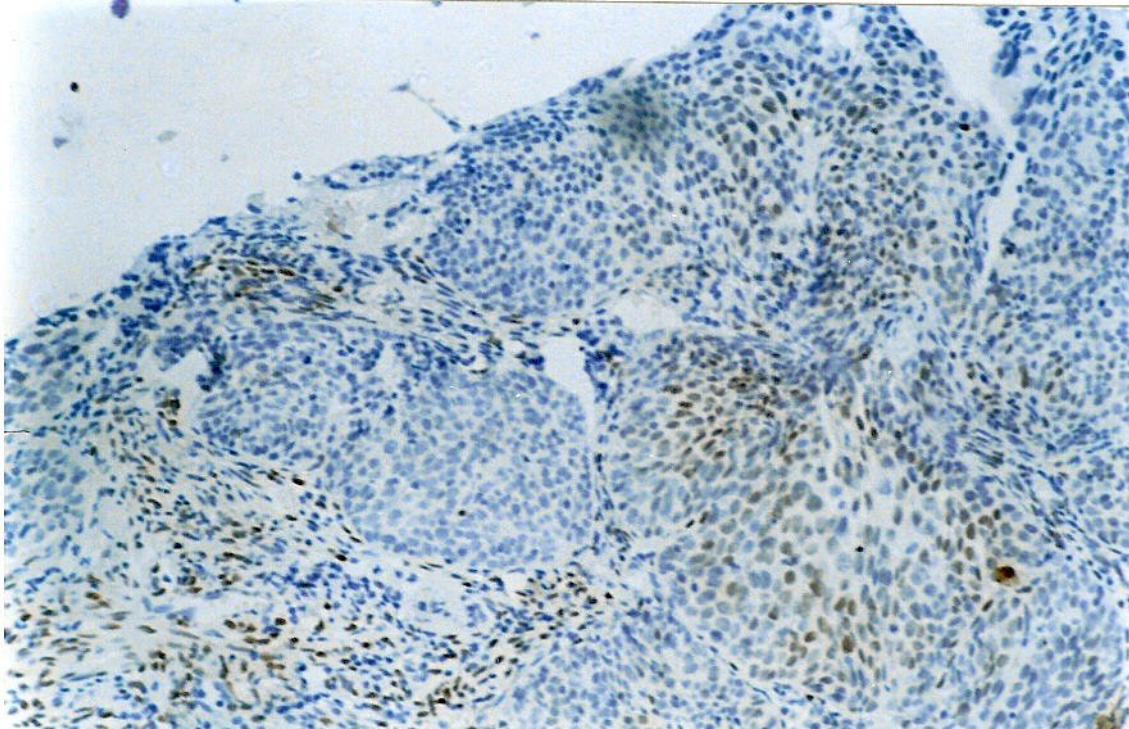
**CASO: 1262**

**FIGURA 07: Receptor de progesterona (RP) ceratinócitos marcados (PAP) células tumorais-colo (400 X)**



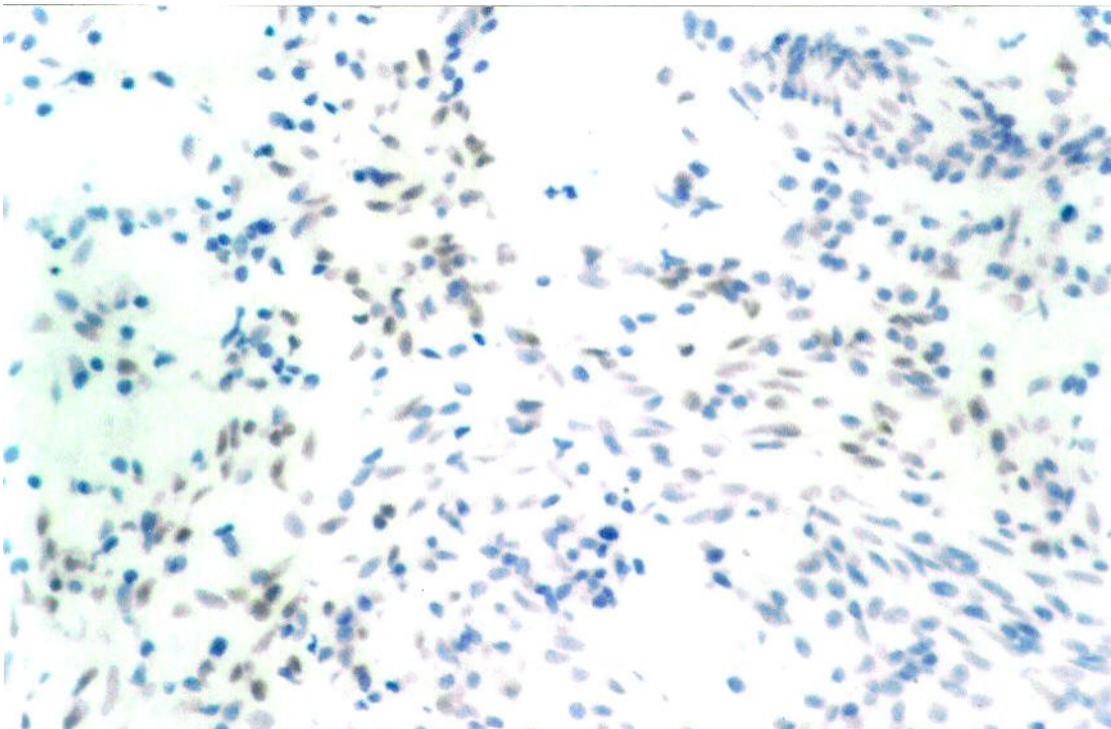
**CASO: 8102**

**FIGURA 08: Receptor de estrogênio (RE) células tumorais e do estroma marcados (PAP) (200 X)**



**CASO: 4073**

**FIGURA 09: Receptor de estrogênio (RE), marcação em células tumorais e estromais (PAP) (100 X).**



**CASO: 4015**

**FIGURA 10: Receptor de estrogênio (RE), marcação em células estromais (PAP) (200 X).**

Figura 11

## EXPRESSÃO DE RECEPTORES DE ESTRÓGENO (RE) E DE PROGESTERONA (RP), EM NEOPLASIAS ESCAMOSAS INTRA-EPITELIAIS E INVASORAS DO COLO UTERINO.

### ER AND PR, EXPRESSIONS IN CERVICAL SQUAMOUS INTRAEPITHELIAL AND INVASIVE LESIONS

SILVA, FJB; FERREIRA, FVA; ARAUJO, RW  
 Dep. de Patologia(UFC) e Instituto de Prevenção do Câncer do Ceará(IPCC) e Instituto do Câncer do Ceará(ICC)  
 Fortaleza, CE. CEP. 60430-230. tel: (085) 2884493

**INTRODUÇÃO**  
 O Ca escamocelular do colo é freqüente (37/100 mil mulheres), o segundo em morbimortalidade no nordeste brasileiro, altamente correlacionado ao HPV (98%, por PCR)?? e (±40%, por HIS), coexistindo ou sendo precedido por neoplasia intraepitelial (NIC). Passível de prevenção em sua quase totalidade. A infecção viral sofre influência dos hormônios esteroides sexuais.

**OBJETIVO**  
 Analisar a expressão de RE, e de RP, em lesões cervicais escamosas intraepiteliais e invasoras, como avaliadores oncológicos da progressão tumoral

**METODOLOGIA**  
 144 amostras cervicais (C) classificadas em lesão intraepiteliais escamosas de baixo grau (LIEBG= 62 C), de alto grau (LIEAG- CIS = 41C) e Ca escamoso invasor (CEC= 41C). Recuperação pelo calor (MO), monoclonais (RE-clone 1D5, RP-clone PgR636) e técnica PAP- strepABC. Foram vistos os núcleos marcados (Índice de dispersão: 1= um foco pequeno, 2= dois ou três focos pequenos, 3= quatro ou mais focos); também, foi estimada a intensidade da reação (1= leve; 2=moderada e 3= forte) e estabelecidos escores de 1 a 9 (grau da reação x grau de dispersão). Tanto no epitélio quanto no estroma. Nas lesões de baixo grau, os focos foram avaliados ainda em relação às camadas do revestimento. A correlação entre os parâmetros avaliada pelo Teste exato de Fisher Yates, com probabilidade de 95% (p ≤ 0,05)

**RESULTADOS**  
 Não houve relação significativa da expressão nuclear de RE ou de RP, apesar de escores menores nas lesões de baixo grau; há marcação citoplasmática significativa, mais de RP, nos ceratinócitos. O estroma, mormente perivascular, RE e RP, mais o RE, mostraram freqüências maiores com a progressão da lesão. Ver as Tabelas a seguir.

**Reatividade nuclear ao RE**

Lesão	Neg x pos	p	Escore alto x baixo	p
Baixo x alto grau	22/30x 23/18	0,2	12/18 x 14/4	0,02
Baixo x CEC	22/30x 29/12	0,01	12/18x 5/7	0,05
Alto x CEC	23/18x 29/12	0,2	14/4x 5/7	0,05

**Reatividade nuclear ao RP**

Lesão	Neg x pos	p	Escore alto x baixo	p
Baixo x alto grau	40/12 x 38/3	0,07	4/8 x 1/2	1
Baixo x CEC	40/12x 27/14	0,3	4/8 x 4/10	1
Alto x CEC	38/3 x 27/14	0,005	½ x 4/10	1

**Colo. Estroma: Reatividade nuclear ao RE**

Lesão	Neg x pos	p	Escore alto x baixo	p
Baixo x alto grau	7/50 x 7/40	0,9	28/22 x 15/25	0,1
Baixo x CEC	7/50 x 10/26	0,1	28/22 x 7/19	0,1
Alto x CEC	7/40 x 10/26	0,2	15/25 x 7/19	0,01


**Estroma: Reatividade nuclear ao RP**

Lesão	Neg x pos	p	Escore alto x baixo	p
Baixo x alto grau	12/24 x 4/23	0,9	20/4 x 20/3	0,9
Baixo x CEC	12/24 x 13/16	0,1	20/4 x 12/4	0,6
Alto x CEC	4/23 x 13/16	0,1	20/3 x 12/4	0,4


**Colo. Citoplasma (camada intermediária): Reatividade nuclear ao RE e ao RP**

Lesão	RE		RP	
	Pos x neg	p	Pos x neg	p
Baixo x alto grau	15/14 x 15/6	0,2	22/7 x 7/14	0,006
Baixo x CEC	15/14x 22/12	0,4	22/7 x 24/10	0,8
Alto x CEC	15/6 x 22/12	0,8	7/14 x 24/10	0,01


**Figura 1: Receptor de estrogênio (RE). Epitélio e estroma. Colo.**



**Figura 2: Receptor de Progesterona (RP). Ceratinócitos.**



**Figura 3: Receptor de estrogênio (RE). CEC. Colo.**



**CONCLUSÕES**  
 A) RE e RP não são avaliadores da progressão tumoral das lesões escamosas do colo uterino.  
 B) Há incremento de RE no estroma do tumor com a progressão tumoral, (paracrina?)

**REFERÊNCIAS**  
 Kanai M, Shiozawa T, Kim L, Nishino T. Fujit 5 Immunohistochemical detection of sex steroid receptors, cyclin, and cyclin-dependent kinases in the normal and neoplastic squamous epithelia of the uterine cervix. *Cancer* 1990;65:1759-73  
 Sandler A, Sherman ME, Zaino RL, Rosenblum IRL. Hormone receptor immunohistochemistry and human papillomavirus in situ hybridization are useful for distinguishing endocervical and endometrial adenocarcinomas. *Am J Surg Pathol* 2002; Aug;26(8):949-1004  
 Gonzalez Sanchez JL, Chavez Brambila J, Mericins Román A, Infante Martínez R, Salazar Esquivel E. Value of estrogen and progesterone receptors in the management of intraepithelial squamous lesions of low grade. *Ginecologia Obstetrica* 2003; Jun;69:5-8  
 Rejala M, Schmidt M, Frankowski A, Spaczynski M. Immunohistochemical assay of p53, cyclin D1, c-erbB2, EGFR and Ki-67 proteins in HPV-positive and HPV-negative cervical cancers. *Folia Histochem Cytol* 2002;42(1):31-41  
 Herbst AL, Knudsen DS, Orntoft TF, Birch P, Norrby B, Knudsen A, Mogensen O. Tamoxifen activity, MIB-1, PCNA, HPV 18 and p53 as diagnostic markers for cervical intraepithelial neoplasia. *APMS* 2001; Sep;109(9):707-17  
 Mounsey J, Magisterian H, Catalan F, Coukos Y, Zavel L, Bostre K. Estrogen and progesterone receptors in cervical human papillomavirus related lesions. *J Clin Pathol* 1991; Jun;44(4):533-6  
 Ferreira FVA, Ferreira SHN, Fernandes MCM, Lima SMS, Rocha-Filho, FD. MIB1 and p53 expression in cervical, vulvar and penile low-high grade intraepithelial and invasive HPV-related squamous lesions. In: **FIRST INTERCOUNTRINENTAL CONGRESS OF PATHOLOGY, 2006**, Funchal, First international Congress of Pathology. Funchal: European Society of Pathology; 2006. v.01, p. 0119-0119  
 Kang B, Young W, Ngan H. Estrogen and progesterone receptor in normal cervix and primary cervical carcinoma. *Chinese Medical Journal* (Engl) 1994;69: 127 (9): 649-52  
 Mosky DE, Werhald J, Dague W, Sander HG. Immunohistochemical investigations of steroid receptors in normal and neoplastic squamous epithelium of the uterine cervix. *Gynecologic Oncology* 1989; Dec; 35 (3): 372-77

XIII Jornada Catarinense de Ginecologia e Obstetrícia  
 19 a 23 de maio de 2008  
 Universidade Federal de Santa Catarina

**MELHOR PÔSTER APRESENTADO**

**EXPRESSÃO DE RECEPTORES DE ESTRÓGENO (RE), DE PROGESTERONA (RP), DE P53 E MIB1 EM NEOPLASIAS ESCAMOSAS INTRA-EPITELIAIS E INVASORAS DO COLO UTERINO E DA VULVA**

ARRUDA, IGR; SILVA, FB; CORREIA, ES; FERREIRA, SNH; LIMA, SMS; FERREIRA, FVA; ARAÚJO, RW


Dep de Patologia(UFC) e Insto do Câncer(ICC).Fortaleza,CE

Introdução: O Ca escamocelular do colo é frequente (37/100 mil mulheres), correlacionado ao HPV (98%, por PCR); o da vulva raro, (cerca de 1/80 dos cervicais) e dividido em dois grupos. Um, associado ao HPV (40%, por HIS), coexistindo ou precedido por neoplasia intraepitelial (VIN). O outro, dominante, o dos CEC ceratinizantes, sem maior relação com o HPV. Objetivo: analisar a expressão de RE, de RP, de p53 e a proliferação celular (MIB-1) em lesões vulvares e cervicais escamosas, como avaliadores oncobiológicos. Metodologia: 51 amostras vulvares (V) e 98 cervicais (C) classificadas em lesão intraepitelial de baixo grau (LIBG= 20V, 32C), de alto grau (LIAG-CIS= 11V, 20C) e ca invasor (CEC= 20V, 34C); recuperação pelo calor (MO), monoclonais (RE-clone 1 D5, RP-clone PgR636, p53-clone DO7 e Ki-67 clone KiS5) e técnica PAP-ABC; contados os núcleos marcados e estabelecidos escores de 1 a 9 (grau da reação x dispersão). Resultados: A expressão de p53 e de MIB1 foi maior e significativa ( $n=0,05$ ) segundo o grau da lesão, nas duas sedes, os escores mais altos (6 a 9) nos CEC e LIAG, exceto nos ceratinizantes vulvares. Não houve relação significativa de RE ou de RP, apesar de escores menores nas lesões de baixo grau. Nas duas sedes, mais no estroma perivascular, o RE teve escores maiores com a progressão da lesão ( $n=0,05$ ). Conclusões: A) p53 e MIB1 são avaliadores da progressão tumoral escamosa no colo e na vulva, mais nos casos com HPV; RE e RP, não. B) Há incremento de RE no estroma tumoral (paracrinia?)

Trabalho apresentado como "Pôster" no XXIV Congresso Brasileiro de Patologia

Florianópolis - 2003

Figura 12



## EXPRESSÃO DE RECEPTORES DE ESTRÓGENO (RE), DE PROGESTERONA (RP), DE P53 E MIB1 EM NEOPLASIAS ESCAMOSAS INTRA-EPITELIAIS E INVASORAS DO COLO UTERINO E DA VULVA.

### ER, PR, MIB1 AND P53 EXPRESSIONS IN CERVICAL AND VULVAR SQUAMOUS INTRAEPITHELIAL AND INVASIVE LESIONS

ARRUDA, LGR; SILVA, FJB; CORREIA, ES; FERREIRA, SNH; LIMA, SMS; FERREIRA, FVA; ARAÚJO, RW  
 Dep de Patologia(UFC) e Instituto do Câncer(ICC). Fortaleza, CE. CEP: 60430.230. tel: (085) 2884493

---

**INTRODUÇÃO:**

O Câncer escamoso do colo é frequente (37/100 mil mulheres), o segundo em mortalidade no nordeste brasileiro, altamente correlacionado ao HPV(85%, por PCR). O da vulva raro (cerca de 1/60 dos cervicais) e dividido em dois grupos. Um associado ao HPV(40%, por HIS), coexistindo ou sendo precedido por neoplasia intraepitelial (VIN). O outro dominante, o dos CEC carinizantes, sem maior relação com o HPV.

**OBJETIVO:**

Analisar a expressão de RE, de RP, de p53 e a taxa de proliferação celular (MIB-1) em lesões vulvares e cervicais escamosas intraepiteliais e invasoras, como avaliadores oncológicos da progressão tumoral.

**METODOLOGIA:**

51 amostras vulvares (V) e 144 cervicais (C) classificadas em lesão intraepitelial de baixo grau (L1/BG=20V, 62C) de alto grau (L2AG-CIS = 11V, 41C) e Ca invasor (CEC= 20V, 41C. Recuperação pelo calor (MO), monoclonais (RE-clone 1D5, RP-clone PgR536, p53, clone D07 e Ki-67, clone KISS) e técnica PAP, strepABC. Foram vistos os núcleos marcados (Índice de dispersão: 1= um foco pequeno; 2= dois ou três focos pequenos; 3= quatro ou mais focos); também, foi estimada a intensidade da reação (1= leve; 2= moderada e 3= forte) e estabelecidos escores de 1 a 9 (grau da reação x grau de dispersão). Tanto no epitélio quanto no estroma. Nas lesões de baixo grau, os focos foram avaliados, ainda, em relação às camadas do revestimento. A correlação entre os parâmetros avaliada pelo teste exato de Fisher - Yates, com probabilidade de 95% (p = 0,05).

**Tabelas. (p53, MIB1, Colo e Vulva)**

Lesão	Pos	neg	p	Pos	neg	p
Lesão x alto grau	10/14	1/5	0,2	20/2	1/4	0,005
Lesão x CEC	10/14	2/14	0,2	20/2	2/14	0,5
Alto x CEC	1/5	2/14	0,8	1/4	2/14	0,5

**CONCLUSÕES:**

A) p53 e MIB1 são avaliadores da progressão tumoral escamosa no colo e na vulva, nesta mais nos casos com HPV. RE e RP, não.

B) Há incremento de RE no estroma tumoral com a progressão tumoral, na vulva (paracrina), tendência não tão conspicua nos CEC cervicais.

---

**Tabelas. (RE e RP, Colo)**

Lesão	Pos	neg	p	Pos	neg	p
Lesão x alto grau	10/14	1/5	0,2	20/2	1/4	0,005
Lesão x CEC	10/14	2/14	0,2	20/2	2/14	0,5
Alto x CEC	1/5	2/14	0,8	1/4	2/14	0,5

**Colo, Estroma: Reatividade nuclear ao RE**

Lesão	Pos	neg	p	Pos	neg	p
Lesão x alto grau	10/14	1/5	0,2	20/2	1/4	0,005
Lesão x CEC	10/14	2/14	0,2	20/2	2/14	0,5
Alto x CEC	1/5	2/14	0,8	1/4	2/14	0,5

**Estroma: Reatividade nuclear ao RP**

Lesão	Pos	neg	p	Pos	neg	p
Lesão x alto grau	10/14	1/5	0,2	20/2	1/4	0,005
Lesão x CEC	10/14	2/14	0,2	20/2	2/14	0,5
Alto x CEC	1/5	2/14	0,8	1/4	2/14	0,5

**Colo, Citoplasma (camada intermediária): Reatividade nuclear ao RE e ao RP**

Lesão	Pos	neg	p	Pos	neg	p
Lesão x alto grau	10/14	1/5	0,2	20/2	1/4	0,005
Lesão x CEC	10/14	2/14	0,2	20/2	2/14	0,5
Alto x CEC	1/5	2/14	0,8	1/4	2/14	0,5

**Tabelas. (RE e RP, Vulva)**

Lesão	Pos	neg	p	Pos	neg	p
Lesão x alto grau	10/14	1/5	0,2	20/2	1/4	0,005
Lesão x CEC	10/14	2/14	0,2	20/2	2/14	0,5
Alto x CEC	1/5	2/14	0,8	1/4	2/14	0,5

**Vulva: Reatividade citoplasmática (paracrina) ao RP**

Lesão	Pos	neg	p	Pos	neg	p
Lesão x alto grau	10/14	1/5	0,2	20/2	1/4	0,005
Lesão x CEC	10/14	2/14	0,2	20/2	2/14	0,5
Alto x CEC	1/5	2/14	0,8	1/4	2/14	0,5


**Vulva Estroma: Reatividade nuclear ao RE**

Lesão	Pos	neg	p	Pos	neg	p
Lesão x alto grau	10/14	1/5	0,2	20/2	1/4	0,005
Lesão x CEC	10/14	2/14	0,2	20/2	2/14	0,5
Alto x CEC	1/5	2/14	0,8	1/4	2/14	0,5


**Vulva Estroma: Reatividade nuclear ao RP**

Lesão	Pos	neg	p	Pos	neg	p
Lesão x alto grau	10/14	1/5	0,2	20/2	1/4	0,005
Lesão x CEC	10/14	2/14	0,2	20/2	2/14	0,5
Alto x CEC	1/5	2/14	0,8	1/4	2/14	0,5


**Figura 1: Receptor de estrogênio (RE) Epitélio e estroma, Colo**



**Figura 2: Receptor de Progesterona (RP) Centrótiolos, Vulva**



**Figura 3: Receptor de estrogênio (RE) CEC, Colo**



**REFERÊNCIAS SELECIONADAS:**

Ameli M, Shiozawa T, Xin L, Nakaide T, Fujii S. Immunohistochemical detection of sex steroid receptors, cyclins, and cyclin-dependent kinases in the normal and neoplastic squamous epithelia of the uterine cervix. *Cancer* 1998 May 1; 82(9):1709-19.

Stähler A, Sherman ME, Zaino RJ, Ronnett BM. Hormone receptor immunohistochemistry and human papillomavirus in situ hybridization are useful for distinguishing endocervical and endometrial adenocarcinomas. *Am J Surg Pathol* 2002 Aug; 26(8):998-1005.

Gonzalez-Sanchez JL, Chavez Brantilla J, Maricela Roman A, Infante Martinez R, Salazar Esquivel LE. Value of estrogen and progesterone receptors in the management of intraepithelial squamous lesions of low grade. *Ginecol Obstet Mex* 2001 Jan; 69:1-6.

Shen K, Yuang W, Ngan H. Estrogen and progesterone receptors in normal cervix and primary cervical carcinoma. *Chin Med J (Engl)* 1994 Sep; 107(9):648-52.

Kozlowski M, Schwedt M, Frankowski A, Spaczynski M. Immunohistochemical assay of p53, cyclin D1, c-erbB2, EGFR and Ki 67 proteins in HPV-positive and HPV-negative cervical cancers. *Folia Histochem Cytobol* 2002; 40(1):37-41.

Heintzsch M, Knudsen UB, Drost TF, Bichel P, Nordt B, Knudsen A, Mogensen O. Telomerase activity, MIB-1, PCNA, HPV 16 and p53 as diagnostic markers for cervical intraepithelial neoplasia. *APMIS* 2001 Sep; 109(9):507-17.

Salmaso R, Zan T, Zarnoi M, Perin D, Marchioni S, Marchetti M. Prognostic value of protein p53 and ki-67 in invasive vulvar squamous cell carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 2000; 21(5):479-83.

Monsonego J, Maglielani H, Catalan F, Coscas Y, Zerri L, Sastre X. Estrogen and progesterone receptors in cervical human papillomavirus related lesions. *Int J Gynecol Cancer* 1991 Jun; 1(4):533-9.

Ferreira FVA, Ferreira SNH, Fernandes MGM, Lima SMS, Rocha-Filho, FD. MIB1 and p53 expression in cervical, vulvar and penial low/high grade intraepithelial and invasive HPV-related squamous lesions. In: **FIRST INTERCONTINENTAL CONGRESS OF PATHOLOGY, 2000, Funchal, First Intercontinental Congress of Pathology, Funchal European Society of Pathology, 2000 v. 01, p. m19-416.**