

Biomedicina e Farmácia: Aproximações 2

Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes
Tiago Sousa Melo
(Organizadores)



Atena
Editora

Ano 2019

Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes
Tiago Sousa Melo
(Organizadores)

Biomedicina e Farmácia: Aproximações 2

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Natália Sandrini e Lorena Prestes

Revisão: Os autores

Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

B615 Biomedicina e farmácia [recurso eletrônico] : aproximações 2 / Organizadores Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes, Tiago Sousa Melo. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. – (Biomedicina e Farmácia; v. 2)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-323-1

DOI 10.22533/at.ed.231191504

1. Biomedicina. 2. Ciências médicas. 3. Farmácia. I. Lopes, Letícia Bandeira Mascarenhas. II. Melo, Tiago Sousa. III. Série.

CDD 610

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

www.atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Farmácia e Biomedicina integram o time das ciências da saúde que constituem nas áreas que estudam sobre a vida, a saúde e a doença. No qual focam na manutenção e na melhoria da saúde para o indivíduo, grupos específicos e comunidades.

A obra “Biomedicina e Farmácia: Aproximações” consiste de uma série de livro (E-book) de publicação da Atena Editora, em seus 28 capítulos de artigos científicos do volume I, a qual abordam temáticas atualizadas de diferentes âmbitos que vão desde relatos de casos até a análise de medicamentos, plantas e microbiologia, entre outros.

Sendo assim, almejamos que este livro possa contribuir com informações pertinentes e atualizadas para os estudantes e profissionais da área de farmácia e biomedicina, oportunizando a ampliação dos conhecimentos sobre o tema.

Desejamos a todos uma boa leitura!

Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes

Tiago Sousa Melo

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
A IMPORTÂNCIA DA ASSISTÊNCIA FARMACÊUTICA PRESTADA AOS PORTADORES DE DIABETES MELLITUS TIPO 1	
Gisele Lopes Cavalcante Maria Camila Leal de Moura José Virgulino de Oliveira Lima Yara Maria da Silva Pires Aline Suelen Silva Maria Ana Rita de Sousa França Izabela Borges de Carvalho Polyanna dos Santos Negreiros	
DOI 10.22533/at.ed.2311915041	
CAPÍTULO 2	15
ANÁLISE BACTERIOLÓGICA DE QUEIJOS ARTESANAIS COMERCIALIZADOS NAS FEIRAS LIVRES DO MUNICÍPIO DE CARUARU-PE	
Jucélia Ivonete dos Santos Valéria da Silva Tabosa Agenor Tavares Jácome Júnior	
DOI 10.22533/at.ed.2311915042	
CAPÍTULO 3	26
ANÁLISE DA EFICÁCIA DE PROGRAMAS DE CONTROLE DA DENGUE NO MUNICÍPIO DE BOA VISTA DO ESTADO DE RORAIMA	
Fabiana Nakashima Ítallo de Souza Almeida Tulio Marroquim Galvão Iran Barros de Castro Nathalia Bittencourt Graciano Isabella Maravalha Gomes Ana Iara Costa Ferreira Bianca Jorge Sequeira Costa Leila Braga Ribeiro Wagner do Carmo Costa Fabiana Zimmermann dos Santos Luis Enrique Galan Bermejo Rodrigo de Barros Feltran	
DOI 10.22533/at.ed.2311915043	
CAPÍTULO 4	34
ANÁLISE DO PERFIL DOS PACIENTES SUBMETIDOS AO EXAME DE MICROALBUMINÚRIA REALIZADO NO LABORATÓRIO CENTRAL DE BIOMEDICINA NO PRIMEIRO TRIMESTRE DE 2018	
Flávia Karen Carvalho Garcia Marcos Emanuel Vilanova da Costa Jessica Santana de Oliveira Layanne Barbosa dos Santos Larissa Lisboa Rêgo Brito Rachel Freire Boaventura	
DOI 10.22533/at.ed.2311915044	

CAPÍTULO 5 40

ANÁLISE HISTOQUÍMICA DA LÂMINA FOLIAR DE *Azadirachta indica* A.Juss

Rafaela Damasceno Sá
Felipe Ribeiro da Silva
Girllene da Silva Cavalcanti
Karina Perrelli Randau

DOI 10.22533/at.ed.2311915045

CAPÍTULO 6 46

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA GOMA DE MANDIOCA COMERCIALIZADA NA FEIRA LIVRE DO BAIRRO ALVORADA II NA CIDADE DE MANAUS-AM

Uziel Ferreira Suwa
Elias da Silva Lemos
Andreia Ferreira Silva

DOI 10.22533/at.ed.2311915046

CAPÍTULO 7 53

APROVEITAMENTO DA SEMENTE DE ABÓBORA (*Cucurbita moschata*) NO DESENVOLVIMENTO DE CREME HIDRATANTE ESFOLIANTE

Mariana Gavioli dos Reis Pena
Tatiane Amorim Lima
Marcone Augusto Leal de Oliveira
Guilherme Diniz Tavares
Fabiano Freire Costa
Paula Rocha Chellini

DOI 10.22533/at.ed.2311915047

CAPÍTULO 8 68

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE PLANTAS DE USO POPULAR NO BRASIL: CAMOMILA (*MATRICARIA CHAMOMILLA*), ERVA DOCE (*PIMPINELLA ANISUM*) E JUCÁ (*CAESALPINIA FERREA*)

Caroline Mendes Santos
Carina Assis Lima Da Silva
Carolina Azevedo Amaral
Joyce dos Santos Brasil
Daniela Soares Leite

DOI 10.22533/at.ed.2311915048

CAPÍTULO 9 82

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE PLANTAS DE USO POPULAR NO BRASIL: GOIABA (*PSIDIUM GUAJAVA* L.) E MELÃO DE SÃO CAETANO (*MOMORDICA CHARANTIA*)

Daniela Soares Leite
Caroline Mendes Santos
Carina Assis Lima Da Silva
Carolina Azevedo Amaral

DOI 10.22533/at.ed.2311915049

CAPÍTULO 10 93

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO DA FOLHA DE *Bauhinia forficata* Link (PATA DE VACA)

Clara Santos Shen
Eduarda dos Santos Lima
Mariana Oliveira Arruda

DOI 10.22533/at.ed.23119150410

CAPÍTULO 11 104

AVALIAÇÃO DA CITOXIDADE, MUTAGENICIDADE E TOXICIDADE DO EXTRATO ETANÓLICO DOS FRUTOS DO *Lycium barbarum* (GOJI BERRY) POR MÉTODOS *Allium cepa* EM CÉLULAS EUCARIONTES

Ogenya Rafaela Bispo de Souza
Francisca dos Santos
Manoel Pinheiro Lúcio Neto

DOI 10.22533/at.ed.23119150411

CAPÍTULO 12 114

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO RASTREIO DA TOXOPLASMOSE DURANTE A GESTAÇÃO EM RORAIMA

Jéssyca Magalhães de Matos
Wagner do Carmo Costa
Ana Iara Costa Ferreira
Fabiana Nakashima
Leila Braga Ribeiro
José Geraldo Ticianeli
Camila Sampaio Florença Santana
Allaelson dos Santos de Moraes
Gabriela Moraes Gomes
Fernanda Zambonin
Bianca Jorge Sequeira

DOI 10.22533/at.ed.23119150412

CAPÍTULO 13 127

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS HEMOCOMPONENTES NO HEMOCENTRO COORDENADOR DE SERGIPE

Flávia Karen Carvalho Garcia
Fátima de Jesus Santos
Jéssica Araújo Menezes
Larissa Lisboa Rêgo Brito
João Victor Ferreira Santana
Raphael Davisson Lopes Santos
Weber De Santana Teles

DOI 10.22533/at.ed.23119150413

CAPÍTULO 14 139

AVALIAÇÃO DO PERFIL DE ANEMIAS EM EXAMES HEMATOLÓGICOS DE UMA POPULAÇÃO ATENDIDA POR PROJETO SOCIAL E SUA CORRELAÇÃO COM VALORES DE REFERÊNCIA

Gleice dos Anjos Santos
Athos de Barros Vieira
Jonas Alves Paiva
Maria Helena Rodrigues De Mendonça

DOI 10.22533/at.ed.23119150414

CAPÍTULO 15 152

AVALIAÇÃO FENOTÍPICA E GENOTÍPICA DE ISOLADOS DO COMPLEXO *Candida parapsilosis* CAUSADORES DE CANDIDEMIA NO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO (HC-FMRP)

Márcia Eliana da Silva Ferreira
Heliara Maria Spina Canela
Bárbara Cardoso

DOI 10.22533/at.ed.23119150415

CAPÍTULO 16 169

BIORREMEDIAÇÃO DE MANGUEZAL CONTAMINADO COM PETRÓLEO COM OBTENÇÃO DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA EM BIOPOLÍMEROS E PEPTÍDIOS CRISTALIZADOS

Odete Gonçalves
Paulo Fernando de Almeida
Cristina Maria A. L. T. M. H. Quintella
Ana Maria Álvares Tavares da Mata

DOI 10.22533/at.ed.23119150416

CAPÍTULO 17 186

BIOTECHNOLOGICAL APPLICATIONS OF THE YEAST CELL WALL WITH EMPHASIS ON THE DEVELOPMENT OF FEED ADDITIVES

Carina Maricel Pereyra
Mariana Angélica Montenegro
Lilia Reneé Cavaglieri

DOI 10.22533/at.ed.23119150417

CAPÍTULO 18 204

CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E HISTOQUÍMICA DA LÂMINA FOLIAR DE *Calotropis procera* (Aiton) W.T.Aiton

Rafaela Damasceno Sá
Adolfo Santos da Silva
Deysielle Maria dos Santos
Karina Perrelli Randau

DOI 10.22533/at.ed.23119150418

CAPÍTULO 19 211

CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E HISTOQUÍMICA DE *Schinus molle* L.

Luciano de Medeiros Dantas
Rafaela Damasceno Sá
Larisse Bianca Soares Pereira
Karina Perrelli Randau
Flávia Carolina Lins da Silva

DOI 10.22533/at.ed.23119150419

CAPÍTULO 20 223

CARACTERIZAÇÃO FARMACOGNÓSTICA E DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CLAE-DAD PARA *FINGERPRINT* DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM *Alternanthera brasiliana*

José Marcos Teixeira de Alencar Filho
Hyany Andreysa Pereira Teixeira
Iure Silva de Carvalho
Pedrita Alves Sampaio
Emanuella Chiara Valença Pereira
Isabela Araujo e Amariz
Larissa Araújo Rolim
Edigênia Cavalcante da Cruz Araújo

DOI 10.22533/at.ed.23119150420

CAPÍTULO 21 235

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE PLANTAS DO SEMIÁRIDO NORDESTINO COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Ítalo da Silva Batista
Francinalva Dantas de Medeiros

DOI 10.22533/at.ed.23119150421

CAPÍTULO 22 244

COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E FOTOPROTETORA DOS EXTRATOS DE *Averrhoa carambola* L.

Tálison Taylon Diniz Ferreira
Orlene Nascimento da Silva
Jéssyca Wan Lume da Silva Godinho
Kleyton Santos Veras
Denise Fernandes Coutinho
Flavia Maria Mendonça do Amaral

DOI 10.22533/at.ed.23119150422

CAPÍTULO 23 256

CONHECIMENTO DE MULHERES USUÁRIAS DE UMA UNIDADE DE ESTRATÉGIA DE SAÚDE DA FAMÍLIA SOBRE A TRICOMONÍASE

Jessé Alves de Souza
Laís Marques da Silva Pedrosa
Evilma Nunes de Araújo
Alecio Marcelo Lima Dos Santos
Paulyanne Karlla Araújo Magalhães
Thiago José Matos Rocha

DOI 10.22533/at.ed.23119150423

CAPÍTULO 24 266

CONTROLE DE QUALIDADE DE MEDICAMENTOS A BASE DE ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIAS

Mariana Ribeiro Gonçalves Cordeiro Cruz
Bianca da Silva Cardoso
Luiza Helena Nascimento Lopes
Nadjanayra Soares Rodrigues
Nathália Gonçalves Silva
Thaísia Silva Pires
Tálison Taylon Diniz Ferreira
Maria dos Remédios Mendes de Brito
Angélica Gomes Coelho

DOI 10.22533/at.ed.23119150424

CAPÍTULO 25 275

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DA SITAGLIPTINA POR CLAE

Bruna de Carvalho Mapa
Jacqueline de Souza
Iara Devula Tiso Tana
Débora dos Santos da Silva
Neila Márcia Silva-Barcellos

DOI 10.22533/at.ed.23119150425

CAPÍTULO 26 287

DETECÇÃO, ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE DERMATÓFITOS EM UTENSÍLIOS DE CENTROS DE ESTÉTICA DA CIDADE DE MACEIÓ, ALAGOAS

Bárbara Letícia Figueiredo Fonseca
Marcus Vinícius de Andrade Silveir
Caroline Fernanda Andrade Gomes
Camila Neves de Melo Cavalcanti
Aryanna Kelly Pinheiro Souza
Gabriela Souto Vieira de Mello
Marina Valdez dos Santos
Ana Paula de Almeida Portela da Silva

DOI 10.22533/at.ed.23119150426

CAPÍTULO 27 293

DIVERSIDADE GENÉTICA DOS PAPILOMAVÍRUS HUMANOS DE ALTO RISCO 16, 53 E 66 EM ALAGOAS, BRASIL

Karwhory Wallas Lins da Silva
Márcia Adriana Pessoa de Oliveira Esteves
Sâmea Keise de Oliveira Silva
Velber Xavier Nascimento

DOI 10.22533/at.ed.23119150427

SOBRE OS ORGANIZADORES..... 305

DIVERSIDADE GENÉTICA DOS PAPILOMAVÍRUS HUMANOS DE ALTO RISCO 16, 53 E 66 EM ALAGOAS, BRASIL

Karwhory Wallas Lins da Silva

Centro Universitário Cesmac
Maceió – Alagoas

Márcia Adriana Pessoa de Oliveira Esteves

Centro Universitário Cesmac
Maceió – Alagoas

Sâmea Keise de Oliveira Silva

Centro Universitário Cesmac
Maceió – Alagoas

Velber Xavier Nascimento

Centro Universitário Cesmac
Maceió – Alagoas

RESUMO: O câncer do colo do útero é o segundo mais comum no mundo e o Papilomavírus Humano (HPV) está presente em 99% dos casos. O estudo de variantes moleculares assume grande importância, uma vez que dados epidemiológicos e moleculares sugerem que variantes de alguns tipos de HPV podem apresentar risco patogênico diferenciado. Buscou-se identificar a variabilidade genética do gene L1 do HPV-16, -53 e -66 em amostras oriundas de Alagoas. Foram obtidas vinte e quatro amostras de HPV provenientes de esfregaços cervicais de mulheres com diagnóstico positivo para HPV atendidas em um Hospital Universitário de Alagoas. Destas, dez isolados foram de HPV-

16, seis de -53 e oito de -66. Foi amplificado um trecho hipervariável do gene L1 do HPV, utilizando 35 ciclos de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Todos os 24 isolados de HPV-16, -53 e -66 previamente genotipados por *Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)*, tiveram os tipos virais confirmados pelo sequenciamento do fragmento da região L1. Foram identificados dois variantes, sendo um do HPV-53 e um do HPV-66. Em relação ao HPV-53, o variante foi identificado em quatro das seis amostras analisadas. Em relação ao HPV-66, o variante esteve presente nos oito isolados analisados. Os três agrupamentos distintos formados pelos isolados de HPV-16, -53 e -66, mostraram valores significativos de *bootstrap*, 91%, 99% e 100%, respectivamente. A presença de variantes HPV-53 e -66 em Alagoas sugere a realização de estudos mais abrangentes entre a expressão de proteínas e sua associação com o possível efeito clínico.

PALAVRAS-CHAVE: Papillomaviridae. Gene L1. Neoplasias do colo do útero. Filogenia.

ABSTRACT: Cervical cancer is the second most common in the world and the human papillomavirus (HPV) is present in 99% of cases. The study of molecular variants assumes great importance, since epidemiological and molecular data suggest that variants of some types of HPV can introduce pathogenic risk. We

sought to identify the genetic variability of gene L1 of HPV-16,-53 and 66-in samples from Alagoas. Have been obtained twenty-four samples of HPV cervical smears from women with positive HPV diagnosis met in a University Hospital in Alagoas. Of these, ten were isolates of HPV-16, six-and eight of 53-66. Was amplified an excerpt hipervariável HPV L1 gene, using 35 cycles for polymerase chain reaction (PCR). All the 24 isolates of HPV-16,-53 and 66-genotipados by Restriction Fragment Length previously Polymorphism (RFLP), had confirmed viral types by sequencing of the fragment of the region L1. Two variants were identified, being one of the HPV-53 and one of the HPV-66. In relation to HPV-53, the variant was identified in four of the six samples analysed. In relation to HPV-66, the variant was present in the eight isolates examined. The three distinct groupings formed by isolates of HPV-16,-53-66, and showed significant bootstrap values, 91%, 99% and 100%, respectively. The presents of HPV variants-53 e-66 in Alagoas suggests broader studies between protein expression and your association with the possible clinical effect.

KEYWORDS: Papillomaviridae. L1 Gene. Cervix Neoplasias. Phylogeny.

1 | INTRODUÇÃO

O câncer do colo do útero é o segundo tipo de câncer mais comum no mundo, e o Papilomavírus Humano (HPV) está presente em 99% dos casos. A persistência viral por HPV de alto risco é considerada a principal causa para desenvolvimento deste câncer (IARC, 2006; BOUVARD et al., 2009).

Estima-se que existam mais de 200 tipos de HPV, sendo apenas 110 descritos até o momento. Entre cerca de 50 tipos de HPV que infectam os humanos, a *International Agency for Research on Cancer (IARC)* classificou 13 tipos como carcinogênicos, uma vez que eles estão associados epidemiologicamente ao desenvolvimento de câncer anogenital (HPV-16, -18, -31, -33, -35, -39, -45, -51, -52, -56, -58, -59, e -66) (IARC, 2006).

A taxonomia do HPV é baseada na sequência nucleotídica do gene L1 (BERNARD et al., 2006). Estudos filogenéticos mostraram que os papilomavírus podem ser agrupados dentro de gênero, espécies, tipos, subtipos e variantes (DE VILLIERS et al., 2004). Os HPV que infectam humanos pertencem ao gênero *Alpha-papillomavirus*, que estão associados a lesões mucosas e cutâneas em humanos e primatas, ainda podendo ser classificados em alto e baixo risco oncogênico. Essa classificação é baseada na frequência em lesões neoplásicas e no potencial de invasão do epitélio infectado. Os HPV de alto risco oncogênico estão associados a neoplasias intraepiteliais cervicais e ao carcinoma invasor. Enquanto os HPV de baixo risco são encontrados mais comumente em lesões benignas, como papilomas e verrugas simples, principalmente em condilomas (SILVA; AMARAL; CRUZ, 2003; IARC, 2006).

Os variantes são reconhecidos quando diferem menos que 2% na sequência das regiões codificadoras E6, E7, L1 e L2 e até 5% na região não codificadora *Long*

Control Region (LCR) (BERNARD et al., 1994; DE VILLIERS et al., 2004). O estudo de variantes moleculares assume atualmente grande importância, uma vez que dados epidemiológicos e moleculares sugerem que variantes de alguns tipos de HPV são biologicamente distintos e podem apresentar risco patogênico diferenciado (DE BOER et al., 2005; BERNARD et al., 2006; SICHERO et al., 2007). Além disso, a associação do HPV com neoplasias benignas e malignas tem levado a uma intensa pesquisa para compreender o impacto da diversidade genética desses vírus na carcinogênese, de modo que o diagnóstico, tratamento e controle das infecções possam ser otimizados.

Os tipos de HPV de alto risco envolvidos na carcinogênese anogenital estão classificados dentro de três grupos filogenéticos, denominados “Espécie”, dois dos quais estão associados com o HPV-16 e HPV-18 (Espécie 9 e 7, respectivamente), e o terceiro que inclui tipos pouco estudados, HPV-30, -53, -56 e -66 (Espécie de HPV 6) (DE VILLIERS et al., 2004). De acordo com Prado et al., (2005), é necessário investigar se os modelos de diversificação intra-tipos de HPV, construída em grande parte, sob os paradigmas do HPV-16 e -18, possivelmente apoiado pelo HPV-31 e -35, seria aplicável a todos os HPV genitais. Além disso, é importante o estabelecimento de uma base de dados para o futuro, envolvendo estudos epidemiológicos, etiológicos, farmacêuticos e de vacinação, com intuito de entender melhor como a diversidade genética afeta a oncogenicidade viral.

O presente estudo teve como objetivo identificar a variabilidade genética do gene do capsídeo viral L1 dos HPV-16, -53 e -66 em amostras de Alagoas, Brasil.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Amostras clínicas

As amostras incluídas no estudo foram obtidas de esfregaços cervicais de mulheres com diagnóstico citomorfológico e/ou histopatológico positivo para HPV, atendidas no Hospital Universitário, em Maceió, Alagoas. A coleta foi realizada com uma escova ginecológica, e em seguida a amostra foi estocada em uma solução tampão (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA pH 8). O DNA genômico foi extraído utilizando o *illustra™ GFX™ PCR DNA and Gel Band Purification Kit* (GE Healthcare) de acordo com as instruções dos fabricantes.

2.2 Amplificação da região L1 com *primers* degenerados e genotipagem viral

Fragmentos de cerca de 450pb do gene L1 de dez isolados de HPV-16, seis de HPV-53 e oito de HPV-66, foram amplificados com os *primers* degenerados MY09 e MY11 (Bernard et al., 1994). A reação de PCR continha 1 μ M de cada *primer*, 0,2mM de cada DNTP, 3mM de MgCl₂, 20mM de tampão (pH 8), 1U de Taq DNA Polimerase (Ludwig Biotec, Rio Grande do Sul, Brasil) e 40ng de DNA. Trinta e cinco ciclos foram

executados na MJ Research PTC-100 Thermocycler com 94°C de desnaturação (30 segundos), 55°C de pareamento (60 segundos), 72°C de extensão (60 segundos) e ainda uma extensão final por 10 minutos. Os amplicons produzidos pela PCR foram analisados em gel de agarose 1,2%, em seguida, os que apresentaram o tamanho esperado foram analisados por *Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)* para identificação do tipo viral (BERNARD et al., 1994).

2.3 Análise dos variantes de HPV

Os produtos de PCR de tamanho esperado foram automaticamente sequenciados no sequenciador Megabace System 500 (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ) usando o Kit DYEnamic™ ET Dye Terminator (MegaBACE™ Amersham Pharmacia Biotech), sendo obtidas as duas sequências de DNA, senso e anti-senso. As amostras foram sequenciadas diretamente sem haver necessidade de clonagem.

As sequências foram comparadas em relação à diversidade genética com outras sequências depositadas no *GenBank* e com as sequências de referência de cada tipo viral: HPV-16 (Nº de acesso: U31794), -53 (Nº de acesso: X74482) e -66 (Nº de acesso: K02718). As sequências foram alinhadas utilizando a ferramenta Blast (*basic local alignment search tool*) (Altschul et al., 1997) seguida pelo alinhador múltiplo CLUSTALW (THOMPSON et al., 1994).

Para identificação de mutações no HPV-16, -53 e -66, as sequências foram comparadas com outras já descritas na literatura e disponíveis no *GenBank* (WHEELER et al., 1997; CERQUEIRA et al., 2003; PRADO et al., 2005). Todas as sequências foram depositadas no GenBank, com os seguintes números de acesso: HQ437997 (isolado Mac-215); HQ437998 (isolado Mac-223); HQ437999 (isolado Mac-225); HQ438000 (isolado Mac-253); HQ438001 (isolado Mac-261); HQ438002 (isolado Mac-263); HQ438003 (isolado Mac-274); HQ438004 (isolado Mac-284); HQ438005 (isolado Mac-297); HQ438006 (isolado Mac-339); HQ438007 (isolado Mac-208); HQ438008 (isolado Mac-271); HQ438009 (isolado Mac-272); HQ438010 (isolado Mac-277); HQ438011 (isolado Mac-291); HQ438012 (isolado Mac-307); HQ438013 (isolado Mac-321); HQ438014 (isolado Mac-332); HQ438015 (isolado Mac-173); HQ438016 (isolado Mac-203); HQ438017 (isolado Mac-222); HQ438018 (isolado Mac-266); HQ438019 (isolado Mac-309); HQ438020 (isolado Mac-360).

2.4 Análise Filogenética

Árvores filogenéticas foram construídas utilizando sequências de 205pb da região L1 obtidas neste estudo com sequências de outras partes do mundo anteriormente analisadas e disponíveis no *GenBank*. Para construção das árvores, foram utilizadas no total 64 sequências, sendo 34 de HPV-16, 14 de HPV-53 e 16 de HPV-66. A análise filogenética foi realizada por meio do método *neighbour joining* utilizando o programa Mega 4.1 (TAMURA et al., 2007). A confiabilidade da árvore foi avaliada através da análise de 1000 réplicas.

2.5 Aspectos Éticos

O trabalho foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Federal de Alagoas, sob o nº 017021/2006-17, e todas as pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

3 | RESULTADOS

3.1 Variabilidade genética

Todos os 24 isolados de HPV-16, -53 e -66 previamente genotipados por *RFLP*, tiveram os tipos virais confirmados pelo sequenciamento do fragmento da região L1 produzido pelo par de iniciadores MY09 e MY11.

Foi analisado um fragmento nucleotídico de 205pb da região L1 de dez isolados do HPV-16, seis do HPV-53 e oito do HPV-66. Todos os 10 isolados do HPV-16 mostraram 100% de similaridade em relação à sequência referência. Em relação ao HPV-53, foi identificado um variante em quatro das seis amostras analisadas (**Tabela 1**). O variante foi caracterizado por três variações nucleotídicas pontuais em relação à sequência referência. Também foi identificado 1 variante nos 8 isolados analisados do HPV-66 (**Tabela 2**). Os variantes foram caracterizados por 4 variações nucleotídicas pontuais em relação à sequência referência. As variações nucleotídicas identificadas nos isolados do HPV-53 e -66 não geraram nenhuma alteração na composição de aminoácidos destes isolados.

HPV-53	Gene L1		
Isolados	6 7 4 0	6 7 9 7	6 9 0 8
X74482	A	T	G
Mac-173	G	C	A
Mac-266	G	C	A
Mac-309	G	C	A
Mac-360	G	C	A

Tabela 1. Diversidade do gene L1 de variantes do HPV-53: Mac-173, Mac-266, Mac-309 e Mac-360.

HPV-66	Gene L1			
Isolados	6 8 4 9	6 8 5 5	6 8 5 8	6 9 2 7

U31794	T	C	A	G
Mac-208	C	A	G	A
Mac-271	C	A	G	A
Mac-272	C	A	G	A
Mac-277	C	A	G	A
Mac-291	C	A	G	A
Mac-307	C	A	G	A
Mac-321	C	A	G	A
Mac-332	C	A	G	A

Tabela 2. Diversidade do gene L1 de variantes do HPV-66: Mac-208, Mac-271, Mac-272, Mac-277, Mac-291, Mac-307, Mac-321e Mac-332.

3.2 Análise filogenética

A análise filogenética foi realizada através do método *neighbour joining*, utilizando as sequências nucleotídicas do gene L1 descritas no presente estudo e outras disponíveis no *GenBank*. A análise filogenética obtida com todos os tipos em estudo evidencia o agrupamento característicos entre os tipos -16, -53 e -66. Representado por triângulos cinzas estão os variantes deste trabalho, por triângulos pretos as sequências referências de cada tipo viral, e os demais isolados são variantes depositados no *GenBank* (**Figura 1**). Os *clusters* formados com os isolados de HPV-16, HPV-53 e HPV-66 mostraram valores significativos de *bootstrap*, 91%, 100% e 99%, respectivamente. A árvore filogenética calculada com essas sequências e outras obtidas no *GenBank* mostrou ramificações profundas.

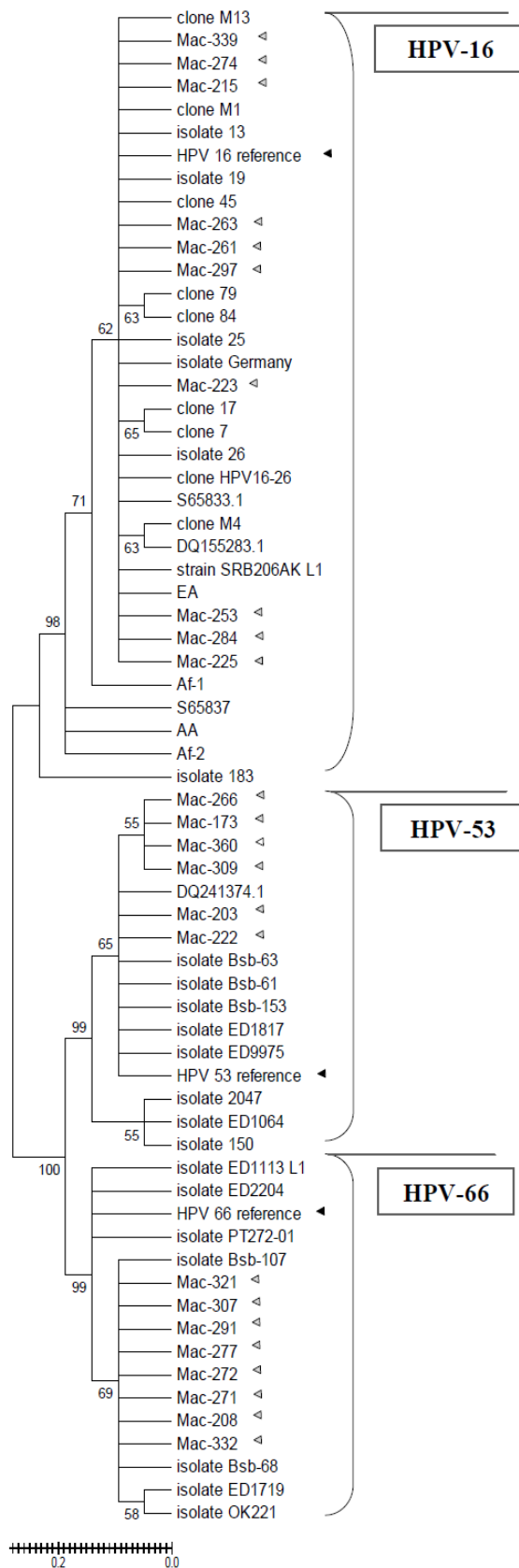


Figura 1. Diversidade intratipos do HPV Diversidade intra-tipos do HPV-16, -53 e -66, baseada em um fragmento de 205pb do gene L1.

Na análise do HPV-16, houve a formação de quatro ramos curtos, um deles é formado pelos isolados clone M4, DQ155283.1, Mac-223 e Mac-263, outro é composto pelos isolados Mac-297 e Mac-284, e os outros dois são formado apenas por isolados provenientes de outros estudos. Os isolados de HPV-16 obtidos neste estudo não

formaram nenhum ramo característico com os variantes étnicos (Af-1, Af-2 e AA).

Entre os isolados de HPV-53, os variantes aqui obtidos não formaram ramos característicos com outros isolados do mundo. Os 4 variantes (Mac-360, Mac-173, Mac-209, Mac-266) ficaram agrupados entre si. Na filogenia do HPV-66, houve a formação de dois ramos curtos. Um ramo contém o HPV-66 referência e 3 variantes do *GenBank* e o outro contém 12 isolados, sendo 4 variantes do *GenBank* e todos os 8 isolados do único variante de HPV-66 aqui obtido.

4 | DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo foi identificar mutações no gene do capsídeo viral L1, dos HPV-16, -53 e -66, em Alagoas, Brasil. Variações nucleotídicas são bem documentadas para tipos mais prevalentes como HPV-6, -11, -16 e -18. Entretanto, poucos estudos envolvendo variantes moleculares de HPV menos prevalentes foram publicados (RAIOL et al., 2009). No Brasil, a maioria dos estudos referentes à prevalência de HPV de alto risco é proveniente da região sudeste (OLIVEIRA-SILVA et al., 2011). Até o momento, na região nordeste do Brasil não existe nenhum dado sobre identificação de variantes moleculares de HPV de alto risco menos prevalentes.

Diversos estudos biomoleculares de HPV de alto risco, indicam que mutações na região de controle LCR do HPV podem alterar as propriedades intrínsecas das proteínas E6 e E7 e seus níveis de expressão, ocasionando diferenças na patogenicidade dos variantes de HPV oncogênicos (BERNARD et al., 2006). Além disso, essas variações nucleotídicas podem afetar a montagem do vírus, a resposta imunológica, degradação da p53, imortalização e a regulação da transcrição (HILDESHEIM et al., 2001; PANDE et al., 2008).

O HPV 16 é o tipo mais comumente encontrado em câncer cervical e lesões intraepiteliais cervicais no mundo (50-70%) (SMITH et al., 2007). Diversos trabalhos no mundo evidenciam que variações genômicas no HPV-16 têm relevância na infectividade e patogenicidade viral (ZEHBE et al., 1998; HILDESHEIM et al., 2001; PANDE et al., 2008). Para Pista et al., (2007) estas variações poderiam influenciar na persistência da infecção e progressão para câncer invasivo, o que explicaria a alta prevalência do câncer cervical e suas patologias em alguns países.

O HPV-53 foi originalmente isolado de esfregaços cervicais em mulheres grávidas sem anormalidades clínicas e citológicas (GALLAHAN et al., 1989). Atualmente é encontrado associado a lesões cervicais de alto grau, e estudos epidemiológicos reportam prevalência de até 4,9% em neoplasias de alto grau (WHEELER et al., 2008). O HPV-66 considerado de alto risco foi detectado originalmente em biópsias de pacientes com carcinoma invasivo na cérvix uterina (TAWHEED et al., 1991), e hoje é encontrado em lesões neoplásicas de grau II e III e cânceres cervicais.

O variante identificado do HPV-53 neste trabalho foi caracterizado por três alterações nucleotídicas, sendo duas já descritas (CERQUEIRA et al., 2003; PRADO

et al., 2005) e uma nova mutação, no nucleotídeo 6797 (T por C). Todos os oito isolados do único variante de HPV-66 identificado compartilham quatro alterações nucleotídicas, também identificadas em outros variantes do mundo (CERQUEIRA et al., 2003; PRADO et al., 2005).

A análise filogenética mostrou os agrupamentos esperados, de acordo com DE VILLIERS et al., (2004), entre os tipos HPV-16 (Espécie 9) e HPV-53 e -66 (Espécie 6). Filogeneticamente neste trabalho não houve a formação de dicotomia profunda, apenas a formação de ramos curtos, típico de alguns variantes já estudados dos HPV-2, -5, -6, -11, -16, -18, -27 e -57 (DEAU et al., 1993; HO et al., 1993; ONG et al., 1993; HEINZEL et al., 1995; STEWART et al., 1996; CHAN et al., 1997; YAMANDA et al., 1997). Em relação à etnia, os isolados aqui obtidos não se agruparam com nenhum dos variantes étnicos, sendo classificados, portanto, como variantes europeus pela sua similaridade com o isolado europeu referência do HPV-16.

Na análise filogenética do HPV-53 e -66, os isolados não formaram ramos distintos com outros isolados do mundo. Todos os variantes do HPV-53 ficaram agrupados entre si, resultado da similaridade nucleotídica destes isolados.

Para Calleja-Macias et al., (2005), a limitada diversidade genômica intra-tipos de HPV é surpreendente., Isso muito provavelmente aconteceu pelo processo de deriva genética e eventos de expansão/redução, típico de um gargalo evolucionário. Apesar do reduzido número de amostras analisadas, essa limitada diversidade pode ser confirmada neste trabalho, uma vez que muitos isolados compartilham as mesmas alterações nucleotídicas, inclusive, em comparação com diversos isolados de todo o mundo.

A prevalência em algumas partes no mundo do HPV-53 e -66, associada a neoplasias de alto grau, é de 4,9% e 2,3%, respectivamente (WHEELER et al., 2009). Já no Brasil, os dados referentes aos tipos menos prevalentes não são conclusivos. De acordo com Krambeck et al., (2008), em um estudo realizado a prevalência no Brasil, a prevalência dos tipos HPV-53 e -66 foi de 4,0% e 4,5%, respectivamente. A identificação de variantes moleculares dos tipos HPV-53 e -66 na região nordeste do Brasil, com mutações encontradas em várias partes do mundo, até o momento é inédito. Porém estudos mais abrangentes são necessários, principalmente aqueles que envolvam a relação entre a caracterização genética, expressão de proteínas e associação com o possível efeito clínico (oncogenicidade e imunização). Com intuito final de tentar reduzir a mortalidade por câncer cervical no mundo, especialmente no Brasil onde este tipo de câncer ainda é um grave problema de saúde pública.

5 | CONCLUSÃO

Conclui-se que em Alagoas existem variantes moleculares dos tipos HPV-53 e HPV-66 com mutações encontradas em várias partes do mundo. Porém estudos mais

abrangentes são necessários, principalmente aqueles que envolvam a relação entre a caracterização genética, expressão de proteínas e associação com o possível efeito clínico (oncogenicidade e imunização).

REFERÊNCIAS

ALTSCHUL, S. F. et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Research**, v. 1;25, n. 17, p. 3389-3402, set. 1997.

BERNARD H. U. et al. Identification and assessment of known and novel human papillomaviruses by polymerase chain reaction amplification, restriction fragment polymorphisms, nucleotide sequence and phylogenetic algorithms. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 170, n. 5, p. 1077-1085, nov. 1994.

BERNARD, H. U.; CALLEJA-MACIAS, I. E.; DUNN, S. T. Genome variation of human papillomavirus types: Phylogenetic and medical implications. **International Journal of Cancer**, v. 118, n. 5, p. 1071-1076, mar. 2006.

BOUVARD, V. et al. A review of human carcinogens – Part B: biological agents. **The Lancet. Oncology**, v. 10, n. 4, p. 321-322, abr. 2009.

CALLEJA-MACIAS, I. E. et al. Worldwide Genomic Diversity of the High-Risk Human Papillomavirus Types 31, 35, 52, and 58, Four Close Relatives of Human Papillomavirus Type 16. **Journal of Virology**, v. 79, n. 21, p. 13630-13640, nov. 2005.

CERQUEIRA, D. M. et al. Variants of Human Papillomavirus Types 53, 58 e 66 identified in Central Brazil. **Virus Genes**, v. 26, n. 1, p. 83-87, jan. 2003.

CHAN, S. Y. et al. Phylogenetic analysis of the human papillomavirus type 2 (HPV-2), HPV-27, and HPV-57 group, which is associated with common warts. **Virology**, v. 239, n. 2, p. 296-302, dez. 1997.

DE BOER, M. A. et al. Human papillomavirus type 18 variants: Histopathology and E6/E7 polymorphisms in three countries. **International Journal of Cancer**, v. 114, n. 3, p. 422-425, abr. 2005.

DE VILLIERS, E. M. et al. Classification of papillomaviruses. **Virology**, v. 324, n. 1, p. 17-27, jun. 2004.

DEAU, M. C. et al. Genetic heterogeneity of oncogenic human papillomavirus type 5 (HPV5) and phylogeny of HPV5 variants associated with epidermodysplasia verruciformis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 31, n. 11, p. 2918-2926, nov. 1993.

GALLAHAN, D. et al. Human papillomavirus type 53. **Journal of Virology**, v. 63, n. 11, p. 4911-4922, 1989.

HEINZEL, P. A. et al. Variation of human papillomavirus type 6 (HPV-6) and HPV-11 genomes sampled throughout the world. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 33, n. 7, p. 1746-1754, jul. 1995.

HILDESHEIM, A. et al. Human papillomavirus type 16 variants and risk of cervical cancer. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 93, n. 4, p. 315-318, fev. 2001.

HO, L. et al. The genetic drift of human papillomavirus type 16 is a means of reconstructing prehistoric viral spread and movement of ancient human populations. **Journal of Virology**, v. 67, n. 11, p. 6413-6414, 1993.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER – IARC. Monographs on the Evaluation

of Carcinogenic Risks to Humans. França: Lyon. 2006. 689 p.

KRAMBECK, W. M. et al. HPV detection and genotyping as an earlier approach in cervical cancer screening of the female genital tract. **Clinical and Experimental Obstetrics & Gynecology**, v. 35, n. 3, p. 175-178, 2008.

OLIVEIRA-SILVA, M. et al. Human Papillomavirus in Brazilian women with and without cervical lesions. **Virology Journal**, v. 8, n. 1, p. 4, jan. 2011.

ONG, C. K. et al. Evolution of human papillomavirus type 18: an ancient phylogenetic root in Africa and intratype diversity reflect coevolution with human ethnic groups. **Journal of Virology**, v. 67, n. 11, p. 6424-6431, nov. 1993.

PANDE, S. et al. Human Papillomavirus type 16 variant analysis of E6, E7, and L1 genes and Long Control Region in biopsy samples from cervical cancer patients in north India. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 46, n. 3, p. 1060-1066, jan. 2008.

PISTA, A. et al. Molecular Variants of Human Papillomavirus Type 16 and 18 and Risk for Cervical Neoplasia in Portugal. **Journal of Medical Virology**, v. 79, n. 12, p. 1889-1897, dez. 2007.

PRADO, J. C. et al. Worldwide genomic diversity of the human papillomaviruses-53, 56, and 66, a group of high-risk HPVs unrelated to HPV-16 and HPV-18. **Virology**, v. 340, n. 1, p. 95-104, set. 2005.

RAIOL, T. et al. Genetic Variability and Phylogeny of the High-Risk HPV-31, -33, -35, -52, and -58 in Central Brazil. **Journal of Medical Virology**, v. 81, n. 4, p. 685-692, 2009.

SICHERO, L. et al. High-grade cervical lesions are caused preferentially by non-European variants of HPVs 16 and 18. **International Journal of Cancer**, v. 120, n. 8, p. 1763-1768, abr. 2007.

SILVA, A. M. T. C.; AMARAL, M. V. T.; CRUZ, A. D. O papel do papiloma vírus humano no câncer. **Biociência Ciência & Desenvolvimento**, v. 29, p. 48-54, 2003.

SMITH, J. S. et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: A meta-analysis update. **International Journal of Cancer**, v. 121, n. 3, p. 621-632, 2007.

STEWART, A. C. et al. Intratype Variation in 12 Human Papillomavirus Types: a Worldwide Perspective. **Journal of Virology**, v. 70, n. 5, p. 3127-3136, maio 1996.

TAMURA, K. et al. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. **Molecular Biology and Evolution**, v. 24, n. 8, p. 1596-1599, ago. 2007.

TAWHEED, A. R. et al. Characterization of human papillomavirus type 66 from an invasive carcinoma of the uterine cervix. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 29, n. 11, p. 2656-2660, 1991.

THOMPSON, J. D.; HIGGINS, D. G.; GIBSON, T. J. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**, v. 22, n. 22, p. 4673-4680, nov. 1994.

WHEELER, C. M. et al. Human Papillomavirus Genotype Distributions: Implications for Vaccination and Cancer Screening in the United States. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 101, n. 7, p. 475-487, abr. 2009.

WHEELER, C. M. et al. Human papillomavirus type 16 sequence variants: identification by E6 and L1 lineage-specific hybridization. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, n. 1, p. 11-19, jan. 1997.

YAMADA, T. et al. Human papillomavirus type 16 sequence variation in cervical cancers: A worldwide perspective. **Journal of Virology**, v. 71, n. 3, p. 2463-2472, mar. 1997.

ZEHBE, I. et al. Human papillomavirus 16 E6 variants are more prevalent in invasive cervical carcinoma than the prototype. **Cancer Research**, v. 58, n. 4, p. 829-833, fev. 1998.

SOBRE OS ORGANIZADORES

LETÍCIA BANDEIRA MASCARENHAS LOPES Farmacêutica, Graduada em Farmácia pelo Centro Universitário INTA (UNINTA). Especialista em caráter de Residência Multiprofissional em Urgência e Emergência (SCMS e UNINTA), especialista em Gestão e Logística Hospitalar pela Universidade Cândido Mendes (UCAM), pós - graduanda em Farmácia Clínica e Cuidados Farmacêutico, pela Escola Superior da Amazônia (ESAMAZ), pós - graduanda em Análises Clínicas e Microbiologia pela Universidade Cândido Mendes (UCAM).

TIAGO SOUSA MELO Possui graduação em FARMÁCIA pela Universidade Federal do Ceará (2009). Doutor em Biotecnologia em Saúde pela Rede Nordeste de Biotecnologia RENORBIO. Atualmente é professor dos Cursos de Farmácia e Odontologia e gestor de pesquisa do curso de Farmácia do Centro Universitário INTA. Também exerce atividade como tutor da Residência Multiprofissional em Urgência e Emergência da Santa Casa de Misericórdia de SobralCE. Tem experiência na área de Farmacologia Pré-Clínica de Produtos Naturais, com ênfase no estudo de plantas medicinais com ação em distúrbios metabólicos (diabetes, dislipidemia e obesidade) e Farmacologia Clínica.

Agência Brasileira do ISBN

ISBN 978-85-7247-323-1



9 788572 473231