



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

ISMAEL GOMES DA ROCHA

**AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA E GENOTÍPICA DAS LESÕES INTRA-
EPITELIAIS CERVICAIS HPV-POSITIVAS EM MULHERES NO ESTADO DO PIAUÍ**

Recife
2023

ISMAEL GOMES DA ROCHA

**AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA E GENOTÍPICA DAS LESÕES INTRA-
EPITELIAIS CERVICAIS HPV-POSITIVAS EM MULHERES NO ESTADO DO PIAUÍ**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de Doutor em Bioquímica e Fisiologia. Área de concentração: Bioquímica e Fisiologia.

Orientador(a): Prof. Dr. Eduardo Isidoro Carneiro Beltrão

Coorientador(a): Prof. Dr. Jacinto da Costa Silva Neto

Recife

2023

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário: Marcos Antonio Soares da Silva,
CRB4/1381

Rocha, Ismael Gomes da.

Avaliação histopatológica e genotípica das lesões intra-epiteliais cervicais HPV positivas em mulheres no Estado do Piauí / Ismael Gomes da Rocha. – 2023.

136 f. : il., fig.; tab.

Orientador: Eduardo Isidoro Carneiro Beltrão.

Coorientador: Jacinto da Costa Silva Neto.

Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, 2023.

Inclui referências, anexos e apêndice.

1. HPV. 2. Genotipagem. 3. Câncer cervical. I. Beltrão, Eduardo Isidoro Carneiro. (Orient.). II. Silva Neto, Jacinto da Costa (Coorient.). III. Título.

572

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2023-256

ISMAEL GOMES DA ROCHA

**AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA E GENOTÍPICA DAS LESÕES INTRA-
EPITELIAIS CERVICAIS HPV-POSITIVAS EM MULHERES NO ESTADO DO PIAUÍ**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de Doutor em Bioquímica e Fisiologia. Área de concentração: Bioquímica e Fisiologia.

Aprovado em: 03/10/2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Eduardo Isidoro Carneiro Beltrão
Presidente da banca - UFPE

Prof. Dra. Maria Danielly Lima de Oliveira
Titular interno - UFPE

Prof. Dr. Mário Ribeiro de Melo Júnior
Titular externo – UFPE

Prof. Dr. Jacinto da Costa Silva Neto
Titular externo - UFPE

Prof. Dra. Anna Jéssica Duarte Silva
Titular externo - UFPE

A minha família, dedico este trabalho. Principalmente a minha Mãe, Maria de Lourdes. Pois, foi com você que aprendi que a vida é uma longa, imprevisível, porém formidável caminhada, quando trilhada com Obstinação, Bondade, Solidariedade, Amor e acima de tudo com Fé. Seguindo em frente sempre, mesmo diante das adversidades. E levo vocês sempre no meu pensamento e no meu coração. Obrigado a todos pelo incentivo, paciência, compreensão, dedicação e carinho ao longo desta jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, em primeiro lugar pela força e pela coragem que cada dia me proporcionou e por estar sempre presente em minha vida.

Aos meus preciosos pais, que acompanharam cada dia dessa trajetória, o incentivo constante do meu pai Francisco Pedro e a minha mãe Maria de Lourdes, pela dedicação incondicional, carinho e solidariedade, em todos os momentos da minha vida.

Ao meu querido avô (in memoriam) José Cassimiro, pelo amor e ensinamentos ao longo da vida.

À minha amada família, meus irmãos, sobrinhos (as), tios (as), primos e amigos, que sempre me incentivaram a não desistir, a colaboração de vocês foi fundamental para a concretização deste sonho.

Ao amigo e Professor Dr. Jacinto Costa da Silva Neto, pela dedicação, competência e oportunidade que me deu para realizar e concluir o presente projeto, sempre me incentivando e orientando em todas as fases do trabalho.

Ao amigo e Professor Dr. Eduardo Isidoro Carneiro Beltrão, pela orientação, confiança, paciência, incentivo e dedicação à vida acadêmica.

Ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia e a CAPES, pelo apoio para o desenvolvimento desse trabalho.

Todos vocês são responsáveis por mais essa vitória em minha vida, que Deus os abençoe hoje e sempre.

“Os sonhos são como uma bússola, indicando os caminhos que seguiremos e as metas que queremos alcançar. São eles que nos impulsionam, nos fortalecem e nos permitem crescer” (Augusto Cury).

RESUMO

O câncer do colo do útero é um dos mais frequentes tumores na população feminina e é causado pela infecção persistente por alguns tipos do papilomavírus humano (HPV). As taxas de morbimortalidade por câncer de colo de útero são altas em países em desenvolvimento, principalmente pelo fato de ser uma patologia de fácil disseminação por via sexual e por ter uma evolução relativamente lenta comparado a outros tipos de cânceres. Diante da escassez de estudos nessa região, o presente trabalho teve como objetivo primário descrever a distribuição dos genótipos de papilomavírus humano em amostras de mulheres procedentes do estado do Piauí e secundariamente descrever a frequência de infecções por múltiplos genótipos e avaliar a associação entre genótipos de HPV, faixa etária e resultados citohistopatológicos. Foram analisadas mulheres do Piauí, no período de 2015 a 2016, diagnosticadas com lesões intraepiteliais de baixo grau (LSIL), alto grau (HSIL), carcinoma invasivo ou Adenocarcinoma. Em relação idade, a faixa com maior percentual, foram as de 41 a 50 anos (41,4%), seguido das com 21 a 40 anos (39,1%) e as mais de 60 anos (19,5%) das participantes. 66,4% são oriundas do interior do Estado e 33,6% são da capital. Os exames histopatológicos demonstraram NIC I (neoplasia intraepitelial cervical) em 14,1%, e NIC II/III em 35,2%, enquanto o carcinoma escamoso atingiu 30,5%, e a menos prevalente foi adeno (3,9%). Na genotipagem detectamos que entre estes as maiores prevalências de HPV foram: HPV33 (68,3%), HPV16 (45,8%), HPV11 (9,2%), HPV11 (5,0%) e os percentuais dos outros 9 HPV's variaram de 0,8% a 3,3%. Concluímos que o HPV-33 é o tipo mais prevalente no Piauí e o HPV-16 o segundo, diferentemente de várias regiões do país. Este foi o primeiro estudo que realizou a detecção e genotipagem de HPV circulantes na população feminina do estado do Piauí. O conhecimento da distribuição de genótipos de HPV pode orientar na introdução de vacinas profiláticas e na determinação da epidemiologia local de genótipos circulantes do HPV de alto risco.

Palavras-chave: HPV; Genotipagem; Câncer cervical.

ABSTRACT

Cervical cancer is one of the most common tumors in the female population and is caused by persistent infection with some types of human papillomavirus (HPV). Morbidity and mortality rates from cervical cancer are high in developing countries, mainly because it is a pathology that is easily spread sexually and has a relatively slow progression compared to other types of cancer. Given the scarcity of studies in this region, the present work had as its primary objective to describe the distribution of human papillomavirus genotypes in samples of women from the state of Piauí and secondarily to describe the frequency of infections by multiple genotypes and evaluate the association between HPV genotypes, age group and cytohistopathological results. Women from Piauí were found to have low-grade intraepithelial lesions (LSIL), high-grade intraepithelial lesions (HSIL), invasive carcinoma or adenocarcinoma from 2015 to 2016. In terms of age, the group with the highest percentage was 41 to 50 years old (41.4%), followed by 21 to 40 years old (39.1%) and over 60 years old (19.5%) of the participants. 66.4% come from the interior of the State and 33.6% come from the capital. Histopathological examinations demonstrated CIN I (cervical intraepithelial neoplasia) in 14.1%, and CIN II/III in 35.2%, while squamous carcinoma reached 30.5%, and was less prevalent was adeno (3.9%). In genotyping, we detected that among these the highest prevalences of HPV were: HPV33 (68.3%), HVP16 (45.8%), HPV11 (9.2%), HPV11 (5.0%) and the percentages of the other 9 HPV variation ranged from 0.8% to 3.3%. We concluded that HPV-33 is the most prevalent type in Piauí and HPV-16 the second, differently in several regions of the country. This was the first study that carried out the detection and genotyping of circulating HPV in the female population of the state of Piauí. Knowledge of the distribution of HPV genotypes can guide the introduction of prophylactic vaccines and the determination of the local epidemiology of circulating high-risk HPV genotypes.

Keywords: HPV; Genotyping; Cervical cancer.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

TESE

- Figura 1 – Índices de incidência e mortalidade pelo câncer cervical 17
- Figura 2 – Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2020 por sexo, exceto pele não melanoma 18
- Figura 3 – Taxas brutas de incidência estimadas para 2020 por sexo, segundo estado e capital 19
- Figura 4 – Relação evolutiva entre os papilomavírus humanos 20
- Figura 5 – Esquema da estrutura genômica do HPV 22
- Quadro 1 – Relação entre os genes de Papilomavírus Humano e suas requeridas funções 23
- Figura 6 – Ciclo viral do HPV 24
- Figura 7 – Passos que levam do colo do útero normal ao câncer 26
- Quadro 2 – Histórico das Nomenclaturas citopatológicas e histopatológicas utilizadas para o diagnóstico das lesões cervicais e suas equivalências 34

ARTIGO 1

- Figura 1 – Análise histológica (HE) e a evolução das lesões cervicais 47
- Gráfico 1 – Laudos histopatológicos 49
- Gráfico 2 – Laudos x idade 50
- Gráfico 3 – Origem x laudo 50
- Gráfico 4 – Origem x laudos 51
- Gráfico 5 – Laudos histopatológicos 51
- Gráfico 6 – Laudos x idade 52
- Gráfico 7 – Etilismo x laudos 52

ARTIGO 2

- Figura 1 – Eletroforese do produto da PCR com primers MY 09/11 em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo 65
- Figura 2 – Eletroforese do produto da PCR com primers GP 5/6 em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo 66
- Figura 3 – Eletroesferogramas obtidos no sequenciamento dos fragmentos

gerados pela PCR67

LISTA DE TABELAS

TESE

Tabela 1 – Primers MY 09/11 e GP06/0642

ARTIGO 2

Tabela 1 – Características sociodemográficos63

Tabela 2 – Resultados da citologia e histopatológico 64

Tabela 3 – Resultados dos exames para HPV65

Tabela 4 – Resultados das coinfeções pelo HPV entre os 120 que apresentaram GP positivo68

Tabela 5 – Avaliação do HPV 16, segundo os resultados da citologia e histopatológico69

Tabela 6 – Avaliação do HPV 18, segundo os resultados da citologia e histopatológico70

Tabela 7 – Avaliação do HPV 33, segundo os dados sociodemográficos71

Tabela 8 – Avaliação do HPV 33, segundo os resultados da citologia e histopatológico72

Tabela 9 – Avaliação do exame Histopatológico, segundo os resultados da citologia72

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASC	Células escamosas atípicas
DNA	Ácido desoxirribonucleico
HIV	Vírus da imunodeficiência adquirida
HPV	Papilomavirus humano
HSIL	Lesão intraepitelial escamosa de alto grau
LBC	Citologia de meio líquido
LCR	Região de controle longo
LSIL	Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau
NIC	Neoplasia intraepitelial cervical
OMS	Organização mundial da saúde
PCR	Reação em cadeia da polimerase
RNA	Ácido ribonucleico
SUS	Sistema único de saúde
URR	Região reguladora a montante

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
2.1	EPIDEMIOLOGIA	17
2.2	PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) E CLASSIFICAÇÃO VIRAL	19
2.3	GENOMA VIRAL	21
2.4	HPV E A TRANSFORMAÇÃO NEOPLÁSICA	23
2.5	PROGRESSÃO DAS LESÕES CERVICAIS	25
2.6	DIAGNÓSTICO DO CÂNCER CERVICAL	27
2.6.1	Citologia Oncótica	29
2.6.2	Colposcopia	31
2.6.3	Histopatologia	33
2.6.4	Técnicas Moleculares de Identificação do HPV	35
3	OBJETIVOS	37
3.1	OBJETIVO GERAL	37
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37
4	MATERIAL E MÉTODOS	38
4.1	TIPO DE ESTUDO	38
4.2	ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA	38
4.3	LOCAL DE ESTUDO	38
4.4	POPULAÇÃO ALVO E PERÍODO	38
4.5	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	39
4.6	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	39
4.7	EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DO DNA	39
4.8	AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO DNA EXTRAÍDO	40
4.9	PURIFICAÇÃO DO DNA	40
4.10	OBTENÇÃO DA AMOSTRA E EXTRAÇÃO DOS ÁCIDOS NUCLÉICOS	41
4.11	DETECÇÃO DO DNA VIRAL	41
4.12	GENOTIPAGEM	42
4.13	MÉTODOS ESTATÍSTICOS	43
5	RESULTADOS	44

5.1	ARTIGO 1–CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL HISTOPATOLÓGICO DAS LESÕES INTRA-EPITELIAIS ESCAMOSAS OU INVASIVAS EM MULHERES ATENDIDAS NO HOSPITAL SÃO MARCOS EM TERESINA-PIAUÍ.	44
5.2	ARTIGO 2 – PERFIL GENOTÍPICO DA INFECÇÃO POR PAPILOMAVÍRUS HUMANO EM MULHERES DO ESTADO DO PIAUÍ COM DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO DE LESÃO CERVICAL INTRAEPITELIAIS DE BAIXO E ALTO GRAU.	59
6	CONCLUSÃO	91
	REFERÊNCIAS	92
	ANEXO A	101
	ANEXO B	105
	ANEXO C	107
	ANEXO D	113
	APÊNDICE A	114
	APÊNDICE B	132
	APÊNDICE C	133
	APÊNDICE D	134
	APÊNDICE E	135
	APÊNDICE F	136

1 INTRODUÇÃO

O câncer é o principal problema de saúde pública no mundo e já está entre as quatro principais causas de morte prematura (antes dos 70 anos de idade) na maioria dos países. A incidência e a mortalidade por câncer vêm aumentando no mundo, em parte pelo envelhecimento, pelo crescimento populacional, como também pela mudança na distribuição e na prevalência dos fatores de risco de câncer, especialmente aos associados ao desenvolvimento socioeconômico. Verifica-se uma transição dos principais tipos de câncer observados nos países em desenvolvimento, com um declínio dos tipos de câncer associados a infecções e o aumento daqueles associados à melhoria das condições socioeconômicas com a incorporação de hábitos e atitudes associados à urbanização (sedentarismo, alimentação inadequada, entre outros) (BRAY *et al.*, 2018).

Mais de 15% dos cânceres humanos podem ser atribuídos a agentes infecciosos, e quase um terço destes são devidos à infecção por HPVs. Os HPVs estão altamente associados ao desenvolvimento do câncer do colo do útero, assim como dos cânceres vaginal, vulvar, anal, retal, peniano e orofaríngeo (VIENSet *al.*, 2016; IARC, 2012).

O câncer do colo do útero é um dos mais frequentes tumores na população feminina e é causado pela infecção persistente por alguns tipos do papilomavírus humano (HPV). A infecção genital por esse vírus é muito frequente e não causa doença na maioria das vezes. Entretanto, em alguns casos, ocorrem alterações celulares que podem evoluir para o câncer. Essas alterações são descobertas facilmente no exame preventivo (conhecido também como Papanicolaou) e são curáveis na quase totalidade dos casos (INCA, 2020).

Outros fatores que aumentam o risco de desenvolver esse tipo de câncer são: início precoce da atividade sexual e múltiplos parceiros; tabagismo (a doença está diretamente relacionada à quantidade de cigarros fumados); e uso prolongado de pílulas anticoncepcionais (INCA, 2020).

As taxas de morbimortalidade por câncer de colo de útero são altas em países em desenvolvimento, principalmente pelo fato de ser uma patologia de fácil disseminação por via sexual e por ter uma evolução relativamente lenta comparado a outros tipos de cânceres. No que diz respeito aos cofatores associados à carcinogênese cervical, o principal fator relacionado com o surgimento e a progressão

das lesões cervicais é o HPV. O HPV é transmitido principalmente por via sexual através do contato direto com a pele ou mucosa infectada. No entanto, embora estas lesões possam ser assintomáticas e transitórias, algumas mulheres desenvolvem infecções persistentes e que possivelmente resultarão em lesões precursoras do câncer do colo do útero. (FREITAS *et al.*, 2012).

É amplamente aceito que o principal fator etiológico para câncer de colo do útero e lesões pré-cancerosas são infecções persistentes causadas pelo vírus do papiloma humano (HPV) (ZUR HAUSEN, 1996). Estimativas mundiais indicam que aproximadamente 20% de indivíduos normais estão infectados pelo Papilomavírus humano (HPV), e a cada ano surgem em torno de 500.000 casos novos de câncer de colo uterino, dos quais cerca de 70% ocorrem em países subdesenvolvidos. Além disso, acredita-se que nessas regiões ocorram de 10 a 20 vezes mais lesões precursoras deste tipo tumoral, o que significa um número elevado de indivíduos acometidos por essa doença (TERMINI *et al.*, 2008).

A infecção pelo HPV é condição necessária para o desenvolvimento do câncer cervical e já está bem estabelecido que os genótipos de alto risco, ou seja, HPVs de alto risco oncogênico, estão intimamente associados a cerca de 95% dos casos de carcinoma escamoso do colo do útero (CHATURVEDI, 2011). Entretanto, a presença isolada do HPV não assegura a carcinogênese cervical (MATSUMOTO & YOSHIKAWA, 2013). É necessária a infecção e persistência associada aos cofatores, os quais atuam em consonância com os mecanismos virais, a fim de estabelecer a iniciação e progressão da neoplasia do colo uterino (GREEN *et al.*, 2007; APPLEBY *et al.*, 2009).

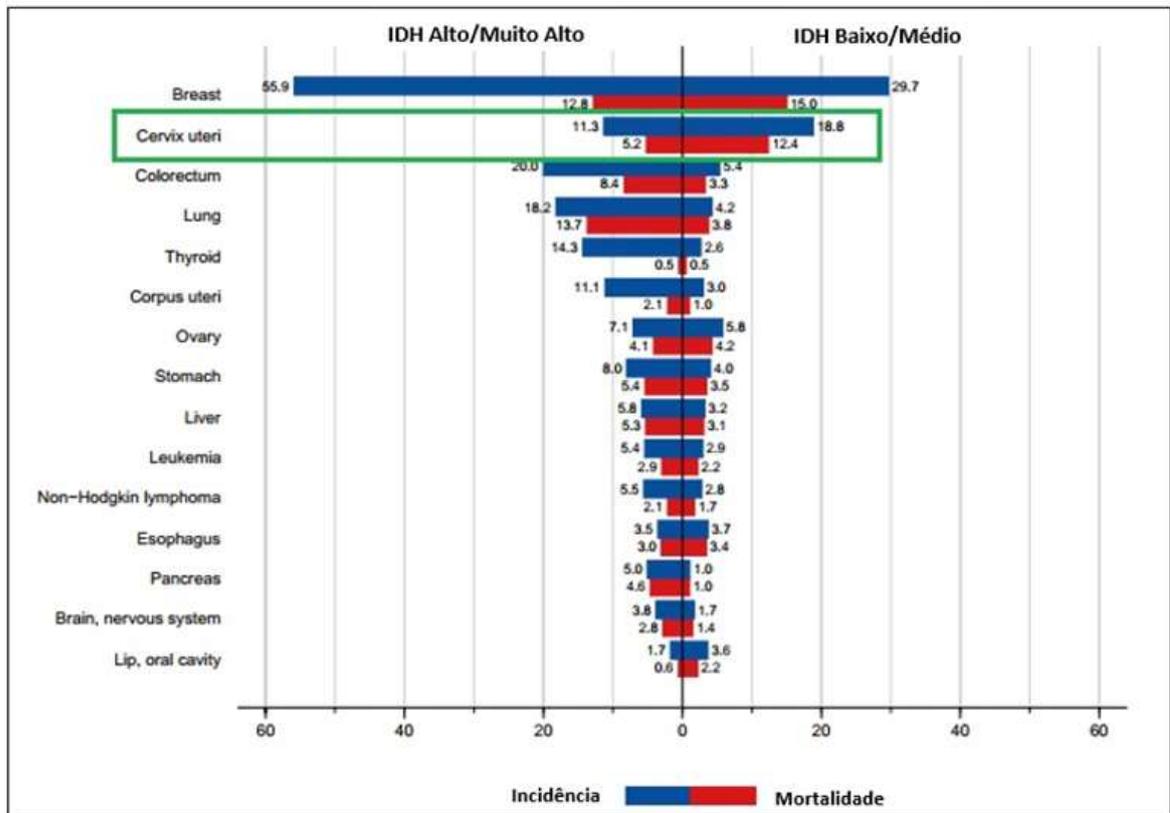
Apesar da importância, não existem estudos de caracterização do DNA do HPV em lesões cervicais na população do Piauí. Portanto, esse estudo realizou a caracterização do perfil histopatológico e genético dos HPVs em mulheres com lesões intra-epiteliais ou invasivas que realizaram exame citológico, colposcópico e histopatológico na clínica ginecológica do Hospital São Marcos (HSM), em Teresina, Piauí. Dessa forma, possibilitando uma melhor compreensão do papel do HPV no desenvolvimento dessa neoplasia, levando a implantação de medidas que minimizem o impacto da doença e possibilitem o desenvolvimento de novas estratégias de tratamento e ou prevenção do câncer de colo do útero.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 EPIDEMIOLOGIA

O câncer cervical é o câncer mais comumente diagnosticado em 23 países e é a principal causa de morte por câncer em 36 países, com a grande maioria destes países encontrados na África Subsaariana, Melanésia, América do Sul e Sudeste Asiático. A maior incidência regional e mortalidade estão na África Subsaariana, com taxas elevadas na África Oriental (Malawi tem a maior incidência e taxa de mortalidade do mundo), África Austral e África Central. As taxas de incidência são 7 a 10 vezes menores na América do Norte, Austrália / Nova Zelândia e Ásia Ocidental (Arábia Saudita e Iraque), com taxas de mortalidade variando até 18 vezes. Os altos índices de incidência e mortalidade pelo câncer cervical nos países em desenvolvimento são mais evidentes, quando comparados com a realidade apresentada nos países desenvolvidos (Figura 1) (SUNG, 2020).

Figura 1 – Índices de incidência e mortalidade pelo câncer cervical.



Fonte: Adaptado de SUNG, 2021.

O número de casos novos de câncer do colo do útero esperados para o Brasil, para cada ano do triênio 2020-2022, será de 16.590, com um risco estimado de 15,43 casos a cada 100 mil mulheres (Figura 2). Sem considerar os tumores de pele não melanoma, o câncer do colo do útero é o segundo mais incidente nas Regiões Norte (21,20/100 mil), Nordeste (17,62/100 mil) e Centro-Oeste (15,92/100 mil). Já na Região Sul (17,48/100 mil), ocupa a quarta posição e, na Região Sudeste (12,01/100 mil), a quinta posição (INCA, 2020).

Figura 2 – Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2020 por sexo, exceto pele não melanoma.



	Localização Primária	Casos	%
Mulheres	Mama feminina	66.280	29,7%
	Cólon e reto	20.470	9,2%
	Colo do útero	16.590	7,4%
	Traqueia, brônquio e pulmão	12.440	5,6%
	Glândula tireoide	11.950	5,4%
	Estômago	7.870	3,5%
	Ovário	6.650	3,0%
	Corpo do útero	6.540	2,9%
	Linfoma não Hodgkin	5.450	2,4%
	Sistema nervoso central	5.220	2,3%

Fonte: Adaptado do INCA, 2020.

No período de 2016 a 2021, observa-se uma oferta estável de exames citopatológicos do colo do útero no Sistema Único de Saúde (SUS), com declínio ao final do período. As regiões Sudeste e Nordeste apresentaram o maior número de exames. A queda na realização de exames no ano de 2020 deveu-se à pandemia de Covid-19. Na região Nordeste em 2020 foram realizadas 921.630 citologias e em 2021 foram 1.460.808. Já no estado do Piauí foram realizadas 56.806 citologias em 2020, e 101.012 exames citopatológicos em 2021 (INCA, 2022).

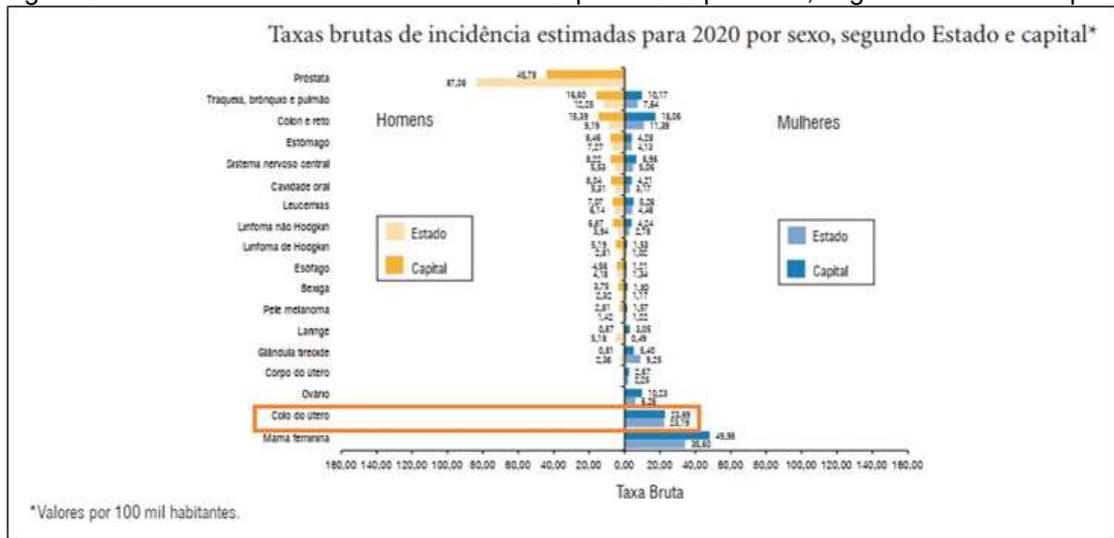
A oferta de exames preventivos para mulheres de 25 a 64 anos vem aumentando desde 2016. Essa faixa etária é a recomendada para o rastreamento, a cada três anos, conforme as atuais Diretrizes para a Detecção Precoce do Câncer do Colo do Útero no Brasil. Em 2015, 78,9% dos exames preventivos realizados no país foram

na população-alvo e, em 2020, esse percentual chegou a 81,8%. Na região Nordeste chegou a 81,74% e no estado do Piauí a 81,80%. As evidências científicas apontam que o rastreamento nessa faixa etária é capaz de reduzir a incidência e a mortalidade por câncer do colo do útero. Sendo assim, as ações de controle devem buscar a ampliação da cobertura na faixa etária alvo (INCA, 2016).

E nesse mesmo período de 2016 a 2021, observou-se um aumento progressivo da oferta proporcional de exames citopatológicos do colo do útero na faixa etária alvo em todas as unidades da federação. Entretanto, cerca de 20% dos exames ainda são realizados em desacordo com as diretrizes nacionais (INCA,2022).

No Piauí, houve uma taxa bruta de incidência estimada de 23,19 casos de câncer do colo do útero para cada 100 mil mulheres, com uma estimativa de 390 novos casos no Estado e 110 na capital Teresina para o ano de 2020 (INCA, 2020) (Figura 3).

Figura 3 –Taxas brutas de incidência estimadas para 2020 por sexo, segundo estado e capital.



Fonte: Adaptado INCA, 2020.

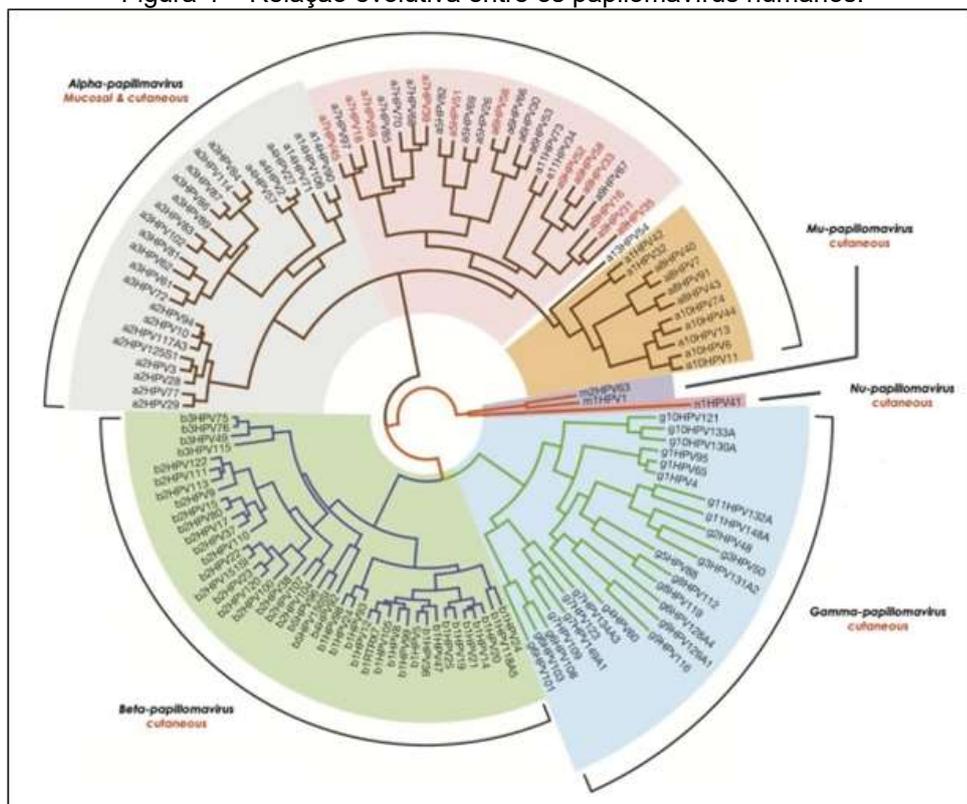
2.2 PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) E CLASSIFICAÇÃO VIRAL

Até o momento, a família Papillomaviridae contém 49 gêneros e mais de 300 tipos individuais de papilomavírus humanos e animais (PAVE, 2022). Mais de 200 tipos são HPVs, que estão organizados em cinco gêneros filogenéticos denominados alfa, beta, gama, mu e nu, mostrados na figura 6. Os tipos de papilomavírus encontrados em humanos são divididos em cinco gêneros filogenéticos denominados alfa, beta,

gama, mu e nu, com base na análise da sequência de DNA, com as diferentes características de ciclo de vida e associações de doenças.

O gênero Alphapapillomavirus compreende os tipos que estão envolvidos tanto em doenças benignas quanto malignas, orais ou genitais (BURK; HARARI; CHEN, 2013; SHEN-GUNTHER; REBELES, 2013). O gênero Betapapillomavirus está associado com epidermodisplasiaverruciforme benigna e maligna. Tais lesões cutâneas apresentam alta taxa de progressão para carcinoma de células escamosas (BAVINCK *et al.*, 2010; SHEN-GUNTHER *et al.*, 2011). O gênero Gammapapillomavirus está relacionado a lesões benignas e é frequentemente detectado em lesões cutâneas, no entanto, já foi detectado em mucosa nasal (CHEN *et al.*, 2009; SHEN-GUNTHER *et al.*, 2011; FORSLUND *et al.*, 2013). Os HPV associados ao gênero Mupapillomavirus estão envolvidos com lesões cutâneas esporádicas e os do gênero Nupapillomavirus, envolvidos tanto em lesões cutâneas benignas quanto malignas (DE VILLERS *et al.*, 2004).

Figura 4 – Relação evolutiva entre os papilomavírus humanos.



Fonte: Adaptado de DOORBAR *et al.*, 2012.

Nos últimos anos, ficou claro que muitos tipos de HPV, incluindo a maioria daqueles contidos nos gêneros Beta e Gamma, causam apenas infecções

assintomáticas em indivíduos imunocompetentes e podem ser detectados em swabs de pele e, para alguns tipos Gamma, também em mucosas (NINDL *et al.*, 2007; EKSTROM *et al.*, 2010).

Os HPVs com 90-98% de identidade de sequência L1 são denominados subtipos e aqueles com >98% de identidade de sequência L1 são considerados variantes (BERNARD *et al.*, 2010). Indiscutivelmente, os HPVs do gênero alfa são de maior importância médica, uma vez que estão associados a ancestrais orais e de mucosas, bem como a cânceres do trato anogenital (HARDEN *et al.*, 2017).

A caracterização de novos HPVs envolve o sequenciamento do genoma viral e a comparação com genomas de HPV conhecidos. Portanto, os HPVs são categorizados em genótipos. Cada genótipo difere de outro por pelo menos 10% de diferença de sequência na região do gene L1 altamente conservada (KOCJAN *et al.*, 2015).

Os diversos tipos virais são ainda classificados como tipos de alto e baixo risco de acordo com seu potencial oncogênico. Os tipos que pertencem ao grupo de baixo risco (6, 11, 40, 42,43, 44, 54, 61, 70, 72 e 81) ocorrem, frequentemente, em lesões benignas e lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau. Os tipos de HPV do grupo de alto risco (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 e 82) ou oncogênicos estão frequentemente associados a lesões intraepiteliais escamosas de alto grau e aos carcinomas (MUÑOZ *et al.*, 2003).

2.3 GENOMA VIRAL

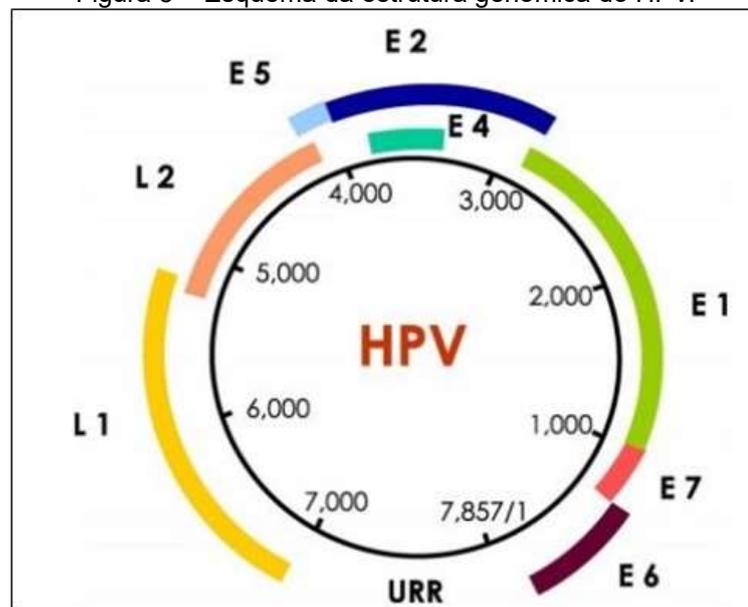
A família Papillomaviridae é um grupo de vírus pequenos, não envelopados, com genomas circulares de DNA de fita dupla que são principalmente de 7 a 8 kbp.

Todos os papilomavírus codificam quatro proteínas centrais conservadas: E1 e E2 são fatores de replicação e L1 e L2 são proteínas do capsídeo (BERGVALL; MELENDY; ARCHAMBAULT, 2013; MCBRIDE, 2013). Além disso, os HPVs oncogênicos codificam proteínas acessórias: E4, E5, E6 e E7. Essas proteínas modulam o ambiente celular para torná-lo mais propício para a replicação viral e são importantes para a evasão imune. O genoma pode ser dividido em três regiões: a região reguladora a montante (URR) que contém elementos cis que controlam a transcrição e a replicação; a região precoce codifica as proteínas E1, E2, E4, E5, E6

e E7; e a região tardia codifica as proteínas estruturais L1 e L2 (DOORBAR, 2005; MCBRIDE, 2017; VAN DOORSLAER, 2013)

A região L é formada pelos genes L1 e L2, que codificam as proteínas do capsídeo (Quadro 1). Somando-se a isso, o genoma é dotado de uma região reguladora LCR (LongControlRegion) ou URR, variando de 400 a 1000 pbs, localizadas entre as regiões L1 e E6. Nessa região, existem sequencias estimuladoras e repressoras da transcrição viral, além da origem de replicação. Um genoma do HPV típico é mostrado na Figura 5.

Figura 5 – Esquema da estrutura genômica do HPV.



Fonte: Adaptado de MUNÓZ *et al.*, 2006.

As ORFs E1, E2, L1 e L2 são particularmente bem conservadas entre todos os membros da família. A maioria dos elementos cis-responsivos estão na região de controle longo (LCR) entre L1 e E6, um segmento com pouca conservação de sequência. Os últimos 30 anos viram um desenvolvimento da taxonomia do papiloma vírus, inicialmente baseada em hibridizações cruzadas genômicas e padrões de restrição para um sistema baseado em algoritmos filogenéticos comparando sequências inteiras do genoma PV ou segmentos subgenômicos. Este progresso científico levou a um refinamento, mas nunca a contradições de taxonomias anteriores. Há também fortes evidências de que os genomas de PV são muito estáticos, e as mudanças de sequência por mutação ou recombinação são eventos muito raros. Mudanças mutacionais aparentemente ocorrem em frequências não muito diferentes daquelas dos genomas de DNA do organismo hospedeiro infectado.

Quadro 1 - Relação entre os genes de Papilomavírus Humano e suas requeridas funções.

Gene	Função
E1	Replicação do DNA viral atuando como sítio de abertura
E2	Controle da transcrição e replicação por reprimir a transcrição de E6 e E7 em cels com infecção latente
E4	Diminui a integridade do queratinócito rompendo o citoesqueleto de queratina;
E5, E6, E7	Estímulo da proliferação e transformação celular
L1	Codifica proteína principal do capsídeo
L2	Codifica proteína secundária do capsídeo

Fonte: Adaptada de INCA, 2020.

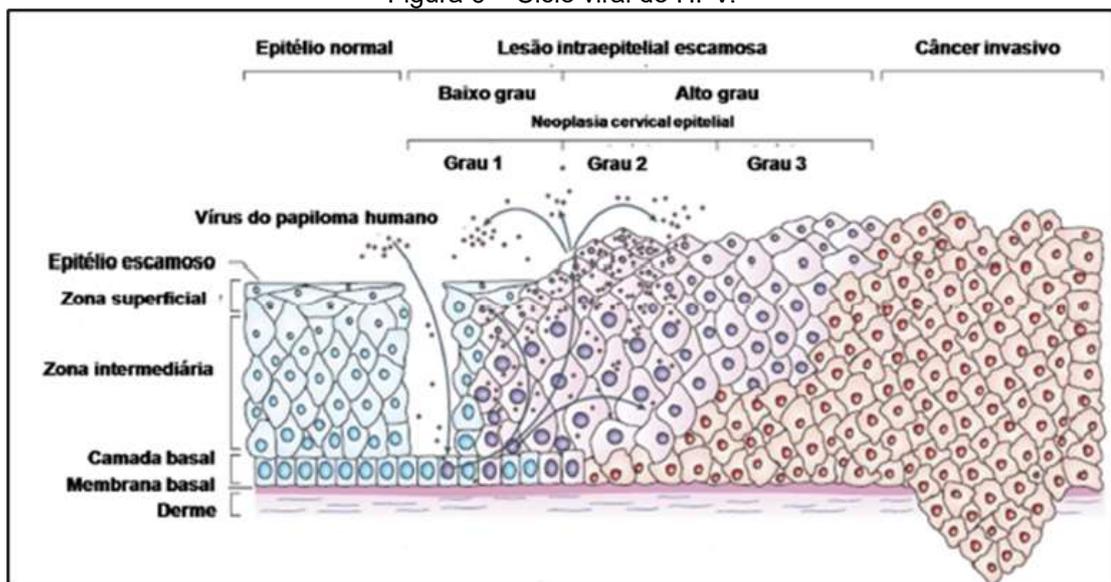
2.4 HPV E A TRANSFORMAÇÃO NEOPLÁSICA

Acredita-se que a infecção pelo HPV comece nas células basais ou parabasais do epitélio metaplásico. Se a infecção persiste, pode ocorrer a integração do genoma viral ao genoma celular do hospedeiro. A diferenciação e a maturação normal do epitélio escamoso metaplásico imaturo em maduro são interrompidas como resultado da expressão de oncoproteínas E6/E7 e da perda do controle de crescimento normal. Isto pode levar ao desenvolvimento de epitélio displásico anormal. Se o processo neoplásico segue ininterrupto, com o tempo as lesões precoces de baixo grau podem ocupar a espessura total do epitélio. Posteriormente, a doença pode atravessar a membrana basal e converter-se em neoplasia invasiva, estendendo-se aos órgãos adjacentes. A invasão atinge o sangue e vasos linfáticos e a doença se dissemina aos gânglios linfáticos e órgãos à distância.) (SELLORS; SANKARANARAYANAN, 2004).

A infecção inicial requer acesso de partículas infecciosas às células da camada basal, que para alguns tipos de HPV é pensado para exigir uma ruptura no epitélio estratificado. Tal quebras podem não ser facilmente aparentes e podem ocorrer sob condições em que a pele é exposta, ou está sujeito a outros ambientes onde micro traumas podem se desenvolver. Tem sido sugerido que, para que uma lesão seja mantida, o vírus deve infectar uma célula-tronco epitelial (EGAWA, 2003; SCHMITT *et al.*, 1996).

O ciclo viral é extremamente dependente da diferenciação dos queratinócitos. Para manutenção das células em ciclo, as proteínas virais E6 e E7 são expressas em taxas muito baixas, inibidas pela proteína viral E2. Quando, em situação adversa à sua história natural, há uma quebra do genoma viral nas regiões codificantes E1 e E2, ocorre desregulação e consequente superexpressão dos genes E6 e E7. Estes codificam proteínas que irão atuar degradando proteínas celulares responsáveis por levar a célula a apoptose e em genes supressores de tumor, induzindo as células infectadas a um estímulo excessivo de proliferação, o que resulta em instabilidade cromossômica, aneuploidia e modificações no DNA da célula infectada. Na sequência, o DNA viral integra-se ao DNA celular, iniciando a transformação neoplásica (ZUR HAUSEN; HARALD, 2002).

Figura 6 – Ciclo viral do HPV.



Fonte: Adaptado de WOODMAN, COLLINS e YOUNG (2007).

Após a infecção e descamação, pensa-se que o vírus mantém o seu genoma como um epissoma de baixo número de cópias nas células basais do epitélio. O padrão de expressão do gene viral nestas células não está bem definido, mas geralmente pensa-se que as proteínas virais E1 e E2 são expressas para manter o DNA viral como um epissoma e para facilitar a correta segregação dos genomas durante a divisão celular (WILSON *et al.*, 2002; YOU *et al.*, 2004)

A perda da capacidade de completar o ciclo é o que diferencia a infecção viral produtiva, presente nas lesões de baixo grau, de uma infecção viral transformante e tumoral, característica dos HPVs de alto risco. O desenvolvimento de neoplasia

intraepitelial de grau maior e de câncer cervical (CC) está associado com a perda da regulação deste ciclo reprodutivo do HPV (Figura 5) (DOORBAR, 2005).

A eliminação viral é feita entre 3 e 16 meses, variando de acordo com os genótipos considerados. O clearance dos HPVs de baixo risco é da ordem de 3 a 6 meses, enquanto os de alto risco é de 12 a 16 meses. Em certos casos, a infecção pode ficar latente e ser reativada em um período de imunossupressão. A infecção por HPV de alto risco resulta em progressão para CC apenas em uma pequena percentagem de mulheres, após um longo período de latência (GLORIA Y. F. HO *et al.*, 1998; ZUR HAUSEN; HARALD, 2002).

2.5 PROGRESSÃO DAS LESÕES CERVICAIS

Durante a progressão do tumor, os genomas virais geralmente se integram ao cromossomo do hospedeiro, o que resulta em um nível constante de proteínas E6 e E7 via estabilização do RNAm, pela influência de estruturas de cromatina modificadas ou pela perda de regulação negativa da transcrição mediada pela proteína viral E2 (BERNARD *et al.*, 2010).

A integração viral, situação necessária para a transformação maligna das células por torná-las imortalizadas, não acontece em todos os casos, e o genoma viral é mantido em sua forma episomal. No entanto, grande número de mulheres portadoras do HPV, mesmo dos tipos oncogênicos, não desenvolvem doença ou desenvolvem lesões que regredem ou se estabilizam em estágios pré-invasivos (GLORIA, 1998; ZUR HAUSEN, 2002).

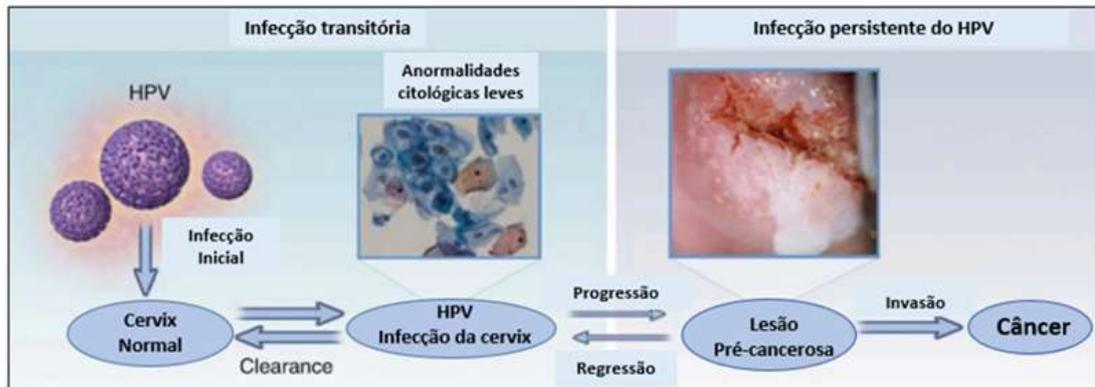
Embora a infecção por HPV de alto risco seja comum, com mais de 80% das mulheres sendo infectadas em algum estágio da vida, o câncer do colo do útero raramente surge como resultado da infecção. A maioria das infecções é eliminada como resultado de uma resposta imune mediada por células e não persiste por tempo suficiente para que ocorra a expressão gênica desregulada e o acúmulo de erros genéticos secundários. O HPV16 tem uma duração média de persistência maior do que a maioria dos outros tipos de alto risco, e isso pode contribuir para seu maior risco de câncer (KOSHIOL *et al.*, 2006; SCHIFFMAN *et al.*, 2007).

A maioria das pesquisas sobre HPVs tenha se concentrado nos tipos de alto risco do gênero Alpha, é evidente que os tipos de baixo risco podem muito ocasionalmente estar associados à progressão do câncer (GO *et al.*, 2003).

Estima-se que, se não tratados, cerca de 5% dos casos de NIC II e 12% a 31% de NIC III irão progredir para carcinoma invasivo (OSTÖR, 1993; MCCREDIE *et al.*, 2008).

A infecção cervical pelo HPV pode ser avaliada visualmente, microscopicamente (via citologia ou histologia) e por métodos de detecção molecular. Os passos básicos que levam do colo do útero normal ao câncer estão bem estabelecidos, na Figura 7. Em grande medida, provavelmente também são válidos para a história natural do HPV em lesões em outros sítios anogenitais; entretanto, a epidemiologia molecular da infecção pelo HPV nesses locais não é tão bem caracterizada quanto a do colo uterino (IARC, 2007).

Figura 7 – Passos que levam do colo do útero normal ao câncer.



Fonte: Adaptado de KREMER *et al.* (2018).

Os principais passos conhecidos como necessários para a carcinogênese cervical incluem infecção por HPV, persistência dessa infecção, progressão para lesões pré-cancerosas e eventualmente invasão. Desde que a última etapa não tenha ocorrido, esse processo é reversível pela eliminação da infecção pelo HPV e regressão do pré-câncer, o que ocorre em muitas mulheres que já experimentaram a infecção pelo HPV. Conforme discutido abaixo, a infecção pelo HPV pode ser separada em infecções de baixa carga viral que não geram anormalidades microscopicamente evidentes e infecções de alta carga viral que o fazem (IARC, 2007).

Embora a maioria das mulheres, em algum momento, tenha sido infectada pelo HPV, poucas progredirão para a doença invasiva. Portanto, há uma necessidade contínua de marcadores mais robustos de progressão da doença do que aqueles fornecidos pelo exame morfológico ou teste para a presença de tipos de HPV de alto

risco. A identificação de fatores virais e do hospedeiro que modulam o risco de progressão da doença em mulheres infectadas pelo HPV requer uma compreensão mais completa da história natural da infecção pelo HPV e sua relação com a aquisição de anormalidades epiteliais (WOODMAN; COLLINS; YOUNG, 2007).

2.6 DIAGNÓSTICO DO CÂNCER CERVICAL

A detecção precoce do câncer constitui-se de duas estratégias. A primeira refere-se ao rastreamento, que tem por objetivo encontrar o câncer pré-clínico ou as lesões pré-cancerígenas, por meio de exames de rotina em uma população-alvo sem sinais e sintomas sugestivos do câncer rastreado. A segunda corresponde ao diagnóstico precoce, que busca identificar o câncer em estágio inicial em pessoas que apresentam sinais e sintomas suspeitos da doença (WHO, 2020).

Na presença de um esfregaço citológico anormal, um diagnóstico tecidual é essencial antes de prosseguir com o tratamento definitivo. A indicação mais comum para a investigação colposcópica do colo do útero são esfregaços citológicos anormais, seguidos por suspeita clínica biópsia de lesões cervicais. A colposcopia é mais do que um simples elo intermediário entre a triagem citológica e o diagnóstico histológico (BOICEA *et al.*, 2012).

A detecção de lesões pré-cancerosas é feita com a ajuda de testes de triagem – os mais importantes incluem o exame de Papanicolaou (Pap), colposcopia e histologia. (BOICEA *et al.*, 2012).

A inspeção visual, colposcopia, citologia e histologia, não detectam a presença de fato do HPV, mas são métodos indiretos que detectam as sequelas clínicas de uma infecção pelo HPV, ou seja, a presença de uma infecção diagnosticada clínica e/ou histologicamente Lesão ou câncer (NIC). Conseqüentemente, as estimativas de sensibilidade e especificidade abordam as características do desempenho do teste clínico e não o analítico. A citologia e a histologia restringem-se a uma correlação com a presença de HPV (IARC, 2007).

Mesmo com a alta mortalidade e morbidade do câncer cervical, as lesões pré-cancerosas podem ser facilmente diagnosticadas através do tripé do diagnóstico: citologia preventiva (Papanicolau), colposcopia e histopatológico (BOICEA *et al.*, 2012).

O câncer do colo do útero é caracterizado por uma fase pré-maligna bem definida que pode ser suspeitada no exame citológico das células cervicais esfoliadas e confirmada no exame histológico do material cervical. Essas alterações pré-malignas representam um espectro de anormalidades histológicas que variam de NIC1 (displasia leve) a NIC2 (displasia moderada) a NIC3 (displasia grave/carcinoma in situ) (WOODMAN *et al.*, 2007).

Apesar da exposição freqüente das mulheres ao HPV, o surgimento da neoplasia cervical é pouco comum. A maioria das anomalias cervicais causadas pela infecção do HPV tem pouca probabilidade de progredir a NIC ou neoplasia do colo uterino de alto grau, visto que a maioria regride espontaneamente. A longa duração entre a infecção inicial e a doença manifesta indica que vários cofatores (por exemplo, diferenças genéticas, efeitos hormonais, deficiências de micronutrientes, tabagismo ou inflamação crônica) podem ser necessários para a progressão da doença. A regressão espontânea da NIC também pode indicar que muitas mulheres não estão expostas a esses cofatores (SELLORS; SANKARANARAYANAN, 2004).

A neoplasia intraepitelial refere-se as lesões encontradas no tecido epitelial escamoso estratificado do colo uterino. São causadas principalmente pela infecção pelo HPV, além de possuírem um forte contexto imunológico. Outras características são cofatores para a sua ocorrência, como a idade, comportamentos sexuais (início precoce, multiplicidade de parceiros etc.), baixo nível socioeconômico, tabagismo (mais evidente para câncer no epitélio escamoso do que no colunar), uso de contraceptivos, paridade (não muito claro) e a falta de exame de rastreamento (estima-se que metade das mulheres diagnosticadas jamais tenham realizado exame de rastreamento) (SELLORS; SANKARANARAYANAN, 2004).

O câncer cervical ou carcinoma cervical invasivo, decorre da manutenção e posterior progressão das lesões pré-neoplásicas, isto é, quando estas lesões adquirem a capacidade invasiva. Estas lesões podem ser classificadas em dois tipos histológicos, o carcinoma de células escamosas e os adenocarcinomas, sendo o primeiro mais comum (75% dos casos). Estes dois subtipos tornam o câncer cervical o tumor ginecológico mais comum e, diferentemente dos outros, ocorre em uma faixa de idade mais jovem (HOFFMAN *et al.*, 2014).

Os métodos de diagnóstico das lesões induzidas pelos HPV têm como base a identificação de alterações citomorfológicas associadas à replicação viral, como a presença dos coilócitos em células escamosas, portanto um grande halo perinuclear

claro com bordas espessas e núcleo atípico, considerado efeito citopático do HPV, através do exame de triagem denominado exame de Papanicolaou ou citológico (citologia oncológica). Este exame reconhece de forma indireta a presença do vírus, mas não é suficiente para diagnosticar ou mesmogenotipar, se faz necessário exames moleculares (GONZALEZ *et al.*, 2017).

2.6.1 Citologia oncológica

Dentre os testes morfológicos, a citologia é o método de rastreamento mais utilizado para rastrear câncer cervical e suas lesões pré-cancerosas, NICs, permitindo assim o seu tratamento. Entretanto, a citologia não é o teste mais indicado para detectar a infecção pelo HPV, embora existisse uma forte correlação entre as anomalias nas células e a detecção do HPV (CAVALCANTI; CARESTIATO, 2006).

O exame citológico é o procedimento padrão de rastreamento do câncer de colo uterino e apresenta especificidade em torno de 98%. Expandido pelo médico grego George Nicolas Papanicolaou, o método, que também é conhecido pelo seu nome, tornou-se essencial para identificação inicial das lesões pré-neoplásicas em todo o mundo, levando a uma ampla redução da incidência e mortalidade (60% e 70% respectivamente) do câncer cervical na população feminina global (HOFFMAN *et al.*, 2014).

Sendo um exame de rastreamento, ele é útil apenas para direcionar a próxima etapa na avaliação da paciente, não sendo definitivo para o diagnóstico. Dessa maneira, pode-se apenas suspeitar o estágio de NIC que se encontra a lesão, sendo o diagnóstico final somente estabelecido a partir do exame histopatológico (SELLORS;SANKARANARAYANAN, 2004).

O exame Papanicolaou apresenta sensibilidade relativamente alta, que é compensada pela periodicidade do exame. Embora a aderência desse procedimento seja de fundamental importância para a diminuição das taxas de incidência e mortalidade, estima-se que entre 30% e 40% dos diagnósticos do câncer cervical sejam em mulheres adequadamente rastreadas. Tal fato decorre, dentre outros motivos, de erros de amostragem e de interpretação do analista. Sendo assim, métodos diagnósticos adicionais vêm sendo aderidos aos programas de rastreamento com intuito de aumentar a eficiência de identificação e porcentagem de cura (HOFFMAN *et al.*, 2014).

Existem dois tipos de citologia cervical, a convencional ou exame de Papanicolaou (CC) e a citologia em meio líquido (LBC). Consistem na avaliação microscópica de material coletado de células oriundas da zona de transformação cervical após preparo com coloração. Diferem tanto na forma de conservação e transporte, quanto no processo de confecção de lâminas (KITUNCHAROEN; TANTBIROJN; NIRUTHISARD, 2016). A LBC tem a vantagem de poder contar com 100% do material coletado no líquido fixador, possibilitando a realização de exames complementares com a possibilidade de guarda de material. Permite ainda uma leitura com menos artefatos, proporcionando menor taxa de falso-negativos ou de esfregaços insatisfatórios (STABILE *et al.*, 2012; KITUNCHAROEN *et al.*, 2016).

A classificação dos resultados dos exames citológicos utiliza a nomenclatura do Sistema Bethesda (2018), um conjunto de nomenclaturas envolvendo a avaliação da citologia baseada nas características celulares com o objetivo de facilitar a conclusão do laudo citológico e assim diminuir as variações interobservador (SILVA NETO, 2020).

Nesse sistema, as lesões intra-epiteliais escamosas encontram-se divididas em lesões intra-epiteliais escamosas de baixo grau (LSIL) e de alto grau (HSIL). As LSIL são alterações que histologicamente se restringem ao terço inferior do epitélio e abrangem o efeito citopático do HPV (coilocitose), correspondente as antigas denominações de displasia leve e neoplasia intraepitelial cervical (NIC I). As HSIL são alterações que na histologia comprometem ao (terço médio e superior) do epitélio, correspondendo às displasias (moderada e avançada), as neoplasias intra-epiteliais cervicais II e III (NIC II e III) e o carcinoma in situ, além da nomenclatura relativa às lesões glandulares que inclui adenocarcinoma in situ e invasor.

Ainda segundo os critérios de Bethesda, a designação de células escamosas atípicas (ASC) é utilizada todas as vezes que são encontradas células escamosas com alterações da relação núcleo/citoplasma, sendo os núcleos hipercromáticos, irregulares, podendo apresentar multinucleação. Utilizando-se essa designação subentende-se que o processo é indefinido, podendo estar incluídas alterações não somente relacionadas ao papilomavirus humano (HPV), como também outras inflamações, dessecação, degeneração ou outros artefatos. As células escamosas atípicas (ASC), podem ser subdivididas entre aquelas de significado indeterminado (ASC-US) e aquelas em que não é possível excluir uma lesão de alto grau (ASC-H). As células escamosas de significado indeterminado (ASC-US) são aquelas que

apresentam aumento da relação núcleo/citoplasma, com um volume nuclear 2 a 3 vezes maior que do que o núcleo de uma célula escamosa intermediária normal, núcleos discretamente hipercromáticos, com cromatina distribuída de forma um pouco irregular e o citoplasma densamente orangeofílico. As células escamosas atípicas em que não é possível excluir lesão de alto grau (ASC-H) são alterações nas quais as células alteradas têm o tamanho de células metaplasias, aparecendo de forma isolada ou em pequenos fragmentos com menos de dez células. Essas células apresentam núcleos hipercromáticos, irregulares, com alteração da forma, 1 a 2 vezes maiores do que o núcleo de uma célula normal (SOLOMON;NAYAR, 2018).

Do ponto de vista laboratorial e clínico, os testes citológicos apresentam alta especificidade (98%), mas apresentam sensibilidade limitada (51%), baixa reprodutibilidade e são trabalhosos. Além disso, os resultados são subjetivos, podendo sofrer variações quanto a interpretação das lâminas pelo técnico (Nanda *et al.*, 2000). Já a citologia de base líquida ou em meio líquido fixador tem um custo mais elevado, porém apresenta a vantagem de ter maior representatividade das células coletadas transferidas para a lâmina diminuindo os resultados inconclusivos e maior sensibilidade para detectar lesões de alto grau (SYRJÄNEN, 2005).

2.6.2 Colposcopia

O colposcópio tem uma lente que amplia de 4 a 40 vezes o epitélio, no qual se aplica uma solução de ácido acético entre 3% a 5%, e onde houver anormalidades histológicas o epitélio torna-se esbranquiçado (acetobranco) devido a precipitação de proteínas. A vascularização também pode ser observada com o auxílio de uma luz com filtro verde. Durante o exame amostras das regiões suspeitas podem ser coletadas e biopsiadas. É um exame de extremo valor para a detecção das lesões causadas pelos HPV, entretanto, outras situações como, por exemplo, inflamações intensas, mosaicismo, também expressam um epitélio branco. Logo, existe um risco de se tratar uma lesão que não é a pretendida (CAVALCANTI;CARESTIATO, 2006). Sendo geralmente recomendado para mulheres que tem um resultado anormal do exame de Papanicolau ou para aquelas que durante o exame ginecológico foi notada alguma alteração. Há indicação também quando se faz necessária à coleta de biópsia dirigida do colo do útero ou quando há uma suspeita de HPV. Esse procedimento é necessário porque tem como objetivo detectar carcinoma do colo ainda em fase *in situ*

ou microinvasiva, podendo ser efetuado tratamento adequado com chances elevadas de cura (SANKARANARAYANAN, 2003).

Há várias indicações para este exame, entre as quais a mais freqüente é um resultado positivo no exame de triagem. A razão mais comum para encaminhar as mulheres para a colposcopia é a citologia cervical anormal, em geral um achado da triagem citológica. As anomalias de alto grau, referidas na citologia como neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC 2 e NIC 3), podem estar associadas com um carcinoma cervical invasivo de células escamosas ou adenocarcinoma subjacente. É importante que todas as mulheres com anomalias de alto grau sejam enviadas de imediato para a colposcopia diagnóstica. Contudo, há uma variação considerável na conduta de mulheres com anomalias de baixo grau, como a neoplasia intraepitelial cervical de baixo grau (NIC 1) (SELLORS;SANKARANARAYANAN,2004).

Os critérios para encaminhamento para colposcopia em alguns centros, por exemplo em países em desenvolvimento onde há serviços de colposcopia, permitem fazer o exame de imediato nas mulheres com anomalias de baixo grau, enquanto em outras regiões, por exemplo em países desenvolvidos, as mulheres devem retornar de 6 em 6 meses para repetir o exame citológico por até dois anos e apenas aquelas com anomalias persistentes ou progressivas são encaminhadas a colposcopia. Deve-se destacar que mulheres com lesões de baixo grau (NIC 1) na citologia têm uma maior probabilidade de apresentar uma lesão de alto grau que seria encontrada na colposcopia; talvez 15% para aquelas com atipia e 20% para as mulheres com NIC 1 na citologia podem ter lesões de maior grau (SHAFI *et al.*, 1997). Em países em desenvolvimento, é aconselhável que mulheres com NIC de qualquer grau na citologia sejam encaminhadas para colposcopia, dada a possibilidade de erros de classificação no exame de citologia e dificuldade de fazer o seguimento (SELLORS; SANKARANARAYANAN,2004).

Além da procura por lesões pré-neoplásicas, a colposcopia também é útil para monitorar as pacientes com histórico atual ou prévio de neoplasia no TGI e orientar a biópsia de lesões (por meio da utilização das soluções de ácido acético a 5% e lugol). Sua realização permite a visualização ampliada dos tecidos do trato genital inferior por cerca de 6 a 40 vezes com o objetivo de buscar e identificar atipias situadas na vulva, vagina ou colo uterino, principalmente a porção constituída pela ectocérvice. A porção endocervical também pode ser vista, mas somente por meio do uso de um espéculo endocervical (SELLORS; SANKARANARAYANAN,2004).

Apesar da grande importância da realização da colposcopia e dos benefícios que invariavelmente traz as pacientes, a sensibilidade do exame é em torno de 70% para detecção de neoplasia de alto grau. Por conta disso, o analista deve procurar realizá-lo do modo mais satisfatório possível, o que inclui a visualização adequada de toda JEC e dos limites superiores das lesões encontradas, pois a gravidade da doença tende a localizar-se no limite superior da zona de transição. A inspeção apropriada de toda lesão é chave para garantia de um diagnóstico fidedigno ao final de todas as etapas de avaliação da paciente, o que aumenta a sensibilidade no exame. A criação de novas metodologias de investigação mais eficazes, no entanto, se faz necessária, como a promissora técnica de hiperespectroscopia multimodal (HOFFMAN *et al.*, 2014).

2.6.3 Histopatologia

O exame histológico é a ferramenta útil para diagnosticar a presença e, principalmente, determinar o estágio da neoplasia da lesão identificada e pré-analisada pela colposcopia e/ou citologia. Neste exame são avaliados o grau de diferenciação, maturação, estratificação e anomalias celulares (SELLORS; SANKARANARAYANAN, 2004).

Os fragmentos teciduais obtidos pelo colposcopista são analisados no exame histopatológico, ou biópsia, o qual é considerado o padrão ouro para o diagnóstico do câncer cervical (WU *et al.*, 2005).

Protocolos de classificação com nomenclaturas foram desenvolvidas para os achados citológicos e histopatológicos cervicais anormais (Quadro 1). A primeira nomenclatura foi desenvolvida em 1941, pelo próprio Papanicolaou, graduando em classes de I a V as células normais e as alterações citológicas. Em 1953, Reagan (REAGAN; SEIDEMANN; SARACUSA, 1953) baseou-se na proporção do acometimento da espessura do epitélio para classificá-los em displasias leve, moderada, acentuada e carcinoma in situ como lesões precursoras do carcinoma invasor. Em 1967, Richart (1973) substituiu o termo displasia por Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC), numerando-as de 1 a 3, acrescentando à última os carcinomas in situ, devido suas semelhanças (INCA, 2020; SILVA AGUIAR *et al.*, 2010).

Em 1967, Ralph Richart propôs a terminologia Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC) dividida, histologicamente, em graus I, II e III, considerando um fenômeno único, contínuo e progressivo, caracterizadas por diversos graus de atipias celulares que compreende parte ou toda a espessura do epitélio cervical. NIC I, NIC II e NIC III correspondem, respectivamente, a displasia leve, moderada e displasia severa/carcinoma *in situ* (RICHART,1967). Richart após considerar o papilomavírus humano (HPV) como agente causal do câncer escamoso cervical, sugeriu que as lesões precursoras passassem para duas classificações: NIC de baixo grau com alterações relacionadas ao HPV e as lesões que têm as características morfológicas de precursoras de câncer como NIC de alto grau(RICHART, 1990).

Quadro 2 – Histórico das Nomenclaturas citopatológicas e histopatológicas utilizadas para o diagnóstico das lesões cervicais e suas equivalências.

Classificação citológica de Papanicolaou (1941)	Classificação histológica da OMS (1952)	Classificação histológica de Richart (1967)	Sistema Bethesda (2001)	Classificação Citológica Brasileira (2006)
Classe I	-	-	-	-
Classe II	-	-	Alterações benignas	Alterações benignas
-	-	-	Atipias de significado indeterminado	Atipias de significado indeterminado
Classe III	Displasia leve	NIC I	LSIL	LSIL
	Displasia moderada e acentuada	NIC II e NICIII	HSIL	HSIL
Classe IV	Carcinoma <i>in situ</i>	NIC III	HSIL Adenocarcinoma <i>in situ</i> (AIS)	HSIL AIS
Classe V	Carcinoma invasor	Carcinoma invasor	Carcinoma invasor	Carcinoma invasor

Fonte: INCA (2016).

A Nomenclatura Brasileira para Laudos de Citopatologia (NBLC) foi baseada no Sistema de Bethesda e incorporada pelos laboratórios que prestam serviços ao Programa Nacional de Controle do Câncer do Colo de Útero e Mama – Viva Mulher, a partir de 1998(INCA, 2006). Com a atualização do TBS em 2001(SOLOMON;NAYAR,2001; WRIGHT *et al.*, 2003) e considerando a necessidade de incorporar as novas tecnologias e conhecimentos clínicos, morfológicos e moleculares, o INCA e a Sociedade Brasileira de Citopatologia promoveram diversas

discussões com patologistas e ginecologistas a respeito da nova nomenclatura brasileira, implantada em 2003(INCA, 2006).

2.6.4 Técnicas moleculares de identificação do HPV

A detecção direta de genomas de HPV e seus transcritos pode ser alcançada com procedimentos de hibridização que incluem Southern e Northern blots, dotblots, hibridização in situ, captura híbrida e sequenciamento de DNA. Uma variedade de procedimentos de detecção de sinal está disponível, o que pode aumentar ainda mais a sensibilidade desses ensaios. O DNA viral e o RNA também podem ser detectados por uma série de ensaios baseados em PCR. Nesse caso, os genomas virais são amplificados seletivamente por uma série de etapas de polimerização, que resultam em um aumento exponencial e reproduzível das sequências de nucleotídeos do HPV presentes no espécime biológico. Atualmente, as duas metodologias mais utilizadas para a detecção de tipos genitais de HPV são a captura híbrida versão e a PCR com primers genéricos.

Esses ensaios têm sensibilidades e especificidades equivalentes e ambos são adequados para testes de alto rendimento e processamento e leitura automatizados, etapas necessárias para seu uso em grandes estudos epidemiológicos e em ambientes clínicos (VERNON *et al.*, 2000).

O único procedimento potencialmente capaz de reconhecer todos os tipos e variantes de HPV presentes em um espécime biológico é o sequenciamento de DNA amplificado, obtido por PCR com primers consenso, seja após clonagem em plasmídeos ou por sequenciamento direto do fragmento de PCR (VERNON *et al.*, 2000).

Para a detecção do HPV por PCR em estudos clínicos e epidemiológicos o sistema que emprega os primers MY09/MY11 é um dos mais utilizados. Ele é uma mistura de 24 oligonucleotídeos que amplifica parte do fragmento do gene L1, que é muito eficaz para identificar um amplo espectro de genótipos de HPV; 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, IS39, CP8304(62), CP6108(91), MM4(82), MM7(83) e MM8(84) (IFTNER & VILLA, 2003).

A sensibilidade e especificidade dos vários métodos disponíveis variam muito, mas melhoraram consideravelmente na última década, devido à melhor qualidade e

estabilidade dos reagentes e à acessibilidade a equipamentos que já foram considerados sofisticados. Elementos importantes a serem considerados são o procedimento de coleta, armazenamento da amostra e preparação da amostra. Em geral, os testes que não usam etapa de amplificação primária, como a captura híbrida, são menos afetados pela maioria dessas variáveis, enquanto os procedimentos baseados em PCR toleram menos as impurezas devido à sua natureza enzimática. Portanto, é desejável usar dispositivos de amostragem que permitam a coleta de uma grande amostra de células e meios de armazenamento/transporte que não apenas preservem a morfologia celular, mas também estabilizem o DNA e o RNA (GRAVITT *et al.*, 2000).

No Sequenciamento é realizado um PCR utilizando primers tendo como alvo alguma região do genoma do HPV, em seguida é realizada uma reação de sequenciamento e a corrida no equipamento para saber as sequências de bases. Posteriormente estas sequências do DNA, são analisadas por homologia com um banco de dados que contém todas as sequências dos diferentes genótipos do HPV, um deles é o NCBI/BLAST, um dos mais conhecidos e pode ser acessado gratuitamente (ALTSCHUP *et al.*, 1990).

No entanto, a técnica de sequenciamento para identificação do vírus apresenta algumas limitações, como por exemplo quando amostras clínicas contêm dois ou mais genótipos muitas vezes acabam não conseguindo ser identificadas por causa da sobreposição das sequências do DNA ou em um outro caso, quando ocorre a infecção de dois ou mais genótipos e apenas o que tiver maior prevalência na amostra pode ser identificado, com isso subestimando a prevalência de infecções com múltiplos genótipos em estudos epidemiológicos e de acompanhamento (CAPRA *et al.*, 2008; KLETER *et al.*, 1999; MOLIJN *et al.*, 2005).

Para contornar esta dificuldade pode ser necessário o uso dos sequenciadores de nova geração como o Next Generation Sequencing - NGS, que permitem identificar múltiplas infecções e outros agentes patogênicos na amostra biológica que acabam não sendo reconhecidos pelos testes convencionais (PRACHAYANGPRECHA *et al.*, 2014).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar histopatologicamente e genotipicamente as lesões intra-epiteliais cervicais HPV-positivas em mulheres no estado do Piauí.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar o perfil genotípico dos HPV presentes em mulheres portadoras de lesões cervicais intra-epiteliais e/ou invasivas;
- Avaliar a associação entre infecção conjunta versus grau da lesão cervical;
- Avaliar os cofatores envolvidos com a infecção por HPV;
- Determinar a frequência dos genótipos de HPV de alto e baixo risco oncogênico presente em NIC 1, NIC 2, NIC 3 e no câncer de colo uterino;
- Determinar a frequência de coinfeções por HPV em mulheres do Estado do Piauí;

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 TIPO DE ESTUDO

O estudo foi realizado através do método observacional, analítico transversal.

4.2 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA

O presente trabalho foi apresentado sob o CAAE nº: 17068913.6.3002.5584 ao Comitê de Ética em Pesquisa/Centro de Ciências da Saúde/Universidade Federal de Pernambuco (CEP/CCS/UFPE) e também ao Comitê de Ética em Pesquisa da Associação Piauiense de Combate ao Câncer, obedecendo integralmente os princípios éticos estabelecidos na resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (CNS).

Os pacientes e familiares que, após informação, concordaram em participar da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

As informações foram utilizadas única e exclusivamente para a execução do presente projeto e a identidade das participantes foi mantida em sigilo absoluto.

4.3 LOCAL DE ESTUDO

As amostras foram coletadas no setor no Setor de Ginecologia, Colposcopia e Patologia do Hospital São Marcos em Teresina, Piauí. Os exames citológicos e histopatológicos foram realizados no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital São Marcos e as análises biomoleculares foram realizadas em parceria com o Laboratório de Estudos Moleculares e Terapia Experimental (LEMTE), na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

4.4 POPULAÇÃO ALVO E PERÍODO

Foram avaliadas as fichas de diagnósticos histopatológicos de biopsias do colo uterino obtidas por colposcopia ou por conização, no banco de dados do Sistema de Informação do Controle de Câncer de Colo Uterino – Ministério da Saúde (SISCOLO) entre 2015 e 2016, onde foram selecionados 128 casos positivos com diagnósticos de

lesões intraepiteliais escamosas ou invasivas e 4 casos negativos para lesão, de pacientes apresentando apenas cervicite, sendo resgatados do arquivo no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital São Marcos, em Teresina, Piauí, Brasil. Foram excluídos os casos para os quais não foi possível localizar os blocos.

O total de 128 casos resgatados foram divididos, conforme diagnóstico histopatológico: NIC I/HPV, NIC II, NIC III, Carcinoma invasor, Adenocarcinoma e Cervicite. Foram coletados dos prontuários das pacientes, informações como idade, cidade de origem, grau de instrução, número de gestações, período da realização do exame e resultado da citologia e do histopatológico.

4.5 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Pacientes com resultado de exame citológico apresentando lesões intraepiteliais e invasivas;
- Pacientes que aceitem participar do projeto e assinarem o TCLE;
- Pacientes que aceitem realizar o teste de HIV e apresentarem resultado negativo.

4.6 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Pacientes portadoras do vírus da Imunodeficiência Adquirida (HIV);
- Pacientes imunossuprimidas por outros fatores não relacionados ao HIV (doenças autoimunes e transplantadas);
- Pacientes vacinadas para HPV (6, 11, 16, 18).

4.7 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DO DNA

Para a desparafinização e extração do DNA dos cortes parafinados, foi utilizado o kit QIAmp DNA FFPE tissue (Qiagen) seguindo as recomendações do fabricante. Inicialmente, a parafina foi removida através da utilização do xilol e incubação em banho maria por 30 min a 65 oC. Em seguida, foram feitas lavagens com álcool 100% e 70%. Após a extração, o DNA foi ressuspendido em 20 µl de tampão de eluição fornecido pelo kit de extração. Para a extração do DNA dos tumores frescos, foi

utilizado o kit DNeasyblood&tissue, seguindo as recomendações do fabricante. Após a extração, o DNA foi eluído em 150 µl de tampão de eluição fornecido pelo kit.

Todas as amostras de DNA extraídas foram quantificadas em espectrofotômetro (nanodrop LITE - Thermo Scientific) utilizando alíquota de 1 µl. Após a quantificação, foram preparadas alíquotas de uso na concentração de 50 ng/µl.

4.8 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO DNA EXTRAÍDO

A qualidade do DNA extraído foi avaliada através da amplificação pela técnica de PCR (polymerasechainreaction – reação em cadeia da polimerase) com oligonucleotídeos (iniciadores) específicos para o gene de β-globina humana, cuja sequência é 5'-ACACAACCTGTGTTCACTA-3' e 5'GGTGAACGTGGATGAAGTTG-3' (BALDEZ *et al.*, 2009). Para a reação de PCR foram utilizados: 50 ng de DNA genômico, 20 pmol de cada oligonucleotídeo, 0,1 mM de cada dNTP, tampão 1x (50 mM KCl, 10 mM Tris HCl e 0,1% Triton X-100), 1 mM MgCl₂ e 1 unidade de Taq polymerase. A reação de amplificação foi realizada em termociclador Biocycler MG96+ nas seguintes condições: 1 ciclo de 95°C por 5 minutos para a desnaturação inicial do material genômico, 35 ciclos de 95°C por 30 segundos, 66,5°C por 40 segundos, 72°C por 45 segundos para amplificação do segmento gênico de interesse e 1 ciclo de 72°C por 10 minutos para a extensão final do fragmento. O produto da PCR foi submetido à eletroforese e visualizado em gel de agarose 2% corado com brometo de etídeo.

4.9 PURIFICAÇÃO DO DNA

Utilizando o EasyPure® PCR Purification Kit, em um tubo de microcentrífuga de 1,5 ml, adicione 5 volumes de BB a 1 volume de produto de PCR. Misture brevemente com a amostra em vórtex. Transferiu toda a mistura para uma Coluna do kit com o tubo coletor (para aumentar o rendimento de DNA purificado, incubar por 1 minuto). Centrifugue a 10.000 × g por 1 minuto. Descarte o filtrado. Adicionou 650 µl de WB à coluna. Centrifugar a 10.000 × g por 1 minuto. Descartando o filtrado. Centrifugue a coluna vazia com a tampa aberta a 10.000 × g por 2 minutos para remover qualquer WB residual. Coloque a coluna de centrifugação em um tubo de microcentrífuga limpo, adicione 30-50 µl de EB ou água destilada estéril (pH > 7,0)

diretamente no centro da matriz da coluna (para aumentar o rendimento, EB pré-aquecido ou água pode ser usado). Incubar a coluna em temperatura ambiente por 1 minuto. Centrifugue a $10.000 \times g$ por 1 minuto para eluir o DNA. O DNA isolado está pronto para uso ou pode ser armazenado a -20°C .

4.10 OBTENÇÃO DA AMOSTRA E EXTRAÇÃO DOS ÁCIDOS NUCLEÍCICOS

A obtenção de amostras para extração de DNA das lesões foi realizada por microtomia através de blocos parafinados. Foram cortadas cinco fatias de 10 micras cada e acondicionada em tubos eppendorf de 2 ml com 1,5 ml de xilol. Para iniciar o processamento o material foi submetido a agitação em vortex e incubado a 37°C por 10 min. Depois centrifugado a 9.500 rpm por 5 min à temperatura ambiente (repetindo essas etapas mais uma vez). Descartado o xilol e adicionado 1,5 ml de EtOH a 100%, agitado rapidamente no vortex e incubado a 37°C por 10 min. Sendo centrifugado a 9.500 rpm por 5 min à temperatura ambiente (repetindo essas etapas mais uma vez). O pellet formado foi secado à temperatura ambiente para a evaporação por completo do EtOH. A extração de DNA foi realizada conforme instruções do fabricante (kit QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue –Qiagen).

4.11 DETECÇÃO DO DNA VIRAL

Para a detecção do DNA do HPV, foi utilizada a PCR com o conjunto de primers consenso e degenerado MY09/11. Os primers MY09/11 foram utilizados no presente estudo, pois amplificam uma sequência parcial de 450pb altamente conservada do gene L1 de 4734 Papilomavírus (GRAVITT *et al.*, 2000). As condições de amplificação da sequência do gene L1 com os primers MY09/11 (Tabela 1) foram as seguintes: 25µl de volume final, 2 µl DNA, 1,5 µl cada oligonucleotídeo, 1X (12,5 µl) solução Master Mix (Promega) e 7,5 µl de H₂O. A amplificação ocorreu em 35 ciclos com 95°C durante 1 minuto para a desnaturação, 55°C durante 30 segundos para o anelamento, 72°C durante 1 minuto para a extensão e um ciclo com 72°C durante 5 minutos para a extensão final. Após a amplificação, o produto da PCR foi analisado em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo. Após a detecção com o MY09/11, foi realizado uma Nested PCR com o produto de MY09/11, nas mesmas condições de amplificação da sequência do gene L1 com os primers GP05/06 (Tabela 1).

Todas as amostras de DNA extraídas foram quantificadas em espectrofotômetro (nanodrop LITE - Thermo Scientific) utilizando alíquota de 1µl. Após a quantificação, foram preparadas alíquotas de uso na concentração de 50 ng/µl.

Tabela 1 – Primers MY 09/11 e GP06/06.

PRIMER	SEQUÊNCIA DOS OLIGONUCLEOTÍDEOS (5'-3')	TAMANHO (BP)	
		OLIGO	FRAGMENTO
MY09	CGTCCMARRGGAWACTGATC	20	
MY11	GCMCAGGGWCATAAYAATGG	20	445
GP05	TTTGTTACTGIGGTAGATAC	20	
GP06	GAAAAATAAACTGTAAATCA	20	170

Fonte: O autor (2022).

4.12 GENOTIPAGEM

Os produtos purificados após amplificação foram sequenciados bidireccionalmente utilizando-se o kit BigDye Terminator v3.1 CycleSequencing (Applied Biosystems, USA), de acordo com as instruções do fabricante. Os iniciadores utilizados para o sequenciamento foram os mesmos empregados na amplificação (ITS1 e ITS4). A reação de sequenciamento foi realizada em uma placa de 96 poços, cada um contendo um produto de PCR purificado, o mix de reação e apenas um dos iniciadores. O volume final em cada poço da placa foi de 10 µL no qual continha 20–40 ng de DNA (2 µL de DNA), 0,5 µL de pré-mix BigDye, 1,75 µL de tampão de sequenciamento, 4,75 µL de água ultrapura e 1 µL de iniciador a 5 pmol/µL. Posteriormente, a placa preparada foi ciclada num termociclador Veriti (Applied Biosystems, USA), em 40 ciclos de 15 segundos a 96°C, 15 segundos a 50°C e 4 minutos a 60°C.

Após a ciclagem, os produtos da reação de sequenciamento foram precipitados a fim de eliminar o excesso de iniciadores, sais, dNTPs e dNTPs não incorporados.

A cada poço da placa foram adicionados 1,0 µL de EDTA 125 mM e 1,0 µL de acetato de sódio 3 M. Em seguida, 25 µL de etanol absoluto foram adicionados a cada poço da placa de sequenciamento, sendo esta vedada, homogeneizada e incubada por 15 minutos ao abrigo da luz em temperatura ambiente. Após a incubação, a placa foi centrifugada por 40 minutos a 3700 rpm e 20°C. Nesta etapa ocorreu a precipitação das moléculas de DNA. Após a centrifugação, o etanol foi descartado e os pellets lavados com 35 µL de etanol 70% e a placa novamente homogeneizada e centrifugada

por 15 minutos a 3700 rpm e 4°C. O etanol foi outra vez descartado por inversão e o excesso retirado por evaporação a 95°C.

Após a precipitação, as amostras foram ressuspensas em 10 µL de formamida HiDi (Applied Biosystems, USA). A placa foi vedada com uma septa específica para separação eletroforética em capilar. O sequenciamento foi realizado por separação eletroforética em capilar em um sequenciador modelo ABI 3500 GeneticAnalyzer (Applied Biosystems).

Os dados do sequenciamento foram coletados com o software Data Collection (Applied Biosystems). Após a coleta, os dados passaram por uma inspeção de qualidade por meio do SequencingAnalysis Software (Applied Biosystems).

A edição e análise manual das sequências foram realizadas no Staden Package 4.1.4 (Gene Codes Corporation, EUA). A sequência gerada por cada um dos iniciadores utilizados no sequenciamento de um dado fragmento de DNA foi analisada, a princípio separadamente e, em seguida, agrupada com as demais sequências do mesmo fragmento, a fim de gerar o contig ou sequência consenso. A partir de então, as sequências foram investigadas quanto à sua composição de bases.

Após edição completa dos contigs, estes foram submetidos ao BLAST na base de dados do GenBank através da página web do NCBI a fim de investigar a correspondência na identificação das espécies.

4.13 MÉTODOS ESTATÍSTICOS

Os dados foram analisados descritivamente por meio de frequências absolutas e percentuais. Para avaliar associação entre duas variáveis categóricas foi utilizado o teste Qui-quadrado de Pearson, o teste Exato de Fisher quando a condição para utilização do teste Qui-quadrado não foi verificada e o teste da Razão de Verossimilhança quando não foi possível se obter os resultados do teste Exato de Fisher devido a extrapolação da capacidade computacional. O nível de significância utilizado na decisão dos testes estatísticos foi de 5%.

Os dados foram digitados na planilha EXCEL e o programa utilizado para obtenção dos cálculos estatísticos foi o IMB SPSS na versão 25.

5 RESULTADOS

5.1 ARTIGO 1 – CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL HISTOPATOLÓGICO DAS LESÕES INTRA-EPITELIAIS ESCAMOSAS OU INVASIVAS EM MULHERES ATENDIDAS NO HOSPITAL SÃO MARCOS EM TERESINA-PIAUI.

Introdução

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que até 2030 surjam 27 milhões de novos casos de câncer. No Brasil, o câncer configura-se como problema de saúde pública, uma vez que as neoplasias ganham destaque crescente, apresentando-se em segundo lugar em morbimortalidade no país (FRIPP, 2014).

O câncer do colo do útero é um dos mais frequentes tumores na população feminina e é causado pela infecção persistente por alguns tipos do papilomavírus humano (HPV). A infecção genital por esse vírus é muito frequente e não causa doença na maioria das vezes. Entretanto, em alguns casos, ocorrem alterações celulares que podem evoluir para o câncer. Essas alterações são descobertas facilmente no exame preventivo (conhecido também como Papanicolaou) e são curáveis na quase totalidade dos casos (INCA, 2019).

A estimativa mundial aponta que o câncer do colo do útero foi o quarto mais frequente em todo o mundo, com uma estimativa de 570 mil casos novos, representando 3,2% de todos os cânceres. Esse valor corresponde a um risco estimado de 15,1/100 mil mulheres. Sendo que as taxas de incidência mais elevadas foram estimadas para os países do Continente Africano (Essuatíni ou Suazilândia – 51,2/100 mil e África do Sul – 43,9/100 mil) (BRAY *et al.*, 2018; FERLAY *et al.*, 2018).

O número de casos novos de câncer do colo do útero esperados para o Brasil, para cada ano do triênio 2020-2022, será de 16.590, com um risco estimado de 15,43 casos a cada 100 mil mulheres. (INCA, 2020). Sem considerar os tumores de pele não melanoma, o câncer do colo do útero é o segundo mais incidente nas Regiões Norte (21,20/100 mil), Nordeste (17,62/100 mil).

No Estado do Piauí, por exemplo, houve uma taxa bruta de incidência estimada de 23,19 casos de câncer do colo do útero para cada 100 mil mulheres, com uma taxa esperada de 390 novos casos no estado e 100 na capital Teresina, para o triênio 2020-2022 (INCA, 2020).

Outros fatores que aumentam o risco de desenvolver esse tipo de câncer são: início precoce da atividade sexual e múltiplos parceiros; tabagismo (a doença está diretamente relacionada à quantidade de cigarros fumados); e uso prolongado de pílulas anticoncepcionais (INCA, 2019). Apesar dos dados epidemiológicos terem demonstrado uma diminuição das taxas de novos casos de câncer cervical nas últimas três décadas, a incidência do câncer de colo do útero permanece elevada (WHO, 2014).

O desenvolvimento do câncer de colo uterino está diretamente relacionado à infecção persistente pelo HPV (BOSCH FX *et al.*, 2008). Estimativas mundiais indicam que aproximadamente 20% de indivíduos normais estão infectados pelo HPV, e a cada ano surgem em torno de 500.000 casos novos de câncer de colo uterino, dos quais cerca de 70% ocorrem em países subdesenvolvidos. Além disso, acredita-se que nessas regiões ocorram de 10 a 20 vezes mais lesões precursoras deste tipo tumoral, o que significa um número elevado de indivíduos acometidos por essa doença (TERMINI L, *et al.*, 2008).

A incidência, no Brasil, evidencia-se a partir dos 20 aos 29 anos, e o maior risco encontra-se na faixa etária de 45 a 49 anos. Entretanto, a mortalidade resulta mais significativa à medida que aumenta a idade em virtude do prolongado período que compreende a transmissão sexual do HPV, o adoecimento e a morte por câncer do colo do útero (INCA, 2020). Traçando perfis de morbimortalidade evitáveis e que conjecturam a iniquidade em saúde. O câncer do colo do útero afeta as mulheres de menor nível socioeconômico e com dificuldades de acesso aos serviços de saúde (INCA, 2020).

De todas as neoplasias malignas associadas ao HPV, o câncer cervical é, sem dúvida a mais importante, causando morbidade e mortalidade significativas em todo o mundo (SUNG *et al.*, 2021).

Vários estudos investigaram a contribuição dos genótipos de HPV entre os casos de câncer cervical na população brasileira, onde relataram que o HPV16 e 18 como o HPV mais frequente. Tipos, seguido por HPV 31, enquanto os HPV16, HPV31, HPV33 e HPV58 são os genótipos de HPV mais comuns encontrados em amostras cervicais do Nordeste do Brasil. (GURGEL,2013). Dados epidemiológicos mostraram que HPV16 e HPV18 são responsáveis por 70% dos casos de invasivo de câncer cervical em todo o mundo (SANJOSE,2010).

As lesões intra-epiteliais escamosas do colo do útero são comprovadamente precursoras do câncer cervical. Vários exames são utilizados na avaliação e diagnósticos dessas lesões. Dentre eles, destacam-se a citologia, colposcopia e o histopatológico (SARIAN *et al.*, 2010). Para classificar as lesões pré-cancerosas, atualmente, pode-se utilizar uma associação entre o Sistema Bethesda, 2014 e a classificação de Richard 1967, que relaciona lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau (LSIL) com neoplasia intra-epitelial cervical (NIC I) e infecção por HPV, e lesão intra-epitelial escamosa de alto grau (HSIL) com NIC II e NIC III (SOLOMON, 2015).

Existem vários fatores de risco que podem contribuir para a ocorrência do câncer de colo de útero. Dentre eles, os mais relevantes são: o início precoce da atividade sexual, multiplicidade de parceiros sexuais, paridade, tabagismo, higiene íntima inadequada, imunossupressão, infecções sexualmente transmissíveis, deficiências nutricionais e o uso prolongado de contraceptivos orais (INCA, 2016). Porém, o principal precursor do câncer cervical consiste na infecção pelo HPV (INCA, 2016; STIVAL *et al.*, 2005).

Os infectados pelo HPV e a maioria desses com infecções assintomáticas e transitórias, tornando-se completamente indetectável dentro do período de um a dois anos, mas a infecção persistente pelo vírus favorece o desenvolvimento de lesões pré-cancerosas e, posteriormente, da neoplasia (ANDRADE *et al.*, 2014).

O Ministério da saúde preconiza que toda mulher entre 25 e 64 anos de idade ou que já iniciou sua vida sexual, deve se submeter ao exame preventivo, com periodicidade anual, inicialmente. Após dois exames consecutivos com resultados negativos para displasia ou neoplasia do colo do útero, este adquire periodicidade trianual. Após resultado negativo, o risco cumulativo de desenvolver a referida patologia é bastante reduzido, mantendo tal redução nos cinco anos subsequentes (INCA, 2020).

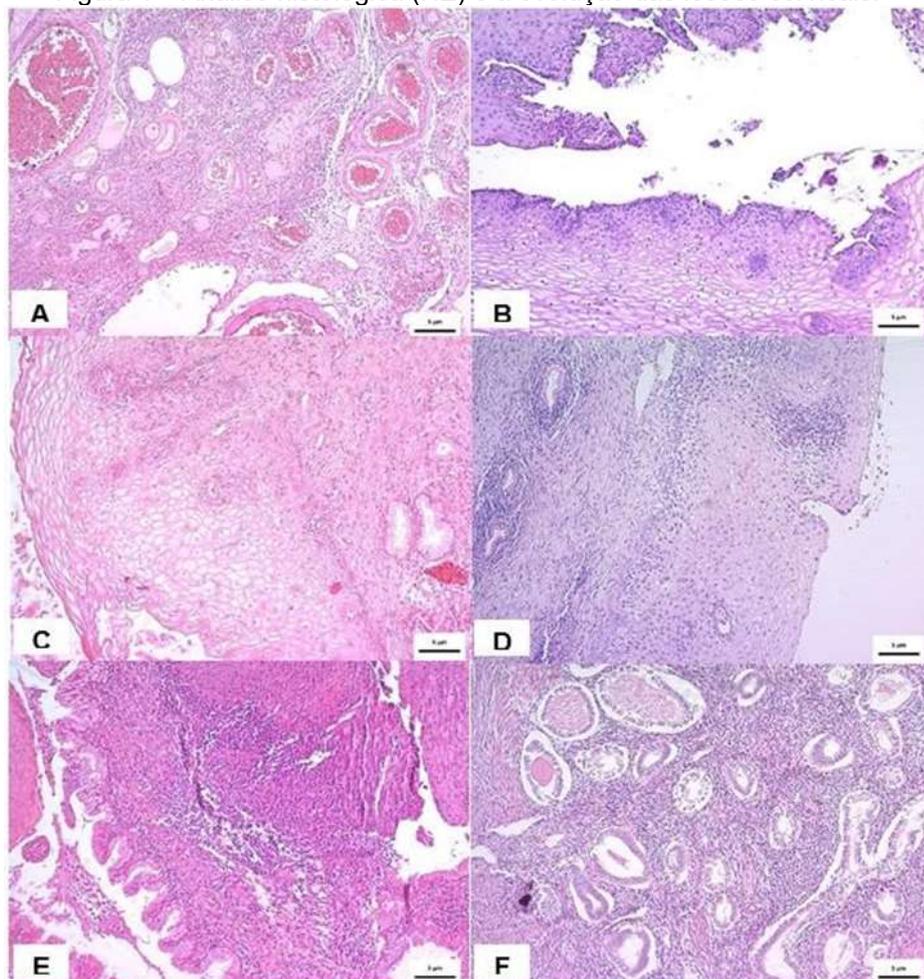
O diagnóstico oncológico utiliza diversos parâmetros, entre eles, a avaliação clínica e a histopatológica. Na avaliação clínica, as evidências surgem por meio de exame físico, exames de imagem, endoscopia, dosagem sorológica de marcadores tumorais e outros exames relevantes e primordiais, como a análise histopatológica, também conhecida como anatomopatológico (ANDRADE, 2018).

A análise histopatológica é considerada o padrão-ouro para o diagnóstico confirmatório de tumor maligno, a avaliação de prognóstico e o direcionamento terapêutico para muitos tumores (QUEIROZ *et al.*, 2015). Esse diagnóstico consiste

em uma avaliação macro e microscópica da peça cirúrgica e/ou biópsia. A análise macroscópica é a avaliação da peça anatômica, como cor, tamanho e aparência da região, enquanto a microscópica utiliza escores estabelecidos para averiguar os diversos aspectos anatomopatológicos anormais, avaliar a origem histológica do tumor, podendo classificá-lo como tumor epitelial, mesenquimal e/ou embrionário, além de possibilitar a realização da avaliação de expressão de proteínas teciduais por meio da imuno-histoquímica (SILVA, 2013).

O histopatológico consiste no diagnóstico definitivo para as lesões cervicais. A lesão inicial é biopsiada, dirigida pela colposcopia, que muitas vezes também serve como terapêutica. Mesmo o exame histopatológico sendo considerado padrão-ouro, há possibilidade de resultados falso-negativos se a lesão for biopsiada em local menos representativo (PESSINI; SILVEIRA, 2004). Nas imagens abaixo (Figura 1), podemos visualizar a análise histológica (HE) e a evolução das lesões cervicais nas pacientes desse estudo.

Figura 1 – Análise histológica (HE) e a evolução das lesões cervicais.



Fonte: O autor (2022).
 (A) Cervicite. (B) NIC I. (C) NIC II. (D) NIC III. (E)
 Carcinoma in situ. (F) Adenocarcinoma

Métodos

Trata-se de um estudo descritivo e retrospectivo transversal, com amostras provenientes das pacientes do Setor de Ginecologia e Patologia do Hospital São Marcos em Teresina – Piauí.

Este projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pernambuco (UFPE) e do Hospital São Marcos (CAAE: 17068913.6.3002.5584).

Todas as pacientes envolvidas foram devidamente esclarecidas sobre os objetivos da pesquisa e somente foram incluídas depois que concordaram em participar e assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (resolução 466/12).

Retrospectivamente foram avaliados 206 laudos histopatológicos emitidos em 2015 e 2016 pelo hospital, onde foram selecionados 96 casos positivos do banco de dados do Sistema de Informação do Controle de Câncer de Colo Uterino – Ministério da Saúde (SISCOLO).

Foram coletados do SISCOLO informações como idade das pacientes, período da realização do exame e resultado histopatológico da biópsia, e foram coletadas 49 amostras de pacientes submetidas à colposcopia com biópsia direta de útero e de coletas no setor de Ginecologia entre dezembro de 2016 e janeiro de 2017. Onde o material biopsiado foi fixado em formol a 10% e processado para estudo histológico de rotina. Dos blocos de parafina foram realizados cortes histológicos com 5 um de espessura, os quais foram corados pela hematoxilina-eosina e examinados na rotina do Serviço de Biópsias do Departamento de Patologia do Hospital São Marcos. Posteriormente, foram examinadas por um médico patologista, com padronização do laudo e levando-se em consideração: a amostragem (somente ectocérvice, somente endocérvice ou zona de transformação); presença de infiltrado inflamatório na lâmina própria e sua avaliação semiquantitativa; presença de neoplasias intra-epiteliais ou invasoras; presença do efeito citopático do HPV (células paraceratóticas, escamas anucleadas, coilocitose, atipia nuclear e anisocitose) e presença de outros agentes específicos. Utilizando a nomenclatura da Organização Mundial de Saúde (OMS). Essa nomenclatura classifica as alterações histopatológicas cervicais em neoplasias

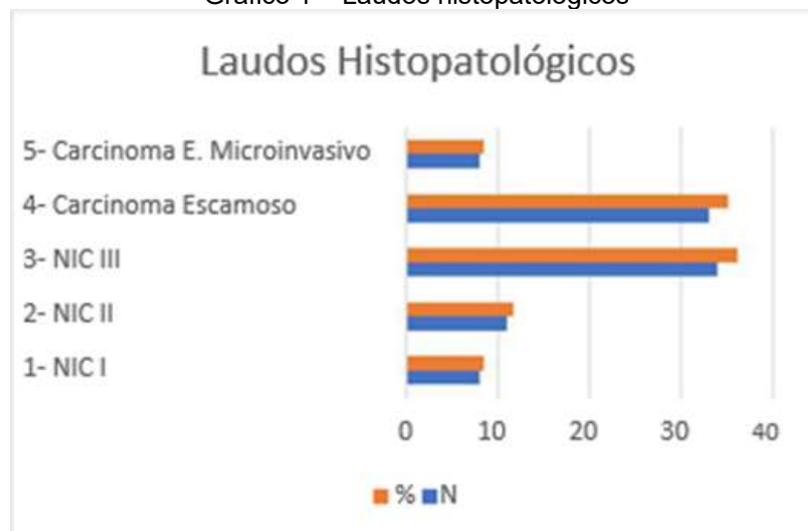
intraepiteliais cervicais (NIC) nos graus leve (NIC I), moderado (NIC II), acentuado (NIC III) e carcinoma invasor (SCULLY, *et al.*, 1994). Os dados das pacientes foram coletados através de um questionário sócio-econômico padronizado, e analisado juntamente com os laudos histopatológicos das mesmas.

Para as análises estatísticas, utilizou-se o programa Prisma Versão 5.0 e para a análise da associação entre as variáveis e o diagnóstico histopatológico foram calculados os OddsRatio com intervalo de confiança de 95% no teste de Fisher e T. As variáveis estudadas foram: origem da paciente, idade, laudo histopatológico, número de parceiros sexuais, menarca, coitarca, etilismo uso de contraceptivo hormonal. Os diagnósticos foram divididos em três grupos: HPV / NIC 1, NIC 2 / NIC 3, câncer invasor/adenocarcinoma e cervicite. O grupo HPV / NIC 1 foi usado como referência para a análise.

Resultados

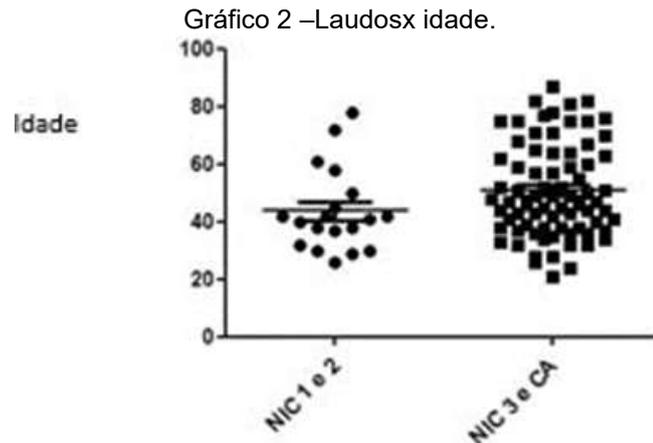
Retrospectivamente foram avaliados 206 laudos histopatológicos emitidos em 2015 e 2016 pelo setor de Patologia do hospital São Marcos, e destes foram selecionados 96 blocos histopatológicos dos casos positivos. No gráfico 1 estão estratificados esses casos de acordo com o resultado de seus laudos em: NIC I 8 casos (8,51%), NIC II 11 casos (11,70%), NIC III 34 casos (36,17%), Carcinoma invasor/Adenocarcinoma 33 casos (35,11%) e Carcinoma Microinvasor 8 casos (8,51%).

Gráfico 1 – Laudos histopatológicos



Fonte: O autor (2022).

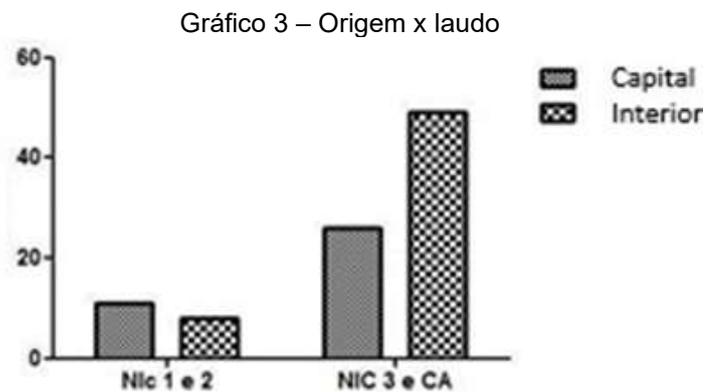
As maiores porcentagens nas prevalências entre as pacientes com laudos positivos ficaram entre 31 a 40 anos (24,47%), 41 a 50 (27,66%) e acima de 60 anos (25,53%). O gráfico 2 demonstra a correlação entre os laudos histopatológicos e a idade das pacientes.



Fonte: O autor (2022).

A média de idade das pacientes pertencentes a este estudo foi de 49 anos, variando de 21 a 85 anos. Sendo estes, 57 (60,64%) vindas do interior do estado e 37 (39,33%) da capital Teresina.

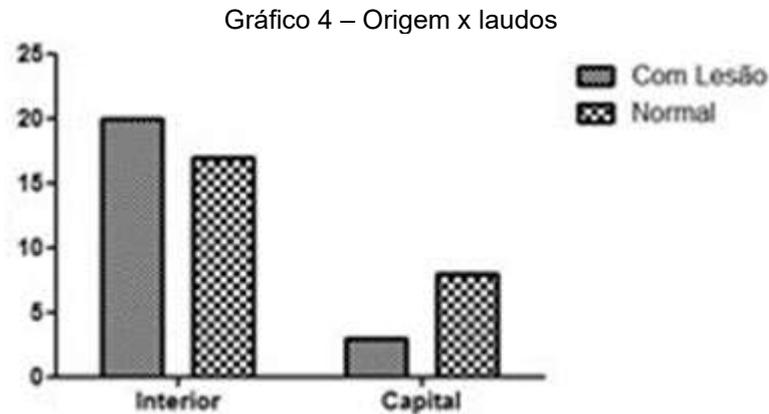
O gráfico 3 demonstra a correlação entre os laudos histopatológicos e a origem das pacientes.



Fonte: O autor (2022).

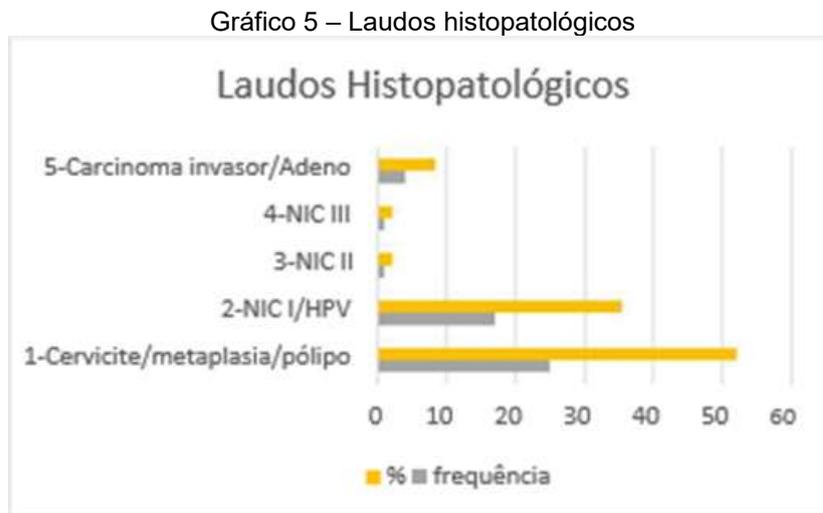
Nessa parte do estudo, onde foram coletadas 49 amostras de pacientes submetidas à colposcopia com biópsia direta de útero e depois a um questionário socioeconômico, na qual a média de idade entre elas foi de 40 anos, variando entre

21 e 85 anos. Sendo estas, 37 (77,1%) oriundas do interior do estado e 11 (22,9%) da capital Teresina. No gráfico 4 mostra a associação da origem das pacientes x resultado dos laudos histopatológicos.



Fonte: O autor (2022).

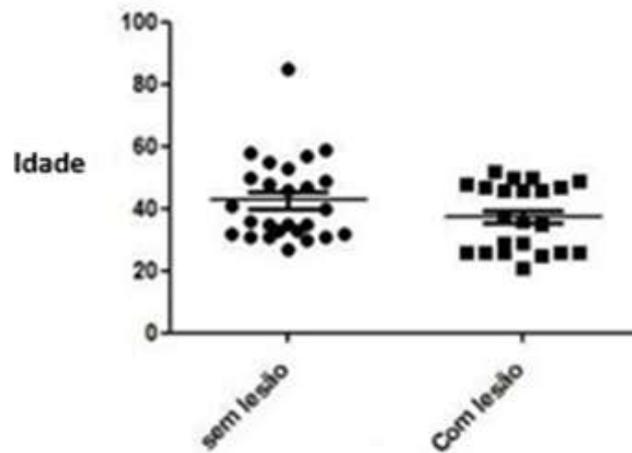
No gráfico 5 estão estratificados esses casos de acordo com o resultado de seus laudos em: Cervicite 25 casos (52,08%), NIC I/HPV 17 casos (35,42%), NIC II 1 caso (2,08%), NIC III 1 caso (2,08%), Carcinoma invasor/Adenocarcinoma 8 casos (8,34%).



Fonte: O autor (2022).

As maiores porcentagens nas prevalências entre as pacientes com cervicite e laudos positivos ficaram entre 21 a 30 anos (22,4%), 31 a 40 (32,7%) e de 41 a 50 anos (30,6%). O gráfico 6 demonstra a correlação entre os laudos histopatológicos x idade das pacientes.

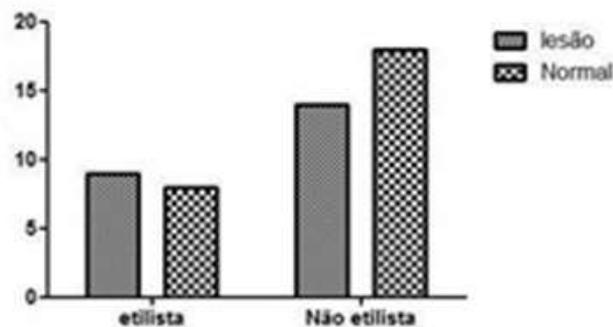
Gráfico 6 – Laudos x idade



Fonte: O autor (2022).

Em relação ao etilismo entre as pacientes, 34,7% faziam o uso regular de bebida e 65,3 % não faziam uso de qualquer tipo de bebida. O gráfico 7 demonstra a correlação entre o etilismo x laudos histopatológicos.

Gráfico 7 – Etilismo x laudos



Fonte: O autor (2022).

A mediana das pacientes no estudo para a menarca foi de 13 anos (11-23) e para a coitarca de 17 anos (13-30).

Quanto ao número de parceiros sexuais, os dados se distribuem assim: com um único parceiro temos 13 com lesões e 14 normais e com mais de um parceiro, temos 10 com lesões e 12 normais. O gráfico 9 faz a associação entre o número de parceiros sexuais x os laudos histopatológicos.

Discussão

Dados sobre incidência do câncer cervical são importantes para definir prioridades de programas estratégicos de prevenção e tratamento, subsidiar gestores em saúde no direcionamento de investimento e alocação de recursos, e definir metas e avaliar resultados. Este estudo buscou traçar o perfil histopatológico das lesões intra-epiteliais escamosas e invasivas em mulheres atendidas no Hospital São Marcos em Teresina-Piauí. Um aspecto facilitador encontrado pela pesquisa foi a centralização dos tratamentos oncológicos e dos diagnósticos ser no próprio hospital.

Na parte retrospectiva do estudo aponta para o fato de que, neste período dos 96 laudos histopatológicos selecionados e analisados, 75 destas apresentava positividade para NIC III (36,17%), e Carcinoma invasivo/Adenocarcinoma/microinvasor(43,62%), ou seja, lesões mais avançadas. Concordando com estes dados, Zhou *et al.*, também identificaram o carcinoma escamoso como o mais frequente na população estudada (86%), seguido do adenocarcinoma (10,6%) e carcinoma adenoescamoso (3,4%). Estes autores também demonstraram que grande parte das mulheres com adenocarcinoma e carcinoma adenoescamoso possuíam grau histológico bem diferenciado, enquanto os tumores com diagnóstico de carcinoma escamoso possuíam grau de diferenciação moderado e indiferenciado, revelando, através de análises univariadas e multivariadas, que o grau histológico pode interferir no prognóstico de mulheres com carcinoma escamoso.

A maior incidência de câncer de colo do útero acomete mulheres com idades entre 40 e 50 anos, sendo menos frequentes antes dos 30 anos, o que se deve ao longo período da infecção viral pelo HPV no início das atividades sexuais até o aparecimento do câncer (INCA, 2016). Essa situação também é encontrada neste estudo, em que 71,28% das pacientes acima dos 50 anos foram afetadas por lesões invasoras.

Mulheres com câncer cervical apresentam, em sua grande maioria, segundo dados epidemiológicos da literatura, idade entre 40 e 50 anos, marcando o fim da vida reprodutiva, cor não branca, baixo grau de escolaridade e ocupação do lar, evidenciando que a alta prevalência da doença está associada às condições de vida da população, acesso aos serviços públicos de saúde e qualidade da assistência à saúde da mulher. (RANGEL *et al.*, 2015)

No presente estudo, observou-se uma média de idade para o diagnóstico de 50,65 anos. Resultado similar foi encontrado por um estudo realizado em São Paulo,

por Thuleret *al.*, que avaliando as características sociodemográficas de mulheres com câncer de colo do útero no Brasil, evidenciou uma média de idade de 49,2 anos.

Thuleret *al.*, analisando os fatores determinantes do diagnóstico em estágio avançado em mulheres com câncer de colo do útero no Brasil, evidenciou uma média de idade de $52,4 \pm 14,1$ e estabeleceu uma relação de que mulheres com idade entre 30 e 39 anos teriam 10% maior chance de desenvolver doença avançada, aumentando gradativamente até 2 vezes para a faixa etária de 60 anos ou mais, concluindo, portanto, que a idade é um dos principais preditores de doença moderada e avançada.

Enquanto a infecção pelo HPV diminui com a idade, a incidência de câncer aumenta, sugerindo a persistência da infecção pelo HPV produza lesões de alto grau (FREITAS *et al.*, 2006).

Fazendo uma correlação entre os laudos histopatológicos versus a idade das pacientes, através do Test T, obteve-se um p-valor de 0,07, um valor quase que significativo e o Teste Fisher para os laudos histopatológicos versus procedência das pacientes, com uma Odds de 2,59, que apresenta uma tendência maior ao risco de desenvolver tumores avançados em mulheres mais velhas, justamente pelo tempo de desenvolvimento.

Nas 49 amostras coletadas, teve como suas maiores proporções dos resultados dos laudos histopatológicos, 35,42% de casos com NIC I/HPV e 52,8% das suas amostras apenas com cervicite. Sendo estas com média de idade igual a 42 anos para as pacientes normais e de 37 anos para as pacientes com lesão. Outro fato interessante, é que mais de 50% dessas pacientes foram diagnosticadas com HPV em seus laudos histopatológicos, somente com a análise histológica. Fato interessante, pois só podemos sugerir a presença do vírus pelo seu efeito citopático (coilocitose) e somente confirmar que há infecção por ele, através de diagnóstico molecular para detectar sua presença.

A maioria das pacientes continua sendo oriundas do interior do estado (77,1%) e na correlação de procedência versus laudos histopatológicos, tanto pacientes normais e com lesões também, em sua maioria, vem do interior. O Test T das idades versus laudos histopatológicos, mostrou um p-valor de 0,08, valor este semelhante a outra parte do estudo (p-valor 0,07).

Na associação dos dados de etilismo versus laudos histopatológicos obteve-se um p-valor 0,5 apesar de 65,3% dessas pacientes não fazer o uso de qualquer tipo de

bebida alcoólica, estas apresentaram maior proporção de positividade para lesões nos laudos histopatológicos, o que vai contra o que está na literatura. Pois o consumo de álcool, tanto moderado como em excesso, tem sido associado a vários tipos de câncer (MU,2016).

Os dados mostraram que as pacientes tiveram mediana para coitarca de 17 anos (13-30), e na associação entre a coitarca versus laudos histopatológicos, o resultado foi significativo em relação a literatura, com um P valor de 0,05, mostrando que quanto mais cedo inicia a vida sexual, maiores as chances de surgimento de lesões cervicais. Embora a maior porcentagem estava presente nas pacientes com apenas cervicite nos laudos.

Quanto ao número de parceiros sexuais, as maiores proporções ficaram nas pacientes que possuía apenas um parceiro sexual, tanto nas com laudos histopatológicos normais e com lesão.

É estabelecido que um rastreio organizado de base populacional e tratamento das lesões precursoras detectadas pode diminuir a mortalidade da doença em 80%. Pois o câncer cervical progride relativamente lento, e leva anos ou mesmo décadas de um incidente de infecção por HPV infecção para desenvolver um câncer invasivo (LORENZI *et al.*,2015).

O câncer do colo uterino é uma das neoplasias com maior chance de cura quando diagnosticado precocemente. É extremamente importante que o rastreamento ocorra com ampla cobertura e de forma regular para que sua efetividade e os efeitos sobre a população possam ser detectados (EDDY,1990). Nesse sentido, torna se possível reduzir a incidência dos casos invasores e, especialmente nas mais idosas, obter uma menor proporção de casos com estágio localmente avançado. Estudo de perfis cito e histopatológico, bem como infectivos determinando o tipo de HPV podem ser muito úteis na deliberação metodológica aplicada em programas de rastreio.

Conclusão

Nesta pesquisa, observou-se o perfil clínico e epidemiológico de pacientes assistidas no setor de ginecologia do Hospital São Marcos, em Teresina-PI, que permitiu estabelecer semelhanças com estudos realizados em outras regiões do país.

Os resultados encontrados evidenciam a necessidade de investimentos na detecção precoce e na adoção de medidas educativas no sentido de promover ações

que conscientizem a população quanto à importância do cuidado com a saúde. Consta-se, que a falta de instrução das pacientes está associada diretamente ao nível socioeconômico, fator de risco para o câncer de colo do útero. A desinformação leva essas mulheres a não dar a devida importância do exame preventivo, resultando em diminuição nas taxas de cobertura dos programas de rastreio e tratamento.

O rastreio de lesões intraepiteliais leva a tratamento específico evitando o surgimento ao câncer.

A promoção e a prevenção em saúde podem ser mais bem efetivadas se a população, principalmente as advindas do interior do estado, onde foram encontrados números altos de carcinoma cervical, se encontrar devidamente informada e com capacidade de compreensão sobre os riscos e os métodos de prevenção acerca do câncer de colo do útero.

Referências

- 1- Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2014: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2014.
- 2- MINISTERIO DA SAUDE (BR). Sistema de informações sobre mortalidade. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2013.
- 3- BALKAWIL F, Montavani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet*. 2001;357(9255):539-45.
- 4- TERMINI L, Villa LL. Biomarcadores na triagem do câncer de colo uterino. *J bras Doenças Sex Transm*. 2008; 20(2): 125-131.
- 5- BOSCH FX, Burchell AN, Schiffman M, Giuliano AR, de Sanjose S, Bruni L, *et al*. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and type-specific implications in cervical neoplasia. *Vaccine*. 2008; 26(10):1-16.
- 6- COUSSENS LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. 2002;420(6917):860-7.
- 7- MEDZHITOV R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*. 2008; 454(7203): 428-35.
- 8- BUFFON, A.; CIVA, M.; MATOS, V. F. Avaliação de lesões intra-epiteliais escamosas e microbiologia em exames citológicos realizados em um laboratório. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, Porto Alegre, RS. ed.2, v.38, p. 83-86. 2006

- 9- SARIAN, L.O., DERCHAIN, S.F.M.; BASTOS, J.F.B. Método Diagnósticos para Rastreamento do Câncer do Col. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, Brasil. v.32, p.363-414, 2010.
- 10- STIVAL C.O. *et al.* Avaliação Comparativa da Citopatologia Positiva, Colposcopia e Histopatologia: Destacando a Citopatologia como Método de Rastreamento do Câncer do Colo do Útero. O Papilomavírus Humano (HPV): Revista brasileira de Análises Clínicas, v. 37 n.4, p.215-218, 2005.
- 11- ANDRADE MS, Almeida MMG, Araújo TM, Santos KOB. Fatores associados a não adesão ao papanicolau entre mulheres atendidas pela Estratégia Saúde da Família em Feira de Santana, Bahia, 2010. Epidemiol Serv Saúde. 2014; 23(1):111-20.
- 12- INCA, Instituto Nacional do Câncer. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2011. Disponível em: <http://www.inca.gov.br>. Acesso em: 04 de novembro de 2016.
- 13- MINISTERIO DA SAUDE(BR). Controle dos cânceres do colo do útero e da mama. 2ª edição. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2013. (Caderno Atenção Básica, nº 13).
- 14- SCULLY RE, Bonfiglio TA, Kurman RJ, Silverberg SG, Wilkinson EJ. Histological typing of female genital tract tumours [World Health Organization. Internacional Histological Classification of Tumours]. 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag; 1994.
- 15- EDDY DM. Screening for cervical cancer. Ann Intern Med. 1990;113(3):214-Comment in: Ann Intern Med. 1990;113(10):803; Ann Intern Med. 1990;113(7):560-1.
- 16- BRAY F, Loos AH, McCarron P. Trends in cervical squamous cell carcinoma incidence in 13 European Countries: changing risk and the effects of screening. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2006;14(3):677-86.
- 17- PECORRELI S. FIGO annual report on the results of treatment in gynaecological cancer. J Epidemiol Biostat. 2001;24(6):87-91.
- 18- BRASIL, Ministério da Saúde. Instituto do Câncer. Nomenclatura brasileira para laudos cervicais e condutas preconizadas: recomendações para profissionais de saúde. 2 ed. Rio de Janeiro, INCA, 2006.
- 19- SOLOMON D, NAYAR R (Eds). The Bethesda system for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses. Definitions, criteria, and explanatory notes. New York: Springer- Verlag; 2015.

- 20- A. P. A. D. Gurgel, B. S. Chagas, C. M. M. do Amaral *et al.*, "Prevalence and genetic variability in capsid L1 gene of rare human papillomaviruses (HPV) found in cervical lesions of women from North-East Brazil," *BioMed Research International*, vol. 2013, Article ID 546354, 7 pages, 2013.
- 21- WHO. WHO Guidelines for Screening and Treatment of Precancerous Lesions for Cervical Cancer Prevention. Geneva: World Health Organization, 2013.
- 22- WHO. Comprehensive Cervical Cancer Control: A Guide to Essential Practice. 2nd. ed. Geneva: World Health Organization, 2014.
- 23- GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base No. 11 [Internet]. <http://globocan.iarc.fr/Default.aspx>. Accessed 05 Jan 2017.
- 24- LORENZI A.T., SYRJANEN K.J., FILHO A.L. Human papillomavirus (HPV) screening and cervical cancer burden. A Brazilian perspective. *Virology Journal* (2015) 12:11.
- 25- MU L, *et al.* Alcohol consumption and rates of cancer screening: Is cancer risk overestimated? *Cancer Causes Control*. 2016.
- 26- S. de Sanjose, W. G. Quint, L. Alemany *et al.*, "Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study," *The Lancet Oncology*, vol. 11, no. 11, pp. 1048–1056, 2010.
- 27- Fripp JC. Sobrevivência e qualidade de vida de indivíduos com câncer registrados em serviços de alta complexidade no município de PelotasRS. [tese]. Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul; 2014. Disponível em: <http://wp.ufpel.edu.br/pgenfermagem/files/2016/02/TESE-Julietta-Maria-Carriconde-Fripp.pdf>. [Acesso em: 19 jan 2017].
- 28- Andrade WP. Câncer de mama: TNM 8ª edição. Principais mudanças e implicações na prática diária. *Braz J Oncol*. 2018; 14(48): 1-13.
- 29- Queiroz MCLT, Barreto CL, Moraes VLL, Júnior WFL. *Oncologia: uma abordagem multidisciplinar*. Recife: Carpe Diem Edições e Produções Ltda.; 2015.
- 30- Silva LCZ. Análise da concordância entre achados histopatológicos da biópsia prostática realizada em centros não oncológicos e sua revisão em um centro oncológico. [dissertação]. Hospital de Câncer de Barretos, Barretos; 2013.
- 31- Rangel G, Lima LD, Vargas EP. Condicionantes do diagnóstico tardio do câncer cervical na ótica das mulheres atendidas no Inca. *Saúde Debate*. 2015; 39 (107): 1065-78

- 32- Zhou J, Wu SG, Sun JY, Li FY, Lin HX, Chen QH, He ZY. Comparison of clinical outcomes of squamous cell carcinoma, adenocarcinoma, and adenosquamous carcinoma of the uterine cervix after definitive radiotherapy: a population-based analysis. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2017;143(1): 115-22.
- 33- ThulerLCS, Bergmann A, Casado L. Perfil das pacientes com câncer de colo do útero no Brasil, 2000-2009: estudo de base secundária. *RevBrasCancerol*. 2012; 58 (3): 351-7.
- 34- ThulerLCS, Aguiar SS, Bergmann A. Determinantes do diagnóstico em estágio avançado do câncer do colo do útero no Brasil. *RevBrasGinecol Obstet*. 2014; 36 (6): 237-43

5.2 ARTIGO 2 – PERFIL GENOTÍPICO DA INFECÇÃO POR PAPILOMAVÍRUS HUMANO EM MULHERES DO ESTADO DO PIAUÍ COM DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO DE LESÃO CERVICAL INTRAEPITELIAIS DE BAIXO E ALTO GRAU.

Introdução

O câncer é o principal problema de saúde pública no mundo e já está entre as quatro principais causas de morte prematura (antes dos 70 anos de idade) na maioria dos países. A incidência e a mortalidade por câncer vêm aumentando no mundo, em parte pelo envelhecimento, pelo crescimento populacional, como também pela mudança na distribuição e na prevalência dos fatores de risco de câncer, especialmente aos associados ao desenvolvimento socioeconômico. (BRAY *et al.*, 2018).

O número de casos novos de câncer do colo do útero esperados para o Brasil, para cada ano do triênio 2020-2022, será de 16.590, com um risco estimado de 15,43 casos a cada 100 mil mulheres (Figura 2). Sem considerar os tumores de pele não melanoma, o câncer do colo do útero é o segundo mais incidente nas Regiões Norte (21,20/100 mil), Nordeste (17,62/100 mil) e Centro-Oeste (15,92/100 mil). Já na Região Sul (17,48/100 mil), ocupa a quarta posição e, na Região Sudeste (12,01/100 mil), a quinta posição. (INCA, 2020)

No Piauí, houve uma taxa bruta de incidência estimada de 23,19 casos de câncer do colo do útero para cada 100 mil mulheres, com uma estimativa de 390 novos casos no Estado e 110 na capital Teresina para o ano de 2020 (INCA, 2020).

Múltiplas infecções por HPV são comumente encontradas em estudos epidemiológicos moleculares (NIELSEN *et al.*, 2008; MEJLHEDE *et al.*, 2009; DICKSON *et al.*, 2013; DICKSON *et al.*, 2014). No entanto, a importância clínica destes múltiplos genótipos de HPV na modulação do risco de lesões intraepiteliais escamosas (SIL) permanece controverso. Alguns estudos têm demonstrado uma associação entre lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL) ou lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL) em mulheres infectadas com vários tipos de HPV (CUSCHIERI *et al.*, 2004; DICKSON *et al.*, 2013; DICKSON *et al.*, 2014).

Estudos populacionais internacionais evidenciaram que o HPV 16 é o responsável pela maior parte dos cânceres de colo do útero, depois do HPV 18. Em conjunto, são responsáveis por aproximadamente 70% dos casos (SIMOES, 2010).

No Brasil, estudos têm mostrado que o HPV-16 é o mais prevalente, embora exista variações regionais com relação aos diversos genótipos. Desta forma, os dados de um local não podem ser generalizados para todo o país (RABELO-SANTOS *et al.*, 2003; CHATURVEDI *et al.*, 2004; BALDEZ DA SILVA *et al.*, 2009; FREITAS *et al.*, 2012; PIROG *et al.*, 2014).

O conhecimento da distribuição de genótipos de HPV pode orientar na introdução de vacinas profiláticas e na determinação da epidemiologia local de genótipos circulantes do HPV de alto risco. Este estudo tem como objetivo determinar o perfil genotípico da infecção por HPV em mulheres da Região Agreste e sua associação com a progressão da lesão e câncer cervical.

Metodologia

População investigada

Foram avaliadas as fichas de diagnósticos histopatológicos de biopsias do colo uterino obtidas por colposcopia ou por conização, no banco de dados do Sistema de Informação do Controle de Câncer de Colo Uterino – Ministério da Saúde (SISCOLO) entre 2015 e 2016, onde foram selecionados 120 casos positivos com diagnósticos de lesões intraepiteliais escamosas ou invasivas e 4 casos negativos para lesão, de

pacientes apresentando apenas cervicite, sendo resgatados do arquivo no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital São Marcos, em Teresina, Piauí, Brasil. Foram excluídos os casos para os quais não foi possível localizar os blocos.

O total de 120 casos resgatados foram divididos, conforme diagnóstico histopatológico: NIC I/HPV, NIC II, NIC III, Carcinoma invasor, Adenocarcinoma e Cervicite. Foram coletados dos prontuários das pacientes, informações como idade, cidade de origem, grau de instrução, número de gestações, período da realização do exame e resultado da citologia e do histopatológico.

Genotipagem parao HPV

Os produtos purificados após amplificação foram sequenciados bidireccionalmente utilizando-se o kit BigDye Terminator v3.1 CycleSequencing (Applied Biosystems, USA), de acordo com as instruções do fabricante. Os iniciadores utilizados para o sequenciamento foram os mesmos empregados na amplificação (ITS1 e ITS4). A reação de sequenciamento foi realizada em uma placa de 96 poços, cada um contendo um produto de PCR purificado, o mix de reação e apenas um dos iniciadores. O volume final em cada poço da placa foi de 10 μ L no qual continha 20–40 ng de DNA (2 μ L de DNA), 0.5 μ L de pré-mix BigDye, 1,75 μ L de tampão de sequenciamento, 4,75 μ L de água ultrapura e 1 μ L de iniciador a 5 pmol/ μ L. Posteriormente, a placa preparada foi ciclada num termociclador Veriti (Applied Biosystems, USA), em 40 ciclos de 15 segundos a 96°C, 15 segundos a 50°C e 4 minutos a 60°C.

Após a ciclagem, os produtos da reação de sequenciamento foram precipitados a fim de eliminar o excesso de iniciadores, sais, dNTPs e ddNTPs não incorporados. A cada poço da placa foram adicionados 1,0 μ L de EDTA 125 mM e 1,0 μ L de acetato de sódio 3 M. Em seguida, 25 μ L de etanol absoluto foram adicionados a cada poço da placa de sequenciamento, sendo esta vedada, homogeneizada e incubada por 15 minutos ao abrigo da luz em temperatura ambiente. Após a incubação, a placa foi centrifugada por 40 minutos a 3700 rpm e 20°C. Nesta etapa ocorreu a precipitação das moléculas de DNA. Após a centrifugação, o etanol foi descartado e os pellets lavados com 35 μ L de etanol 70% e a placa novamente homogeneizada e centrifugada por 15 minutos a 3700 rpm e 4°C. O etanol foi outra vez descartado por inversão e o excesso retirado por evaporação a 95°C.

Após a precipitação, as amostras foram ressuspendidas em 10 µL de formamida HiDi (Applied Biosystems, USA). A placa foi vedada com uma septa específica para separação eletroforética em capilar. O sequenciamento foi realizado por separação eletroforética em capilar em um sequenciador modelo ABI 3500 GeneticAnalyzer (Applied Biosystems).

Os dados do sequenciamento foram coletados com o software Data Collection (Applied Biosystems). Após a coleta, os dados passaram por uma inspeção de qualidade por meio do SequencingAnalysis Software (Applied Biosystems).

A edição e análise manual das sequências foram realizadas no Staden Package 4.1.4 (Gene Codes Corporation, EUA). A sequência gerada por cada um dos iniciadores utilizados no sequenciamento de um dado fragmento de DNA foi analisada, a princípio separadamente e, em seguida, agrupada com as demais sequências do mesmo fragmento, a fim de gerar o contig ou sequência consenso. A partir de então, as sequências foram investigadas quanto à sua composição de bases. Após edição completa dos contigs, estes foram submetidos ao BLAST na base de dados do GenBank através da página web do NCBI a fim de investigar a correspondência na identificação das espécies.

Análises estatísticas

Os dados foram analisados descritivamente por meio de frequências absolutas e percentuais. Para avaliar associação entre duas variáveis categóricas foi utilizado o teste Qui-quadrado de Pearson, o teste Exato de Fisher quando a condição para utilização do teste Qui-quadrado não foi verificada e o teste da Razão de Verossimilhança quando não foi possível se obter os resultados do teste Exato de Fisher devido a extrapolação da capacidade computacional. O nível de significância utilizado na decisão dos testes estatísticos foi de 5%.

Os dados foram digitados na planilha EXCEL e o programa utilizado para obtenção dos cálculos estatísticos foi o IMB SPSS na versão 25.

Aspectos éticos da pesquisa

O presente trabalho foi apresentado sob o CAAE nº:17068913.6.3002.5584 ao Comitê de Ética em Pesquisa/Centro de Ciências da Saúde/Universidade Federal de

Pernambuco (CEP/CCS/UFPE) e também ao Comitê de Ética em Pesquisa da Associação Piauiense de Combate ao Câncer, obedecendo integralmente os princípios éticos estabelecidos na resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (CNS).

Resultados

Na Tabela 1 se apresenta os resultados relativos as características sociodemográficas do grupo pesquisado. Desta tabela pode ser verificado que o menor percentual correspondeu a faixa mais de 60 anos com 19,5% das participantes e os percentuais das outras duas faixas etárias variaram de 39,1% a 41,4%; mais da metade: tinha ensino fundamental (53,9%) e os percentuais das outras categorias variaram de 12,5% a 18,0%; não tinham filhos (54,7%), seguido de 30,5% que tinham três ou mais filhos e os 14,8% tinham de um a dois filhos; a maioria (66,4%) era procedente do interior e os 33,6% da capital Teresina.

Tabela 1 – Características sociodemográficos

Variável	n (%)
Total	128 (100,0)
Faixa etária (anos)	
21 a 40	50 (39,1)
41 a 60	53 (41,4)
Mais de 60	25 (19,5)
Escolaridade	
Analfabeta	16 (12,5)
Ensino fundamental	69 (53,9)
Ensino médio	20 (15,6)
Ensino superior	23 (18,0)
Filhos	
Nenhum	70 (54,7)
Até 2 filhos	19 (14,8)
Três ou mais	39 (30,5)

Procedência

Capital	43 (33,6)
Interior	85 (66,4)

Fonte: O autor (2023).

Na Tabela 2, apresenta os resultados dos exames citológicos e histopatológicos onde se ressalta que: a maioria (62,5%) foi classificada com citologia inflamatória, seguida dos que tinham HSIL (15,6%), carcinoma/adeno (11,7%) e as outras três categorias tiveram percentuais que variaram de 0,8% a 7,0%; as duas categorias mais prevalentes do exame histopatológico NIC II/NIC III (35,2%) e carcinoma (30,5%), a menos prevalente foi adeno (3,9%) e as outras duas categorias listadas tiveram percentuais de 14,1% a 16,4%.

Tabela 2 – Resultados da citologia e histopatológico

Variável	n (%)
Total	128(100,0)
Citologia	
Normal	1 (0,8)
Inflamatório	80 (62,5)
LSIL	9 (7,0)
HSIL	20 (15,6)
Carcinoma/adeno	15 (11,7)
Ascus/asch	3 (2,3)
Histopatológico	
Cervicite/metaplasia/pólipo	21 (16,4)
NIC I/HPV	18 (14,1)
NIC II/NIC III	45 (35,2)
Carcinoma	39 (30,5)
Adeno	5 (3,9)

Fonte: O autor (2023).

Na Tabela 3 se apresenta os resultados dos exames para GP e HPV's onde se verifica que: a maioria (93,7%) correspondendo a 120 pacientes foi positivo no exame GP e entre estes as maiores prevalências de HPV foram: HPV33 (68,3%), HVP16

(45,8%), HPV11 (9,2%), HPV11 (5,0%) e os percentuais dos outros 9 HPV's variaram de 0,8% a 3,3%.

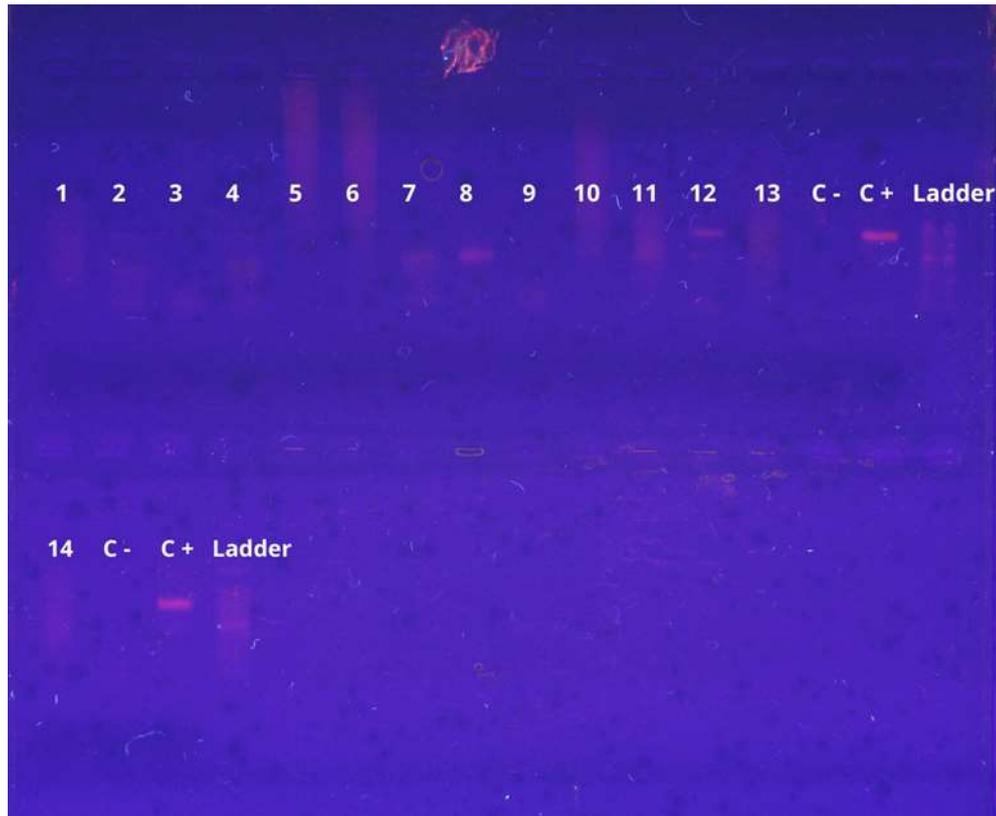
Tabela 3 – Resultados dos exames para HPV

Variável	Positivo n (%)	Negativo n (%)	Total ⁽¹⁾ n (%)
GP	120 (93,7)	8 (6,3)	128 (100,0)
HPV33	82 (68,3)	38 (31,7)	120 (100,0)
HPV16	55 (45,8)	65 (54,2)	120 (100,0)
HPV18	11 (9,2)	109 (90,8)	120 (100,0)
Os percentuais foram obtidos com base nos 120 com GP positivos.			
HPV11	6 (5,0)	114 (95,0)	120 (100,0)
HPV31	4 (3,3)	116 (96,7)	120 (100,0)
HPV6	4 (3,3)	116 (96,7)	120 (100,0)
HPV9	4 (3,3)	116 (96,7)	120 (100,0)
HPV58	2 (1,7)	118 (98,3)	120 (100,0)
HPV45	2 (1,7)	118 (98,3)	120 (100,0)
HPV73	1 (0,8)	119 (99,2)	120 (100,0)
HPV83	1 (0,8)	119 (99,2)	120 (100,0)
HPV52	1 (0,8)	119 (99,2)	120 (100,0)
HPV59	1 (0,8)	119 (99,2)	120 (100,0)

Fonte: O autor (2023).

A detecção do DNA do HPV se deu através da técnica de PCR utilizando primers específicos (MY 09/11) para a região conservada do gene L1, gerando fragmentos de aproximadamente 450 pb. A Figura 1 mostra o resultado desta reação.

Figura 1 – Eletroforese do produto da PCR com primers MY 09/11 em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo.

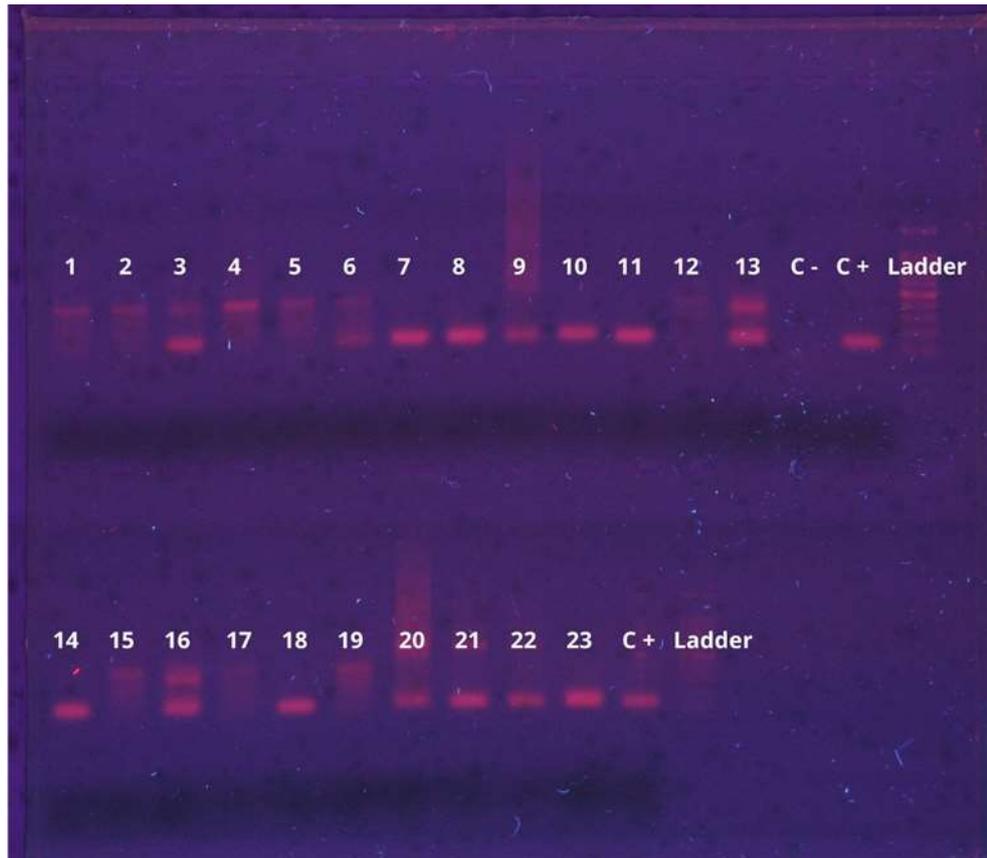


Fonte: O autor (2023).

M: marcador 50 pb; C-: Controle negativo; C+: controle positivo; 7, 8 e 12: amostras de tecido cervical positivas para HPV; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 10, 11 e 14: amostras de tecido cervical negativas para HPV.

As amostras negativas na reação de PCR utilizando os primers MY09/11 foram submetidas a uma nested PCR com primers GP 5/6, o qual também amplifica região conservada do gene L1 gerando fragmentos com 150 pb. O produto desta reação foi submetido à eletroforese em gel de agarose 1%. A Figura 2 mostra o resultado desta reação.

Figura 2 – Eletroforese do produto da PCR com primers GP 5/6 em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo.

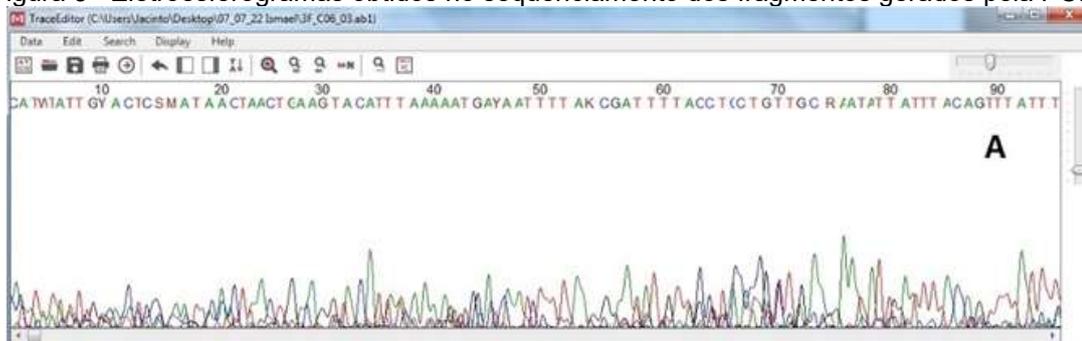


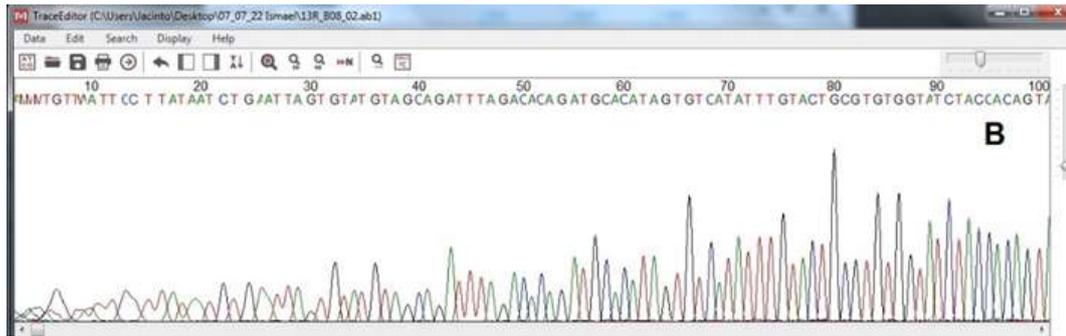
Fonte: O autor (2023).

M: marcador 50 pb; C-: Controle negativo; C+: controle positivo; 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 16, 18, 20, 21, 22, 23: amostras de tecido cervical positivas para HPV; 1, 2, 4, 5, 12, 15, 17, 19: amostras e tecido cervical negativas para HPV.

Na Figura 3, estão os eletroesferogramas obtidos no sequenciamento dos fragmentos gerados pela PCR.

Figura 3 –Eletroesferogramas obtidos no sequenciamento dos fragmentos gerados pela PCR.





Fonte: O autor (2023).

A: eletroesferograma de uma sequência de HPV 16. B: eletroesferograma de uma sequência de HPV 33.

A Tabela 4 mostra que: mais da metade (53,3%) dos pacientes foi diagnosticada com um sorotipo de HPV, seguida de 41,7% com dois HPV's e os que sem HPV's, com três e com 4 HPV's variaram de 0,8% a 2,5%; no estudo das infecções cruzadas as maiores frequências corresponderam aos que diagnosticados somente com HPV (30,8%), HPV16 + HPV33 (28,3%), somente HPV16 (9,2%).

Tabela 4 – Resultados das coinfeções pelo HPV entre os 120 que apresentaram GP positivo

Resultados do HPV	n (%)
Número de HPV's positivos	
Nenhum	3 (2,5)
Um	64 (53,3)
Dois	50 (41,7)
Três	2 (1,7)
4	1 (0,8)
Relação dos HPV's positivos	
Nenhum	3 (2,5)
Somente HPV33	37 (30,8)
Somente HPV16	11 (9,2)
Somente HPV11	6 (5,0)
Somente HPV6	4 (3,3)
Somente HPV18	3 (2,5)
Somente HPV73	1 (0,8)
Somente HPV52	1 (0,8)
Somente HPV59	1 (0,8)

HPV16 + HPV33	34 (28,3)
HPV33 + HPV18	4 (3,3)
HPV33 + HPV31	4 (3,3)
HPV16 + HPV9	3 (2,5)
HPV16 + HPV18	2 (1,7)
HPV16 + HPV58	1 (0,8)
HPV16 + HPV45	1 (0,8)
HPV33 + HPV58	1 (0,8)
HPV16 + HPV33 + HPV18	1 (0,8)
HPV16 + HPV33 + HPV45	1 (0,8)
HPV16 + HPV18 + HPV9 + HPV83	1 (0,8)
Total	120 (100,0)

Fonte: O autor (2023).

A Tabela 5, mostra associação significativa entre os resultados do HPV16 com os dados histopatológicos e para a referida variável se evidencia que: 4 dos 5 pacientes com adeno foram positivos para HPV16, entre os casos com carcinoma o percentual com HPV foi 63,2%, seguido de NIC II/NIC III (41,5%) foi menos elevado cervicite/metaplasia/pólipo (20,0%) e 37,5% entre os casos com NIC I/HPV.

Tabela 5 – Avaliação do HPV 16, segundo os resultados da citologia e histopatológico

Variável	HPV 16		Total n (%)	Valor p
	Positivo n (%)	Negativo n (%)		
Citologia				p ⁽¹⁾ = 0,408
Normal	0 (0,0)	1 (100,0)	1 (100,0)	
Inflamatório	34 (45,3)	41 (54,7)	75 (100,0)	
LSIL	4 (50,0)	4 (50,0)	8 (100,0)	
HSIL	8 (42,1)	11 (57,9)	19 (100,0)	
Carcinoma/adeno	9 (64,3)	5 (35,7)	14 (100,0)	
Ascus/asch	0 (0,0)	3 (100,0)	3 (100,0)	
Histopatológico				p ⁽¹⁾ = 0,009*
Cervicite/metaplasia/pólipo	4 (20,0)	16 (80,0)	20 (100,0)	
NIC I/HPV	6 (37,5)	10 (62,5)	16 (100,0)	
NIC II/NIC III	17 (41,5)	24 (58,5)	41 (100,0)	
Carcinoma	24 (63,2)	14 (36,8)	38 (100,0)	
Adeno	4 (80,0)	1 (20,0)	5 (100,0)	

Grupo total	55 (45,8)	65 (54,2)	120 (100,0)
--------------------	------------------	------------------	--------------------

(*) Associação significativa a 5%

(1) Pelo teste Exato de Fisher.

Fonte: O autor (2023).

A Tabela 6, mostra associação significativa entre os resultados do HPV18 com os dados histopatológicos e para a referida variável se evidencia que: um dos 5 pacientes com adeno foi positivo para HPV18, o percentual foi nulo entre os pacientes com NIC II/NIC III, foi 6,2% nos casos com NIC I/HPV e este percentual variou de 13,2% a 20,0% nas outras duas categorias do exame histopatológico.

Tabela 6 – Avaliação do HPV 18, segundo os resultados da citologia e histopatológico

Variável	HPV 18			Valor p
	Positivo n (%)	Negativo n (%)	Total n (%)	
Citologia				p ⁽¹⁾ = 0,488
Normal	0 (0,0)	1 (100,0)	1 (100,0)	
Inflamatório	9 (12,0)	66 (88,0)	75 (100,0)	
LSIL	0 (0,0)	8 (100,0)	8 (100,0)	
HSIL	0 (0,0)	19 (100,0)	19 (100,0)	
Carcinoma/adeno	2 (14,3)	12 (85,7)	14 (100,0)	
Ascus/asch	0 (0,0)	3 (100,0)	3 (100,0)	
Histopatológico				p ⁽¹⁾ = 0,021*
Cervicite/metaplasia/pólipo	4 (20,0)	16 (80,0)	20 (100,0)	
NIC I/HPV	1 (6,3)	15 (93,8)	16 (100,0)	
NIC II/NIC III	-	41 (100,0)	41 (100,0)	
Carcinoma	5 (13,2)	33 (86,8)	38 (100,0)	
Adeno	1 (20,0)	4 (80,0)	5 (100,0)	
Grupo total	11 (9,2)	109 (90,8)	120 (100,0)	

(*) Associação significativa a 5%

(1) Pelo teste Exato de Fisher.

Fonte: O autor (2023).

Na Tabela 7, foi verificada associação significativa entre os resultados do HPV 33 com escolaridade e número de filhos e para as referidas variáveis se destaca que o percentual de casos positivos para HPV33 foi: menos elevado (13,6%) entre os que tinham escolaridade com ensino superior, mais elevado entre os que tinham ensino fundamental (83,8%) e foi 66,7% entre os que tinham ensino médio; foi menos elevado entre os que tinham dois filhos (35,3%) e variou de 71,8% a 75,0% entre os que não tinham filhos ou tinham 3 ou mais filhos.

Tabela 7 – Avaliação do HPV 33, segundo os dados sociodemográficos

Variável	HPV 33 Positivo n (%)	Negativo n (%)	Total n (%)	Valor p
Faixa etária (anos)				$p^{(1)} = 0,433$
21 a 40	31 (64,6)	17 (35,4)	48 (100,0)	
41 a 60	32 (66,7)	16 (33,3)	48 (100,0)	
Mais de 60	19 (79,2)	5 (20,8)	24 (100,0)	
Escolaridade				$p^{(1)} < 0,001^*$
Analfabeta/ fundamental	67 (83,8)	13 (16,3)	80 (100,0)	
Ensino médio	12 (66,7)	6 (33,3)	18 (100,0)	
Ensino superior	3 (13,6)	19 (86,4)	22 (100,0)	
Filhos				$p^{(1)} = 0,006^*$
Nenhum	48 (75,0)	16 (25,0)	64 (100,0)	
Até 2 filhos	6 (35,3)	11 (64,7)	17 (100,0)	
Três ou mais	28 (71,8)	11 (28,2)	39 (100,0)	
Cor				$p^{(1)} = 0,267$
Branca	30 (75,0)	10 (25,0)	40 (100,0)	
Parda	52 (65,0)	28 (35,0)	80 (100,0)	
Grupo total	82 (68,3)	38 (31,7)	120 (100,0)	

(*) Associação significativa a 5%

(1) Pelo teste Qui-quadrado Pearson.

Fonte: O autor (2023).

A Tabela 8, mostra associação significativa entre os resultados do HPV33 com os dados histopatológicos e para o referido cruzamento se enfatiza que: três dos 5 pacientes com adeno foram positivos para HPV33, o percentual com HPV33 positivo foi mais elevado entre os pacientes com NIC II/NIC III (92,7%), seguido dos casos com carcinoma (81,6%), foi menos elevado entre os foi menos elevado cervicite/metaplasia/pólipo (15,0%) e 43,8% entre os casos com NIC I/HPV.

Tabela 8 – Avaliação do HPV 33, segundo os resultados da citologia e histopatológico

Variável	HPV 33		Total n (%)	Valor p
	Positivo n (%)	Negativo n (%)		
Citologia				p ⁽¹⁾ = 0,144
Normal	0 (0,0)	1 (100,0)	1 (100,0)	
Inflamatório	48 (64,0)	27 (36,0)	75 (100,0)	
LSIL	4 (50,0)	4 (50,0)	8 (100,0)	
HSIL	16 (84,2)	3 (15,8)	19 (100,0)	
Carcinoma/adeno	11 (78,6)	3 (21,4)	14 (100,0)	
Ascus/asch	3 (100,0)	0 (0,0)	3 (100,0)	
Histopatológico				p ⁽¹⁾ < 0,001*
Cervicite/metaplasia/pólipo	3 (15,0)	17 (85,0)	20 (100,0)	
NIC I/HPV	7 (43,8)	9 (56,3)	16 (100,0)	
NIC II/NIC III	38 (92,7)	3 (7,3)	41 (100,0)	
Carcinoma	31 (81,6)	7 (18,4)	38 (100,0)	
Adeno	3 (60,0)	2 (40,0)	5 (100,0)	
Grupo total	82 (68,3)	38 (31,7)	120 (100,0)	

(*) Associação significativa a 5%

(1) Pelo teste Exato de Fisher.

Fonte: O autor (2023).

Na Tabela 9, se apresentam os resultados do cruzamento entre o exame citológico e o histológico onde se verifica associação significativa. Desta tabela se destaca: o único caso com citologia normal foi diagnosticado com NIC I/HPV pelo exame histopatológico; dos três casos com Ascus/asch dois foram diagnosticados com NIC II;NIC III e um com carcinoma; dos 15 casos com carcinoma/adeno a maioria (73,3%) tinha carcinoma segundo o histopatológico; entre os 20 casos com HSIL a maioria (75,0%) tinha NIC II/NIC II e os 25,0% demais tinham carcinoma; entre os 9 casos com LSIL a maioria (66,7%) tinha NIC I/HPV, o percentual com CMP foi nulo e os percentuais das outras três categorias do histológico foram iguais a 11,1%; entre os casos com inflamatório os percentuais o tipo tipo histopatológico adeno foi o menos frequente com 2,5% e os percentuais das outras 4 categorias variaram de 13,8% a 32,5%.

Tabela 9 – Avaliação do exame Histopatológico, segundo os resultados da citologia

Citologia	Histopatológico					Valor p
	CMP n (%)	NIC I/HPV n (%)	NIC II/NIC III n (%)	Carcinoma n (%)	Adeno n (%)	

Normal	0 (0,0)	1 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	p ⁽¹⁾ < 0,001*
Inflamatório	20 (25,0)	11 (13,8)	26 (32,5)	21 (26,3)	2 (2,5)	
LSIL	0 (0,0)	6 (66,7)	1 (11,1)	1 (11,1)	1 (11,1)	
HSIL	0 (0,0)	0 (0,0)	15 (75,0)	5 (25,0)	0 (0,0)	
Carcinoma/adenocarcinoma	1 (6,7)	0 (0,0)	1 (6,7)	11 (73,3)	2 (13,3)	
Ascus/asch	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (66,7)	1 (33,3)	0 (0,0)	
Grupo total	21 (16,4)	18 (14,1)	45 (35,2)	39 (30,5)	5 (3,9)	

(*) Associação significativa a 5%

(1) Pelo teste Razão de Verossimilhança. CMP = Cervicite/metaplasia/pólipo

Fonte: O autor (2023).

Discussão

O papel etiológico do HPV na carcinogênese cervical já está bem estabelecido. Por isso no presente estudo, foi realizada pela primeira vez, a identificação e caracterização do HPV em mulheres com lesões cervicais no Estado do Piauí. Os resultados desse estudo mostraram que a prevalência de HPV em carcinoma cervical foi relativamente alta, uma vez que esse vírus estava presente em 30,5% (39/128) dos casos analisados e 35,2% de NICII/NICIII (45/128), das pacientes oriundas do interior do estado (66,4%). Levando a crer que essas pacientes tenham uma menor acessibilidade aos programas de rastreamento do câncer do colo do útero e menor acesso à saúde, contribuindo assim para o aumento dessas lesões cervicais mais severas.

Nossos resultados não estão em consonância com estudos anteriores em diversas regiões do país, que também descreveram proporções diferentes dos casos positivos para HPV, pois na genotipagem das nossas amostras foram identificados os seguintes sorotipos de HPV: HPV33 (68,3%), HPV16 (45,8%), HPV18 (9,2%), HPV11 (5,0%), HPV31, HPV6 e HPV9 (3,3%), HPV58 e HPV45 (1,7%), HPV73, HPV83, HPV52 e HPV59 (0,8%). E segundo Bakiret *al.*(2021), a prevalência de HPV tipo 16 é o tipo de HPV mais comum em todo o mundo, com prevalência de 2,6%. O HPV tipo 18 é o segundo tipo mais comum no mundo depois do HPV tipo 16, outros tipos de HPV variam de acordo com a idade e as diferenças geográficas. Colpaniet *al.*(2020) em sua metanálise mostra que a prevalência de HPV cervical de alto risco foi ligeiramente maior na região Nordeste com 32.82% e na região Centro-Oeste com 31.89%, e uma prevalência marcadamente menor na região Sul (21.59%), quando comparada às demais regiões do Brasil. A prevalência geral de HPV e a prevalência

de HPV de alto risco difere ligeiramente entre as regiões do Brasil. A maioria dos estudos foram realizados nas regiões Sul e Sudeste. Este era um resultado esperado, pois estas são as regiões altamente populosas e economicamente mais desenvolvidas do Brasil. Alternativamente, pode ser que essas diferenças sejam reais e possam estar relacionadas a aspectos socioeconômicos, principalmente quando esta análise é focada na região Nordeste, que é altamente populosa, mais pobre e com piores indicadores gerais de saúde.

Há uma variação na prevalência do HPV entre as diferentes áreas geográficas no Brasil, com prevalência aumentada no Nordeste e dados escassos das regiões geográficas Norte e Centro-Oeste. Como o Brasil é um país com proporções continentais e significativa diversidade socioeconômica, a epidemiologia da infecção pelo HPV no Brasil também pode ser impactada por essas variáveis.

Bruni *et al.*(2019), afirma que especialmente o HPV-16 e o HPV-18, são responsáveis por cerca de 70% dos cânceres cervicais. E Liuet *al.*(2020), comprovou em seu estudo no norte da China com 3134 pacientes, o HPV16 foi o genótipo mais dominante com 43,65% nos pacientes com exame patológico. Complementando essa informação, de acordo com o INCA. 2020, Aproximadamente 291 milhões de mulheres no mundo são portadoras do HPV, sendo que 32% estão infectadas pelos subtipos 16, 18 ou ambos. Ao contrário disso, no nosso estudo o HPV16 ficou em segundo lugar, estando presente em 45,8% das pacientes analisadas. E em relação ao histopatológico para a referida variável se evidenciou que: 4 dos 5 pacientes com adenocarcinoma foram positivos para HPV16, e entre os casos com carcinoma o percentual com HPV foi 63,2%, seguido de NIC II/NIC III (41,5%). O HPV18 estava presente em 9,2% das pacientes, ocupando a terceira posição dos genótipos detectados, e em relação ao histopatológico esse genótipo estava em 13,2% das pacientes diagnosticadas com carcinoma, 1 caso de adenocarcinoma e percentual foi nulo entre os pacientes com NIC II/NIC III.

Neste estudo de acordo com as análises citológicas, 62,5% eram apenas citologia inflamatória, ou seja, negativo para lesão intraepitelial e malignidade (NILM), seguindo de HSIL com 15,6%, carcinoma/adeno com 11,7% e LSIL com 7%. Sendo que todas as amostras do estudo tiveram 93,7% de positividade para algum tipo de HPV, nos mostrando que mesmo negativas para algum tipo de lesão cervical, essas pacientes eram positivas para HPV, provando o caráter transitório da infecção ou em processo de evolução neoplásica, além de uma discrepância entre os resultados da

citologia em comparação com a histopatologia das mesmas amostras. Já no estudo de Allyrioet *al.*(2008), o DNA do HPV foi encontrado em 27 (24,5%) das mulheres citologicamente normais, sendo 21 (77,8%) infectadas por um único tipo de HPV e 6 (22,2%) por dois tipos de vírus. Ainda em relação à detecção do DNA de HPV em citologias negativas para lesão (NILM), que dentre os tipos virais mais prevalentes, tivemos de positividade: 45,3% para HPV16, 12,0% para HPV18 e 64,0% para HPV33. No estudo realizado por Bakiret *al.*(2021), essa taxa de positividade para HPV em mulheres com citologia cervical normal é de 11,6 a 11,7%. Relata-se que chega a 21,4% na Europa Oriental, 16,1% na América Latina e 24% na África Subsaariana. [10,18,19]. Em um estudo de meta-análise conduzido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) /CatalanOncologyInstituteInformation Center, a prevalência de HPV em mulheres com citologia normal foi mais alta na África (31.6%) e mais baixa no Sudeste Asiático (6.2%).

Nos verificamos que 53,3% dos pacientes estavam infectados com pelo menos um genótipo de HPV, seguido de 41,7% com dois HPVs e 1,7% com três HPVs. Na qual podemos destacar, que o maior percentual de infecção múltipla com os genótipos HPV16 + HPV33 (28,3%), ambos de alto risco. Com porcentagens semelhantes, Liuet *al.*(2020) mostrou a frequência de infecção por um único genótipo de HPV foi de 55,26%, enquanto a de múltiplos genótipos foi de 34,18%. A infecção com dois genótipos diferentes foi a infecção múltipla mais comum por HPV, onde o máximo de infecções múltiplas foram sete genótipos. Segundo Dickson *et al.*(2014), alguns estudos mostraram associação entre a lesão intraepitelial escamosa baixa grau (LSIL) ou as lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (HSIL) em mulheres infectadas com vários tipos de HPV. Segundo Miranda *et al.*(2020), as pacientes podem ser infectadas simultaneamente com vários tipos de HPV e a literatura tem proposto que múltiplos tipos de HPV podem atuar sinergicamente no desenvolvimento do câncer do colo do útero. E que os tipos HPV-6 e 11 raramente estão associados ao carcinoma espinocelular invasivo, de modo que a detecção desses tipos em NIC 1, 2 e 3 e carcinoma, em nossos dados, é atribuída principalmente à co-infecção com HPVs de alto risco. No estudo de Miranda *et al.*(2020), 211 amostras classificadas como NIC-1, 2 e 3 foram genotipadas, no qual 90 amostras (42,7%) teve infecção única por HPV, enquanto 121 amostras (57,3%) tiveram múltiplas infecções por HPV. Em todas as amostras foram identificados sete tipos de HPV, com infecções por HPV de alto risco apresentando maior frequência (71,4%) em relação às infecções por HPV de baixo

risco (28,6%). Os tipos mais comumente detectados foram HPV-16 (24,6% em infecção única), HPV-8 (7,1% em infecção única) e HPV-31 (6,6% em infecção única).

Alarcón-Romero *et al.*(2022) afirma que a prevalência de infecções por HPV difere entre os países e pode até variar entre as regiões do mesmo país. Essa diferença é parcialmente influenciada pela migração, comportamento sexual, tipo de lesão cervical nas mulheres amostradas e métodos diagnósticos, que têm um papel importante. Ao longo dos anos, os métodos diagnósticos foram aprimorados, auxiliando na identificação de diferentes tipos de HPVs em uma mesma paciente (infecções múltiplas), o que tem importante impacto na prevalência de HPVs em mulheres com lesões precursoras e câncer cervical. Ainda segundo Alarcón-Romero *et al.*(2022) no estudo realizado na região central do México, 79,2% das amostras foram positivas para pelo menos um genótipo de HPV, sendo o HPV-51 o genótipo mais prevalente, seguido pelo HPV-16. No nordeste do México, o HPV-16 foi o genótipo mais prevalente, seguido pelo HPV-6. No centro-sul do México, o HPV-52 foi o mais prevalente, seguido pelo HPV-16. Da mesma forma, no nordeste do México, 59% das amostras foram positivas para pelo menos um genótipo de HPV, sendo o HPV-16 o genótipo mais prevalente, seguido pelo HPV-18.

Em relação ao HPV33, esse genótipo ficou em primeiro na genotipagem com 68,3% das pacientes. E diagnosticados somente com HPV33 foram 30,8%, três dos 5 pacientes com adenocarcinoma foram positivos para HPV33, e no histopatológico, o percentual com HPV33 positivo foi mais elevado entre os pacientes com NIC II/NIC III (92,7%), seguido dos casos com carcinoma (81,6%). Dados coletados nos cinco continentes mostraram que o HPV 33 é o quarto ou quinto tipo mais prevalente (SUNG *et al.*, 2021).

Na análise dos exames histopatológicos verificamos que 35,2% das pacientes foram diagnosticadas com NIC II/III, seguido carcinoma escamoso 30,5% e NIC I/HPV 14,1%. De forma geral, verifica-se um percentual elevado na frequência de lesões de alto grau e invasivas, principalmente por que acometeu boa parte das pacientes na faixa etária a partir de 41 anos. De acordo com IARC, 2007 vários estudos prospectivos mostraram que as mulheres que são HPV-positivas na linha de base têm um maior risco de desenvolver NIC-III ou câncer cervical invasivo durante o seguimento do que as mulheres com HPV-negativas. No entanto, muitos desses estudos iniciais não avaliaram a carcinogenicidade específica do tipo HPV. E de acordo com o estudo Miranda *et al.* (2020), realizado em Recife, com 221 amostras,

onde um total de 26,5% (56/211) mulheres tinham NIC-1, entre os quais HPV-16, HPV-31, HPV-35 e HPV-18 foram os tipos mais comuns em infecções únicas, enquanto HPV16/11, HPV16/6 e HPV18/6 foram os mais frequentes nas infecções múltiplas. HPV-16 e HPV-18 foram os dois tipos mais frequentes observados na NIC-2 com infecção única por HPV, enquanto HPV16/6, HPV 16/11 e HPV 16/31 foram os genótipos mais frequentes na NIC-2 com infecções múltiplas. Com relação à NIC-3, HPV-16, HPV-18 e HPV-31 foram os mais observados em infecções por HPV único, enquanto HPV 16/6, HPV 31/6, HPV 16/11 e HPV 16/18 foram os mais detectados em múltiplas infecções por HPV. E GOMES; OLIVEIRA, 2017 em seu estudo viu que frequência de teste de HPV positivo em biópsias com resultado HSIL ou mais grave foi de 100% e de 77% para LSIL ou inferior.

Castle *et al.*(2010) no seu estudo, 608 mulheres diagnosticadas com NIC3, 601 (98,8%) casos foram positivos para qualquer genótipo de HPV e 95,4% para qualquer HPV carcinogênico. HPV16 (59,9%), HPV31 (18,1%), HPV52 (14,8%), HPV51 (14,0%) e HPV18 (13,2%) foram os 5 genótipos de HPV mais comuns detectados. Já Bruno *et al.*(2014) viu que a proporção do HPV16 aumentou com a severidade das anormalidades cito-histopatológicas de 13,8% (12/87) nas lesões de baixo grau para 42,4% (14/33) nas lesões de alto grau.

O padrão-ouro atual para avaliação de lesões cervicais é o exame histológico de uma biópsia guiada sob visão colposcópica. Todavia, segundo Nomeliniet *al.*(2012), além de suas limitações de ordem logística e a sujeição à variabilidade interobservador, este exame não permite inferir sobre risco de persistência, progressão ou regressão das lesões.

O INCA (2022) afirma que além de aspectos relacionados à própria infecção pelo HPV (subtipo e carga viral, infecção única ou múltipla), outros fatores ligados à imunidade, à genética e ao comportamento sexual parecem influenciar os mecanismos ainda incertos que determinam a regressão ou a persistência da infecção e também a progressão para lesões precursoras ou câncer. Desta forma, o tabagismo, a iniciação sexual precoce, a multiplicidade de parceiros sexuais, a multiparidade e o uso de contraceptivos orais são considerados fatores de risco para o desenvolvimento de câncer do colo do útero. E a idade também interfere nesse processo, sendo que a maioria das infecções por HPV em mulheres com menos de 30 anos regride espontaneamente, ao passo que acima dessa idade a persistência é mais frequente. Nós verificamos que mais da metade de nossas pacientes, possuíam apenas ensino

fundamental (53,9%), e que 41,4% delas estavam na faixa etária de 41 a 60 anos, além de que das 30,5% das pacientes com carcinoma e 3,9% com adenocarcinoma, 1/3 delas estão inseridas no grupo das pacientes quem tem acima de 3 filhos, fatores estes, que contribuem para o estabelecimento do HPV no organismo.

Slovinski; Slovinski; Oliveira(2020) afirma que a baixa adesão por parte das mulheres em maior risco para o desenvolvimento da doença, o despreparo das equipes de saúde para o enfrentamento do problema, bem como a ausência de um sistema de informações que permita o adequado acompanhamento dessas mulheres estão entre os muitos desafios a serem enfrentados no rastreamento abrangente e efetivo do CCU.

Bountriset *al.*(2014) afirma que combinar o teste citológico com o teste de DNA do HPV é uma alternativa eficaz para minorar as desvantagens de cada teste. Uma metanálise mostrou que a sensibilidade do conjunto é maior do que a sensibilidade de cada método individualmente.

O Ministério da Saúde implementou no calendário vacinal, em 2014, a vacina tetravalente contra o HPV para meninas e em 2017, para meninos. Esta vacina protege contra os subtipos 6, 11, 16 e 18 do HPV (INCA, 2020). E no nosso estudo o genótipo HPV33 foi o mais prevalente dentre os tipos virais, estando assim as mulheres do Piauí desprotegidas contra esse tipo viral, mesmo se vacinadas com a vacina tetravalente.

Assim, Vaccarellaet *al.*(2006) afirma que o conhecimento da distribuição do HPV na população é essencial para subsidiar o desenvolvimento de novos testes para o HPV e para avaliar os efeitos das vacinas introduzidas nos diferentes cenários de ocorrência da infecção. Já Alarcón-Romero *et al.*(2022) relata que o conhecimento sobre a prevalência e a distribuição genotípica do HPV no câncer cervical no Brasil, permite o planejamento de intervenções mais individualizadas e eficazes de acordo com as necessidades de cada região, frente à alta prevalência de HPV nesses tumores e os genótipos de HPV mais prevalentes encontrados no presente estudo, é possível inferir que a vacina profilática nonavalente traria maior proteção contra esse tipo de câncer na população brasileira. Entretanto, medidas educacionais, incluindo a higiene genital, a necessidade de circuncisão e adesão ao programa de vacinação já existente certamente apresentam um impacto relevante no enfrentamento da doença. Ademais, é imprescindível que sejam realizados estudos em todas as regiões

brasileiras, para que se obtenham dados mais completos sobre a distribuição dos genótipos virais do HPV.

O rastreamento é uma estratégia importante na eliminação global do câncer do colo do útero. Enquanto a vacinação contra o HPV visa prevenir a neoplasia do colo do útero prevenindo a infecção pelo HPV, o rastreamento visa detectar precocemente lesões pré-cancerosas do colo do útero prevalentes, como NIC de alto grau e adenocarcinoma in situ, e tratá-las de forma eficaz para prevenir o câncer invasivo e diminuir as taxas de mortalidade por câncer do colo do útero. Portanto, continuará sendo uma prioridade para a prevenção do câncer do colo do útero por várias décadas.

Foi demonstrado que o genótipo mais comumente detectado nos casos de NIC 1, NIC 2 e NIC 3 e câncer cervical foi o HPV-33, não entrando em concordância, pois segundo Bakiret *al.*(2021), a prevalência de HPV tipo 16 é o tipo de HPV mais comum em todo o mundo, com prevalência de 2,6%, e o HPV tipo 18 é o segundo tipo mais comum no mundo. Além disso, coinfeções com o HPV-33 apresentaram maior risco para abrigar lesões cervicais com maior risco de NIC 2/NIC 3. Pois o percentual encontrado com HPV33 positivo foi mais elevado entre os pacientes com NIC II/NIC III (92,7%), seguido dos casos com carcinoma (81,6%).

Conclusão

Observou-se uma variabilidade da distribuição dos diversos genótipos de papilomavírus humano em mulheres no estado do Piauí. Nas amostras estudadas foram encontrados oito tipos de HPV oncogênicos de alto risco: 33, 16, 18, 31, 58, 45, 52 e 59; onde o HPV 33 foi o mais frequente, mostrando-se diferente de outras regiões do Brasil e do mundo. Encontramos o HPV 16 e o HPV 18 como o segundo e o terceiro mais frequentes. Entretanto, os HPV 59 e 52 estavam entre os menos comuns. Os tipos não oncogênicos, HPV 11, 6 e 9, foram os mais observados, enquanto os HPV 73 e 83 foram os menos frequentes.

O conhecimento da distribuição de genótipos de HPV pode orientar na introdução de vacinas profiláticas e na determinação da epidemiologia local de genótipos circulantes do HPV de alto risco. Estudos envolvendo os genótipos de HPV e o risco de desenvolvimento de câncer cervical devem ser levados em consideração quando da elaboração de programas de vacinação contra o HPV.

Referências

A G OSTÖR. Natural History of Cervical Intraepithelial Neoplasia: A Critical Review. [S. l.], 1993.

ALARCÓN-ROMERO, Luz del Carmen *et al.* Prevalence and Distribution of Human Papillomavirus Genotypes (1997–2019) and Their Association With Cervical Cancer and Precursor Lesions in Women From Southern Mexico. *Cancer Control*, [S. l.], v. 29, p. 107327482211033, 2022. ISSN: 1073-2748. DOI: 10.1177/10732748221103331.

ALLYRIO, Thales *et al.* HUMAN PAPILLOMAVIRUS INFECTION IN WOMEN ATTENDED AT A CERVICAL CANCER SCREENING SERVICE IN NATAL, BRAZIL. *Brazilian Journal of Microbiology*, [S. l.], v. 39, p. 573–578, 2008. ISSN: 1517-8382.
 ALTSCHUP, Stephen F.; GISH, Warren; MILLER, Webb; MYERS, Eugene W.; LIPMAN, David J. Basic Local Alignment Search Tool. *J. Mol. Biol.* [s.l.: s.n.].

AMĂLINEI, Cornelia; CĂRUNTU, Irina-draga; ELIZA GIUȘCĂ, Simona; ANCA BĂLAN, Raluca. Matrix metalloproteinases involvement in pathologic conditions. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*. [s.l.: s.n.].

APARECIDA BATISTA STABILE, Sueli; HENRIQUE RAMOS EVANGELISTA, Dilson; HELENA TALAMONTE, Valdely; GAZI LIPPI, Umberto; GUEDES COELHO LOPES, Reginaldo. Estudo comparativo dos resultados obtidos pela citologia oncológica cervico-vaginal convencional e pela citologia em meio líquido. *Comparative study of the results from conventional cervico-vaginal oncolytic cytology and liquid-based cytology*. [s.l.: s.n.].

BALDEZ DA SILVA, M. F.; GUIMARÃES, V.; SILVA, M. A.; MEDEIROS DO AMARAL, C. M.; BEÇAK, W.; STOCCO, R. C.; FREITAS, A. C.; CROVELLA, S. Frequency of human papillomavirus types 16, 18, 31, and 33 and sites of cervical lesions in gynecological patients from Recife, Brazil. *Genetics and molecular research: GMR*, [S. l.], v. 11, n. 1, p. 462–466, 2012. ISSN: 16765680. ISBN: 1676-5680. DOI: 10.4238/2012.March.1.3.

BERGVALL, Monika; MELENDY, Thomas; ARCHAMBAULT, Jacques. The E1 proteins. *Virology*, [S. I.], v. 445, n. 1–2, p. 35–56, 2013. ISSN: 00426822. DOI: 10.1016/j.virol.2013.07.020.

BERNARD, Hans Ulrich; BURK, Robert D.; CHEN, Zigui; VAN DOORSLAER, Koenraad; HAUSEN, Harald Zur; DE VILLIERS, Ethel Michele. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology*, [S. I.], v. 401, n. 1, p. 70–79, 2010. ISSN: 00426822. DOI: 10.1016/j.virol.2010.02.002.

BOICEA, Ancuța; PĂTRAȘCU, Anca; ȘURLIN, V.; ILIESCU, D.; SCHENKER, M.; CHIUȚU, Luminița. Correlations between colposcopy and histologic results from colposcopically directed biopsy in cervical precancerous lesions. *Rom J MorpholEmbryol*, [S. I.], v. 2012, n. 3, p. 735–741, 2012. ISSN: 2066-8279. Disponivel em: <http://www.rjme.ro/>.

BRUNO, Adriana; SERRAVALLE, Karina; TRAVASSOS, Ana Gabriela; DE CARVALHO LIMA, Bruno Gil. Genotype distribution of human papillomavirus in women from the state of bahia, Brazil. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetricia*, [S. I.], v. 36, n. 9, p. 416–422, 2014. ISSN: 01007203. DOI: 10.1590/SO100-720320140004995.

BURK, Robert D.; HARARI, Ariana; CHEN, Zigui. Human papillomavirus genome variants. *Virology*, [S. I.], v. 445, n. 1–2, p. 232–243, 2013. ISSN: 00426822. DOI: 10.1016/j.virol.2013.07.018.

CAPRA, Giuseppina; GIOVANNELLI, Lucia; BELLAVIA, Carmelina; MIGLIORE, Maria Colomba; CALECA, Maria Pia; PERINO, Antonio; AMMATUNA, Pietro. HPV genotype prevalence in cytologically abnormal cervical samples from women living in south Italy. *Virus Research*, [S. I.], v. 133, n. 2, p. 195–200, 2008. ISSN: 01681702. DOI: 10.1016/j.virusres.2007.12.020.

CASTLE, Philip E.; SCHIFFMAN, Mark; WHEELER, Cosette M.; WENTZENSEN, Nicolas; GRAVITT, Patti E. Human papillomavirus genotypes in cervical intraepithelial neoplasia grade 3. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, [S. l.], v. 19, n. 7, p. 1675–1681, 2010. ISSN: 10559965. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0251.

Chaturvedi AK, Brinkman JA, Gaffga AM, Dumestre J, Clark RA, Braly PS, Dunlap K, Kissinger PJ and Hagensee ME. Distribution of human papillomavirus type 16 variants in human immunodeficiency virus type 1 -positive and -negative women. *J.Gen. Virol.*v. 85, p. 1237-1241, 2004.

Chaturvedi AK, Katki HA, Hildesheim A, Rodriguez AC, Quint W, Schiffman M, Van Doorn L-J, Porras C, Wacholder S, Gonzalez P, Sherman ME, Herrero R. Human Papillomavirus Infection with Multiple Types: Pattern of Coinfection and Risk of Cervical Disease. *Journal of Infectious Diseases*, v. 910, p. 203, 2011.

CHEN, Wen *et al.* Human papillomavirus type-distribution in cervical cancer in China: The importance of HPV 16 and 18. *Cancer Causes and Control*, [S. l.], v. 20, n. 9, p. 1705–1713, 2009. ISSN: 09575243. DOI: 10.1007/s10552-009-9422-z.

CLIFFORD, G. M.; SMITH, J. S.; PLUMMER, M.; MUÑOZ, N.; FRANCESCHI, S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: A meta-analysis. *British Journal of Cancer*, [S. l.], v. 88, n. 1, p. 63–69, 2003. ISSN: 00070920. DOI: 10.1038/sj.bjc.6600688.

DE SANJOSE, Silvia *et al.* Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *The Lancet Oncology*, [S. l.], v. 11, n. 11, p. 1048–1056, 2010. ISSN: 14702045. DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70230-8. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20952254>. Acesso em: 12 mar. 2018.

DEVY, Laetitia *et al.* Selective inhibition of matrix metalloproteinase-14 blocks tumor growth, invasion, and angiogenesis. *Cancer Research*, [S. l.], v. 69, n. 4, p. 1517–1526, 2009. ISSN: 00085472. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3255.

DICKSON, Elizabeth L.; VOGEL, Rachel Isaksson; GELLER, Melissa A.; DOWNS, Levi S. Cervical cytology and multiple type HPV infection: A study of 8182 women ages 31-65. *Gynecologic Oncology*, [S. l.], v. 133, n. 3, p. 405–408, 2014. ISSN: 10956859. DOI: 10.1016/j.ygyno.2014.03.552.

DOORBAR, John. The papillomavirus life cycle. *Journal of Clinical Virology Elsevier*, 2005. (SUPPL.) ISSN: 13866532. DOI: 10.1016/j.jcv.2004.12.006.

EGAWA, Kiyofumi. Do human papillomaviruses target epidermal stem cells? *Dermatology*, [S. l.], v. 207, n. 3, p. 251–254, 2003. ISSN: 10188665. DOI: 10.1159/000073085.

FERNANDES, José Veríssimo; DE VASCONCELLOS MEISSNER, Rosely; DE CARVALHO, Maria Goretti Freire; DE MEDEIROS FERNANDES, Thales Allyrio Araújo; DE AZEVEDO, Paulo Roberto Medeiros; VILLA, Luisa Lina. Prevalence of HPV infection by cervical cytologic status in Brazil. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, [S. l.], v. 105, n. 1, p. 21–24, 2009. ISSN: 00207292. DOI: 10.1016/j.ijgo.2008.12.004.

GLORIA Y.F. HO; ROBERT BIERMAN; LEAH BEARDSLEY; CHEE J. CHANG; ROBERT D. BURK. NATURAL HISTORY OF CERVICOVAGINAL PAPILLOMAVIRUS INFECTION IN YOUNG WOMEN. [s.l.: s.n.].

GO, Cynthia; MARY SCHWARTZ, Illinois R.; DONOVAN, Donald T. MOLECULAR TRANSFORMATION OF RECURRENT RESPIRATORY PAPILLOMATOSIS: VIRAL TYPING AND p53 OVEREXPRESSION. [s.l.: s.n.].

GOMES, Geilson; OLIVEIRA, D. E. UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ FACULDADE DE MEDICINA DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL MESTRADO EM PATOLOGIA ACHADOS CITO-HISTOLÓGICOS E GENÓTIPOS DE HPV OBSERVADOS NAS CÉLULAS ESCAMOSAS ATÍPICAS DE SIGNIFICADO INDETERMINADO. [s.l.: s.n.].

GONZALEZ, Maria F.; AKHTAR, Israh; MANUCHA, Varsha. Changing Trends and Practices in Cytopathology. Acta CytologicaS. Karger AG, 2017. (2) ISSN: 19382650. DOI: 10.1159/000460236.

GRAVITT, P. E.; PEYTON, C. L.; ALESSI, T. Q.; WHEELER, C. M.; COUTLÉ E, F.; HILDESHEIM, A.; SCHIFFMAN, M. H.; SCOTT, D. R.; APPLE, R. J. Improved Amplification of Genital Human PapillomavirusesJOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <http://hpv-web.lanl.gov/>.

IARC. CERVICAL CANCER SCREENING VOLUME 18 IARC HANDBOOKS OF CANCER PREVENTION. [s.l.: s.n.].

IFTNER, Thomas; VILLA, Luisa Lina. Chapter 12: Human Papillomavirus Technologies CURRENT TECHNOLOGY FOR HUMAN PAPILOMAVIRUS DNA DETECTION OF GENITAL INFECTIONSJ Natl Cancer Inst Monogr. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <https://academic.oup.com/jncimono/article/2003/31/80/951066>.

II, Masanori; YAMAMOTO, Hiroyuki; ADACHI, Yasushi; MARUYAMA, Yumiko; SHINOMURA, Yasuhisa. Role of Matrix Metalloproteinase-7 (Matrilysin) in Human Cancer Invasion, Apoptosis, Growth, and Angiogenesis. [s.l.: s.n.].

INCA. NOMENCLATURA BRASILEIRA PARA LAUDOS CERVICAIS E CONDUTAS PRECONIZADAS Recomendações para profissionais de saúde. [s.l.: s.n.]. ISBN: 8573181095.

INCA. estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil.[S. l.], 2020.

KITUNCHAROEN, Saroot; TANTBIROJN, Patou; NIRUTHISARD, Somchai. Comparison of unsatisfactory rates and detection of abnormal cervical cytology between conventional papanicolaou smear and liquid-based cytology (Sure Path®). Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, [S. l.], v. 16, n. 18, p. 8491–8494, 2016. ISSN: 15137368. DOI: 10.7314/APJCP.2015.16.18.8491.

KLETER, Bernhard *et al.* Development and Clinical Evaluation of a Highly Sensitive PCR-Reverse Hybridization Line Probe Assay for Detection and Identification of Anogenital Human Papillomavirus. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*. [s.l.: s.n.].

KOCJAN, B. J.; BZHALAVA, D.; FORSLUND, O.; DILLNER, J.; POLJAK, Mario. Molecular methods for identification and characterization of novel papillomaviruses. *Clinical Microbiology and Infection* Elsevier B.V., 2015. (9) ISSN: 14690691. DOI: 10.1016/j.cmi.2015.05.011.

KOSHIOL, Jill E. *et al.* Time to clearance of human papillomavirus infection by type and human immunodeficiency virus serostatus. *International Journal of Cancer*, [S. l.], v. 119, n. 7, p. 1623–1629, 2006. ISSN: 00207136. DOI: 10.1002/ijc.22015.

LIBRA, Massimo; SCALISI, Aurora; VELLA, Nadia; CLEMENTI, Silvia; SORIO, Roberto; STIVALA, Franca; SPANDIDOS, Demetrios A.; MAZZARINO, Clorinda. Uterine cervical carcinoma: Role of matrix metalloproteinases (review). *International Journal of Oncology* 2009. (4) ISSN: 10196439. DOI: 10.3892/ijo_00000215.

LIU, Yidie *et al.* Prevalence of human papillomavirus genotypes and precancerous cervical lesions in a screening population in Beijing, China: Analysis of results from China's top 3 hospital, 2009-2019. *Virology Journal*, [S. l.], v. 17, n. 1, 2020. ISSN: 1743422X. DOI: 10.1186/s12985-020-01383-1.

MCBRIDE, Alison A. The Papillomavirus E2 proteins. *Virology*, [S. l.], v. 445, n. 1–2, p. 57–79, 2013. ISSN: 00426822. DOI: 10.1016/j.virol.2013.06.006.

MCBRIDE, Alison A. Oncogenic human papillomaviruses. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* Royal Society Publishing, 2017. (1732) ISSN: 14712970. DOI: 10.1098/rstb.2016.0273.

MCCREDIE, Margaret R. E.; SHARPLES, Katrina J.; PAUL, Charlotte; BARANYAI, Judith; MEDLEY, Gabriele; JONES, Ronald W.; SKEGG, David C. G. Articles Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical

intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. [S. I.], p. 425, 2008. DOI: 10.1016/S1470. Disponível em: <http://oncology.thelancet.com>.

MOLIJN, Anco; KLETER, Berhard; QUINT, Wim; VAN DOORN, Leen Jan. Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. *Journal of Clinical Virology* Elsevier, 2005. (SUPPL.) ISSN: 13866532. DOI: 10.1016/j.jcv.2004.12.004.

MUÑOZ, Nubia; BOSCH, F. Xavier; DE SANJOSÉ, Silvia; HERRERO, Rolando; CASTELLSAGUÉ, Xavier; SHAH, Keerti V; SNIJDERS, Peter J. F.; MEIJER, Chris J. L. M. Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer *N Engl J Med*. [s.l.: s.n.]. Disponível em: www.nejm.org.

NANDA, Kavita; MCCRORY, Douglas C.; MYERS, Evan R.; BASTIAN, Lori A.; HASSELBLAD, Vic; HICKEY, Jason D.; MATCHAR, David B. Accuracy of the Papanicolaou Test in Screening for and Follow-up of Cervical Cytologic Abnormalities: A Systematic Review *Ann Intern Med*. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <http://annals.org/>.

NOMELINI RS; DIAS NETO GUIMARÃES, Patrícia; APARECIDA CANDIDO, Pamela; CLÁUDIA CAMARGO CAMPOS, Ana; ANTONIAZI MICHELIN, Márcia; FERNANDO CANDIDO MURTA, Eddie. Prevention of cervical cancer in women with ASCUS in the Brazilian Unified National Health System: cost-effectiveness of the molecular biology method for HPV detection. [s.l.: s.n.].

PRACHAYANGPRECHA, Slinporn *et al.* Exploring the potential of next-generation sequencing in detection of respiratory Viruses. *Journal of Clinical Microbiology*, [S. I.], v. 52, n. 10, p. 3722–3730, 2014. ISSN: 1098660X. DOI: 10.1128/JCM.01641-14.

Pirog EC, Lloveras B, Molijn A, *et al.* on behalf of the RIS HPV TT study group. HPV prevalence and genotypes in different histological subtypes of cervical adenocarcinoma, a worldwide analysis of 760 cases. *Mod. Pathol.* v. 55, 2014.

REAGAN, J. M.; SEIDEMANN, I. L.; SARACUSA, Y. THE CELLULAR MORPHOLOGY OF CARCINOMA IN SITU AND DYSPLASIA OR ATYPICAL HYPERPLASIA OF THE UTERINE CERVIX. [s.l.: s.n.].

ROY, Roopali; YANG, Jiang; MOSES, Marsha A. Matrix metalloproteinases as novel biomarkers and potential therapeutic targets in human cancer. *Journal of Clinical Oncology* 2009. (31) ISSN: 0732183X. DOI: 10.1200/JCO.2009.23.5556.

SANG, Qing-Xiang Amy; JIN, Yonghao; NEWCOMER, Robert G.; MONROE, Sara C.; FANG, Xuexun; HURST, Douglas R.; LEE, Seakwoo; CAO, Qiang; SCHWARTZ, Martin A. Matrix Metalloproteinase Inhibitors as Prospective Agents for the Prevention and Treatment of Cardiovascular and Neoplastic Diseases *Current Topics in Medicinal Chemistry*. [s.l.: s.n.].

SCHIFFMAN, Mark; CASTLE, Philip E.; JERONIMO, Jose; RODRIGUEZ, Ana C.; WACHOLDER, Sholom. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet* Elsevier B.V., 2007. (9590) ISSN: 01406736. DOI: 10.1016/S0140-6736(07)61416-0.

SCHMITT, A.; ROCHAT, A.; ZELTNER, R.; BORENSTEIN, L.; BARRANDON, Y.; WETTSTEIN, F. O.; IFTNER, And T. The Primary Target Cells of the High-Risk Cottontail Rabbit Papillomavirus Colocalize with Hair Follicle Stem Cells *JOURNAL OF VIROLOGY*. [s.l.: s.n.].

SHEN-GUNTHER, Jane; REBELES, Jennifer. Genotyping human papillomaviruses: Development and evaluation of a comprehensive DNA microarray. *Gynecologic Oncology*, [S. l.], v. 128, n. 3, p. 433–441, 2013. ISSN: 00908258. DOI: 10.1016/j.ygyno.2012.11.028.

SILVA AGUIAR, Luciana; DE PAULA, Talita; MOURA, Silva; ETLINGER, Daniela; SETUKO UMEDA YAMAMOTO, Luzia; LORETO, Di; CRISTINA BALTAR CURY, Lise; MARIA, Sônia; PEREIRA, Miranda. Critical evaluation of the diagnostic nomenclatures of cervical cytopathological exams used in the Brazilian Unified Health System (SUS). [s.l.: s.n.].

SILVIA MB CAVALCANTI; FERNANDA N CARESTIATO. A PARTÍCULA VIRAL E O GENOMA. [s.l.: s.n.].

SLOVINSKI, Bruna Gabriela; SLOVINSKI, João Gabriel; OLIVEIRA, Hugo Razini. EXAME PREVENTIVO DE COLO DO ÚTERO: ANÁLISE DO PERFIL DAS USUÁRIAS E DOS DADOS DE INCIDÊNCIA DE CÂNCER. FAG JOURNAL OF HEALTH (FJH), [S. l.], v. 2, n. 2, p. 273–283, 2020. DOI: 10.35984/fjh.v2i2.160.

SMITH, Jennifer S.; LINDSAY, Lisa; HOOTS, Brooke; KEYS, Jessica; FRANCESCHI, Silvia; WINER, Rachel; CLIFFORD, Gary M. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: A meta-analysis update. International Journal of Cancer, [S. l.], v. 121, n. 3, p. 621–632, 2007. ISSN: 00207136. DOI: 10.1002/ijc.22527.

STEBEN, Marc; DUARTE-FRANCO, Eliane. Human papillomavirus infection: Epidemiology and pathophysiology. Gynecologic Oncology, [S. l.], v. 107, n. 2 SUPPL., p. S2, 2007. ISSN: 10956859. DOI: 10.1016/j.ygyno.2007.07.067.

SUELI TEIXEIRA DE SOUZA, Néli; HUGO DO MELO, Victor; PORTO FONSECA DE CASTRO, Lúcia. Diagnóstico da Infecção pelo HPV em Lesões do Colo do Útero em Mulheres HIV + : Acuidade da Histopatologia. [s.l.: s.n.].

SUNG, Hyuna; FERLAY, Jacques; SIEGEL, Rebecca L.; LAVERSANNE, Mathieu; SOERJOMATARAM, Isabelle; JEMAL, Ahmedin; BRAY, Freddie. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA: A Cancer Journal for Clinicians, [S. l.], v. 71, n. 3, p. 209–249, 2021. ISSN: 0007-9235. DOI: 10.3322/caac.21660.

SIMÕES CB. Vacinas contra o HPV: uma visão crítica. Diagn Tratamento.2010;15(2):92-5.

SYRJÄNEN, Stina. Human papillomavirus (HPV) in head and neck cancer. Journal of Clinical VirologyElsevier, 2005. (SUPPL.) ISSN: 13866532. DOI: 10.1016/j.jcv.2004.11.017.

VACCARELLA, Salvatore *et al.* Reproductive factors, oral contraceptive use, and human papillomavirus infection: Pooled analysis of the IARC HPV prevalence surveys.

Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention, [S. l.], v. 15, n. 11, p. 2148–2153, 2006. ISSN: 10559965. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-06-0556.

VAN DOORSLAER, Koenraad. Evolution of the Papillomaviridae. Virology, [S. l.], v. 445, n. 1–2, p. 11–20, 2013. ISSN: 00426822. DOI: 10.1016/j.virol.2013.05.012.

VERNON, Suzanne D.; UNGER, Elizabeth R.; WILLIAMS, Deon. Comparison of Human Papillomavirus Detection and Typing by Cycle Sequencing, Line Blotting, and Hybrid Capture Downloaded from JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <http://jcm.asm.org/>.

WANG, Huayi; ZHANG, Xianhua; HUANG, Liming; LI, Jia; QU, Shuyun; PAN, Fenglian. Matrix Metalloproteinase-14 Expression and Its Prognostic Value in Cervical Carcinoma. Cell Biochemistry and Biophysics, [S. l.], v. 70, n. 2, p. 729–734, 2014. ISSN: 15590283. DOI: 10.1007/s12013-014-9974-8.

WILSON, Van G.; WEST, Michael; WOYTEK, Kelly; RANGASAMY, Dandapani. Papillomavirus E1 Proteins: Form, Function, and Features Virus Genes. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>.

WOODMAN, Ciaran B. J.; COLLINS, Stuart I.; YOUNG, Lawrence S. The natural history of cervical HPV infection: Unresolved issues. Nature Reviews Cancer 2007. (1) ISSN: 1474175X. DOI: 10.1038/nrc2050.

WRIGHT, Thomas C.; COX, J. Thomas; MASSAD, L. Stewart; CARLSON, Jay; TWIGGS, Leo B.; WILKINSON, Edward J. 2001 Consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia. American Journal of Obstetrics and Gynecology, [S. l.], v. 189, n. 1, p. 295–304, 2003. ISSN: 00029378. DOI: 10.1067/mob.2003.633.

YOU J; CROYLE JL; NISHIMURA A; OZATO K; HOWLEY PM. Interaction of the Bovine Papillomavirus E2 Protein with Brd4 Tethers the Viral DNA to Host Mitotic Chromosomes. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <http://www.cell.com/cgi/content/full/>.

ZHANG, Huanyu; QI, Meng; LI, Shiwang; QI, Teng; MEI, Hong; HUANG, Kai; ZHENG, Liduan; TONG, Qiangsong. MicroRNA-9 targets matrix metalloproteinase 14 to inhibit invasion, metastasis, and angiogenesis of neuroblastoma cells. *Molecular Cancer Therapeutics*, [S. l.], v. 11, n. 7, p. 1454–1466, 2012. ISSN: 15357163. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-12-0001.

ZUR HAUSEN; HARALD. Papillomaviruses and cancer: From basic studies to clinical application. *Nature Reviews Cancer* European Association for Cardio-Thoracic Surgery, 2002. (5) ISSN: 1474175X. DOI: 10.1038/nrc798

6 CONCLUSÃO

1. DNA de HPV foi detectado em amostras cervicais com a frequência de 93,7%;
2. Foram detectados oito tipos de HPV oncogênicos (alto risco): 33, 16, 18, 31, 58, 45, 52 e 59;
3. Foram detectados quatro tipos de HPV não oncogênicos (baixo risco): 6, 9, 73 e 83;
4. A frequência do HPV33 foi de 68,3% e HPV16 foi de 45,8%;
5. O HPV foi mais frequente em NICII/NICIII (35,2%);
6. Os exames histopatológicos demonstraram NIC I (neoplasia intraepitelial cervical) em 14,1%, e NIC II/III em 35,2%, enquanto que o carcinoma escamoso atingiu 30,5%, e a menos prevalente foi adeno (3,9%).
7. O HPV16 foi mais prevalente em NICII/NICIII (92,7%) enquanto o HPV 18 foi mais prevalente em carcinoma (63,2%);
8. O percentual com HPV33 positivo foi mais elevado entre os pacientes com NIC II/NIC III (92,7%), seguido dos casos com carcinoma (81,6%);
9. O conhecimento sobre os tipos prevalentes de HPV entre mulheres do estado do Piauí, pode orientar a introdução de novas vacinas profiláticas no país, além de traçar novas estratégias de atenção em saúde, diminuindo a incidência das lesões intraepiteliais e conseqüentemente do câncer cervical.

REFERÊNCIAS

- ALARCÓN-ROMERO, L. C. *et al.* Prevalence and Distribution of Human Papillomavirus Genotypes (1997–2019) and Their Association With Cervical Cancer and Precursor Lesions in Women From Southern Mexico. **Cancer Control**, v. 29, p. 107327482211033, 2022. DOI: 10.1177/10732748221103331
- ALLYRIO, T. *et al.* HUMAN PAPILOMAVIRUS INFECTION IN WOMEN ATTENDED AT A CERVICAL CANCER SCREENING SERVICE IN NATAL, BRAZIL. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 573–578, 2008.
- ALTSCHUP, S. F. *et al.* **Basic Local Alignment Search Tool**. *J. Mol. Biol.*, v. 215, n. 3, p. 403–410, 1990.
- AMĂLINEI, C. *et al.* Matrix metalloproteinases involvement in pathologic conditions. **Romanian Journal of Morphology and Embryology**, v. 51, n. 2, p. 215–228, 2010
- APPLEBY, V. B. P.; OTHERS. Cervical carcinoma and sexual behavior: collaborative reanalysis of individual data on 15,461 women with cervical carcinoma and 29,164 women without cervical carcinoma from 21 epidemiological studies. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, v. 18, n. 4, p. 1060, 2009.
- BAKIR, A. *et al.* Evaluation of human papillomavirus genotype distribution in cervical samples. **Journal of cytology**, v. 38, n. 1, p. 44, 2021.
- BALDEZ DA SILVA, M. F. *et al.* Frequency of human papillomavirus types 16, 18, 31, and 33 and sites of cervical lesions in gynecological patients from Recife, Brazil. **Genetics and molecular research**, v. 11, n. 1, p. 462–466, 2012. DOI: 10.4238/2012.March.1.3.
- BAVINCK J. N. B. *et al.* Multicenter study of the association between betapapillomavirus infection and cutaneous squamous cell carcinoma. **Cancer research**, v. 70, p. 9777–9786, 2010. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0352.
- BERGVALL, M. The E1 proteins. **Virology**, v. 445, n. 1–2, p. 35–56, 2013. DOI: 10.1016/j.virol.2013.07.020.
- BERNARD, H. U. *et al.* Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. **Virology**, v. 401, n. 1, p. 70–79, 2010. DOI: 10.1016/j.virol.2010.02.002.
- BOICEA, A. *et al.* Correlations between colposcopy and histologic results from colposcopically directed biopsy in cervical precancerous lesions. **Rom J MorpholEmbryol**, v. 2012, n. 3, p. 735–741, 2012.
- BOUNTRIS, P. *et al.* An intelligent clinical decision support system for patient-specific predictions to improve cervical intraepithelial neoplasia detection. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

BRAY, F. *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 68, n. 6, p. 394-424, 2018. DOI: 10.3322/caac.21492.

BRUNI, L. B. R. L. *et al.* Human papillomavirus and related diseases in the world. **Summary Report**, v. 17, 2019.

BRUNO, A. *et al.* Genotype distribution of human papillomavirus in women from the state of Bahia, Brazil. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetricia**, v. 36, n. 9, p. 416–422, 2014. DOI: 10.1590/SO100-720320140004995.

BURK, R. D. *et al.* Human papillomavirus genome variants. **Virology**, v. 445, n. 1–2, p. 232–243, 2013. DOI: 10.1016/j.virol.2013.07.018.

CAPRA, G. *et al.* HPV genotype prevalence in cytologically abnormal cervical samples from women living in south Italy. **Virus Research**, v. 133, n. 2, p. 195–200, 2008. DOI: 10.1016/j.virusres.2007.12.020.

CASTLE, P. E. Human papillomavirus genotypes in cervical intraepithelial neoplasia grade 3. **Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention**, v. 19, n. 7, p. 1675–1681, 2010. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0251.

CAVALCANTI, S. M. B.; CARESTIATO, F. N. Infecções causadas pelos Papilomavírus Humanos: Atualização sobre aspectos virológicos, epidemiológicos e diagnóstico – **Review. J. Bras. Doenças Sex. Transm**, v. 17, n. 1, p. 73-79, 2006.

CHEN, W. *et al.* Human papillomavirus type-distribution in cervical cancer in China: The importance of HPV 16 and 18. **Cancer Causes and Control**, v. 20, n. 9, p. 1705–1713, 2009. DOI: 10.1007/s10552-009-9422-z.

CLIFFORD, G. M. *et al.* Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: A meta-analysis. **British Journal of Cancer**, v. 88, n. 1, p. 63–69, 2003. DOI: 10.1038/sj.bjc.6600688.

COLPANI, V. *et al.* Prevalence of human papillomavirus (HPV) in Brazil: A systematic review and meta-analysis. **PLOS ONE**, v. 15, n. 2, p. e0229154, 2020. DOI: 10.1371/journal.pone.0229154.

CUSCHIERI, K. S. *et al.* Multiple high risk HPV infections are common in cervical neoplasia and young women in a cervical screening population. **Journal of Clinical Pathology**, v. 57, n. 1, p. 68-72, 2004. DOI: 10.1136/jcp.57.1.68.

DE SANJOSE, S. *et al.* Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. **The Lancet Oncology**, v. 11, n. 11, p. 1048–1056, 2010. DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70230-8.

DE VILLIERS, E. M. Classification of papillomaviruses. **Virology**, v. 324, n. 1, p. 17-27, 2004. DOI: 10.1016/j.virol.2004.03.033.

DEVY, L. *et al.* Selective inhibition of matrix metalloproteinase-14 blocks tumor growth, invasion, and angiogenesis. **Cancer Research**, v. 69, n. 4, p. 1517–1526, 2009. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3255.

DICKSON, E. L. *et al.* Cervical cytology and multiple type HPV infection: A study of 8182 women ages 31-65. **Gynecologic Oncology**, v. 133, n. 3, p. 405–408, 2014. DOI: 10.1016/j.ygyno.2014.03.552.

DOORBAR, J. The papillomavirus life cycle. **Journal of Clinical Virology**, v. 32, n. 1, p. 7-15, 2005. DOI: 10.1016/j.jcv.2004.12.006.

EGAWA, K. Do human papillomaviruses target epidermal stem cells? **Dermatology**, v. 207, n. 3, p. 251–254, 2003. DOI: 10.1159/000073085.

EKSTRÖM, J. *et al.* Three novel papillomaviruses (HPV109, HPV112 and HPV114) and their presence in cutaneous and mucosal samples. **Virology**, v. 397, n. 2, p. 331-336, 2010. DOI: 10.1016/j.virol.2009.11.027.

FERLAY, J. *et al.* Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries and 25 major cancers in 2018. **European Journal of Cancer**, v. 103, p. 356-387, 2018.

FERNANDES, J. V. *et al.* Prevalence of HPV infection by cervical cytologic status in Brazil. **International Journal of Gynecology and Obstetrics**, v. 105, n. 1, p. 21–24, 2009. DOI: 10.1016/j.ijgo.2008.12.004.

FORSLUND, O. J. *et al.* The Nasal Mucosa Contains a Large Spectrum of Human Papillomavirus Types from the Betapapillomavirus and Gammapapillomavirus Genera. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 208, n. 8, p. 1335-41, 2013. DOI: 10.1093/infdis/jit326

FREITAS, A. C. *et al.* Human Papillomavirus Vertical Transmission: review of current data. **Clinical Infectious Diseases**, v. 56, n. 10, p. 1451-1456, 2013.

FREITAS, A. C. *et al.* Susceptibility to cervical cancer: An overview. **Gynecologic Oncology (Print)**, v. 126, n. 2, p. 304-311, 2012. DOI: 10.1016/j.ygyno.2012.03.047.

GO, C. *et al.* Molecular transformation of recurrent respiratory papillomatosis: viral typing and p53 overexpression. **Ann OtolRhinolLaryngol**, v.112, n. 4, p. 298-302. DOI: 10.1177/000348940311200402.

GOMES, G. *et al.* **Achados cito-histológicos e genótipos de hpv observados nas células escamosas atípicas de significado indeterminado.** 2017. 74 f. Dissertação (Mestrado em Patologia) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, 2017.

GONZALEZ, M. F. *et al.* Changing Trends and Practices in Cytopathology. **Acta Cytologica**, v. 61, n. 2, p. 91-95, 2017. DOI: 10.1159/000460236.

GRAVITT, P. E. *et al.* Improved Amplification of Genital Human Papillomaviruses. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 1, p. 357-361, 2000. DOI: 10.1128/JCM.38.1.357-361.2000.

HAUSEN, H. Z. Papillomaviruses and cancer: From basic studies to clinical application. **Nature Reviews Cancer**, v. 2, n. 5, p. 342-350. DOI: 10.1038/nrc798

HO, G. Y. *et al.* Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. **N Engl J Med**, v. 338, n. 7, p. 423-428, 1998.

HOFFMAN, B. L. *et al.* Ginecologia de WILLIAMS. **ArtmedEditora**. 2014.
IARC. Cervical cancer screening. Lyon: **IARC Handbooks of Cancer Prevention**, 2022, v. 18.

GREEN, L. S. *et al.* Cervical cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data for 16 573 women with cervical cancer and 35 509 women without cervical cancer from 24 epidemiological studies. **The Lancet**, v. 370, n. 9599, p. 1609–1621, 2007. DOI: 10.1016/S0140-6736(07)61684-5.

HARDEN, M. E.; MUNGER, K. Human papillomavirus 16 E6 and E7 oncoprotein expression alters microRNA expression in extracellular vesicles. **Virology**, v. 508, p. 63-69, 2017. DOI: 10.1016/j.virol.2017.05.005.

IFTNER, T.; VILLA, L. L. Chapter 12: Human Papillomavirus Technologies. **JNCI Monographs**, v. 2003, n. 31, p. 80–88, 2003. DOI: 10.1093/oxfordjournals.jncimonographs.a003487

II, M. Role of Matrix Metalloproteinase-7 (Matrilysin) in Human Cancer Invasion, Apoptosis, Growth, and Angiogenesis. **Exp Biol Med (Maywood)**, v. 231, n. 1, p. 20-27. DOI: 10.1177/153537020623100103.

INCA. Nomenclatura brasileira para laudos cervicais e condutas preconizadas - Recomendações para profissionais de saúde. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 52, n. 3, p. 213-236, 2006.

INCA. **Estimativa 2020 – Incidência de câncer no brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2020.

KITUNCHAROEN, S. *et al.* Comparison of unsatisfactory rates and detection of abnormal cervical cytology between conventional Papanicolaou smear and liquid-based cytology (Sure Path®). **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 16, n. 18, p. 8491–8494, 2016. DOI: 10.7314/APJCP.2015.16.18.8491.

KLETER, B. *et al.* Development and Clinical Evaluation of a Highly Sensitive PCR-Reverse Hybridization Line Probe Assay for Detection and Identification of Anogenital Human Papillomavirus. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 8, p. 2508-2517, 1999. DOI: 10.1128/JCM.37.8.2508-2517.

- KOCJAN, B. J. *et al.* Molecular methods for identification and characterization of novel papillomaviruses. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 9, p. 808-816. DOI: 10.1016/j.cmi.2015.05.011.
- KOSHIOL, J. E. *et al.* Time to clearance of human papillomavirus infection by type and human immunodeficiency virus serostatus. **International Journal of Cancer**, v. 119, n. 7, p. 1623–1629, 2006. DOI: 10.1002/ijc.22015.
- KREMERS W. W. *et al.* HPV16-Related Cervical Cancers and Precancers Have Increased Levels of Host Cell DNA Methylation in Women Living with HIV. **Int J Mol Sci**, v. 19, n. 11, p.3297. DOI: 10.3390/ijms19113297.
- LIBRA, M. *et al.* Uterine cervical carcinoma: Role of matrix metalloproteinases (review). **International Journal of Oncology**, v. 34, n. 4, p. 897-903, 2009. DOI: 10.3892/ijo_00000215.
- LIU, Y. *et al.* Prevalence of human papillomavirus genotypes and precancerous cervical lesions in a screening population in Beijing, China: Analysis of results from China's top 3 hospital, 2009-2019. **Virology Journal**, v. 17, n. 1, 2020. DOI: 10.1186/s12985-020-01383-1.
- MATSUMOTO, K.; YOSHIKAWA, H. Human papillomavirus infection and the risk of cervical cancer in Japan. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, v. 39, p. 7-17. DOI: 10.1111/j.1447-0756.2012.01977.x
- MCBRIDE, A. A. Oncogenic human papillomaviruses. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci**, v. 372, n. 1732, p.20160273. DOI: 10.1098/rstb.2016.0273.
- MCBRIDE, A. A. The Papillomavirus E2 proteins. **Virology**, v. 445, n. 1–2, p. 57–79, 2013. DOI: 10.1016/j.virol.2013.06.006.
- MCCREDIE, M. R. E. *et al.* Articles Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. **Lancet Oncol**, v. 9, n. 5, p. 425-434, 2008. DOI: 10.1016/S1470.
- MEJLHEDE, N. *et al.* High frequency of multiple HPV types in cervical specimens from Danish women. **The APMIS Journal**, v. 117, n. 2, p. 108–114, 2009.
- MIRANDA, P. J. C. *et al.* Correlation between human papillomavirus infection and histopathological diagnosis of women in Northeast Brazil. **Journal of Medical Virology**, v. 92, p. 3799-3806, 2020. DOI: 10.1002/jmv.26101.
- MOLIJN, A. *et al.* Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. **Journal of Clinical Virology**, v. 1, p. S43-51, 2005. DOI: 10.1016/j.jcv.2004.12.004.
- MUÑOZ, N. *et al.* Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. **N Engl J Med**, v. 348, n. 6, p. 518-27, 2003. DOI: 10.1056/NEJMoa021641.

NANDA, K. *et al.* Accuracy of the Papanicolaou Test in Screening for and Follow-up of Cervical Cytologic Abnormalities: A Systematic Review. **Ann Intern Med**, v. 132, n. 10, p. 810-819, 2000. DOI: 10.7326/0003-4819-132-10-200005160-00009.

NIELSEN, A. *et al.* Type-specific HPV infection and multiple HPV types: prevalence and risk factor profile in nearly 12,000 younger and older Danish women. **Sexually Transmitted Diseases**, v. 35, n. 3, p. 276-82, 2008. DOI: 10.1097/OLQ.0b013e31815ac5c7.

NINDL, I. *et al.* Human papillomaviruses and non-melanoma skin cancer: basic virology and clinical manifestations. **Disease markers**, v. 23, n. 4, p. 247-259, 2007. DOI: 10.1155/2007/942650.

NOMELINI, R. S. *et al.* Prevention of cervical cancer in women with ASCUS in the Brazilian Unified National Health System: cost-effectiveness of the molecular biology method for HPV detection. **Cad. Saúde Pública**, v. 28, n. 11, 2012. DOI: 10.1590/S0102-311X2012001100004

OSTÖR, A. G. Natural History of Cervical Intraepithelial Neoplasia: A Critical Review. **Int J Gynecol Pathol**, v. 12, n. 2, p. 186-192, 1993.

PRACHAYANGPRECHA, S. *et al.* Exploring the potential of next-generation sequencing in detection of respiratory Viruses. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 52, n. 10, p. 3722–3730, 2014. DOI: 10.1128/JCM.01641-14.

PAVE. **The Papillomavirus Episteme**. Disponível em: <<https://pave.niaid.nih.gov/>>. Acesso em: 21 set. 2023.

PESSINI, S. A.; SILVEIRA, G. P. G. Prevenção do câncer do colo uterino. *In*: SILVEIRA, G. P. G. Ginecologia preventiva. Porto Alegre: **Artes Médicas**, 1994, p. 192-200.

RABELO-SANTOS, S. *et al.* Human papillomavirus prevalence among women with cervical intraepithelial neoplasia III and invasive cervical cancer from Goiânia, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 2, p. 181–184, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762003000200003>

REAGAN, J. M. *et al.* The cellular morphology of carcinoma in situ and dysplasia or atypical hyperplasia of the uterine cervix. **Cancer**, v. 6, n. 2, p. 224-34, 1953. DOI: 10.1002/1097-0142(195303)6:2<224:aid-cnrc2820060203>3.0.co;2-h.

RICHART, R. M. A modified terminology for cervical intraepithelial neoplasia. **Obstetrics & Gynecology**, v. 75, n. 1, p. 131-133, 1990.

RICHART, R. M. Cervical intraepithelial neoplasia. **Pathol Annu**, v. 8, p. 301-328, 1973.

RICHART, R. M. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, v. 10, n. 4, p. 748-784, 1967.

ROY, R. Matrix metalloproteinases as novel biomarkers and potential therapeutic targets in human cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v. 27, n. 31, p. 5287-5297. DOI: 10.1200/JCO.2009.23.5556.

SANG, Q. A. *et al.* Matrix Metalloproteinase Inhibitors as Prospective Agents for the Prevention and Treatment of Cardiovascular and Neoplastic Diseases. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 6, n. 4, p. 289-316, 2006. DOI: 10.2174/156802606776287045.

SANKARANARAYANAN, R. *et al.* Early detection of cervical cancer with visual inspection methods: A summary of completed and on-going studies in India. **Salud Publica Mex**, v. 45, n. 3, p. S399-407, 2003. DOI: 10.1590/s0036-36342003000900014.

SCHIFFMAN, M. Human papillomavirus and cervical cancer. **Lancet**, v. 370, n. 9590, p. 890-907, 2007. DOI: 10.1016/S0140-6736(07)61416-0.

SCHMITT, A. The Primary Target Cells of the High-Risk Cottontail Rabbit Papillomavirus Colocalize with Hair Follicle Stem Cells. **Journal of Virology**, v. 70, n. 3, p. 1912-1922, 1996. DOI: 10.1128/JVI.70.3.1912-1922.

SELLORS, J.W.; SANKARANARAYANAN, R. Colposcopia e tratamento da neoplasia intra-epitelial cervical: Manual para principiantes. Washington DC: **IARC Press**, 2004. Disponível em: <<https://screening.iarc.fr/doc/colpoptmanual.pdf>>. Acesso em: 10 set. 2023.

SHAFI, M. L. *et al.* Randomized trial of immediate versus deferred treatment strategies for the management of minor cervical cytological abnormalities. **Br J Obstet Gynaecol**, v. 194, p. 590-4, 1997.

SHEN-GUNTHER, J.; REBELES, J. Genotyping human papillomaviruses: Development and evaluation of a comprehensive DNA microarray. **Gynecologic Oncology**, v. 128, n. 3, p. 433-441, 2013. DOI: 10.1016/j.ygyno.2012.11.028.

SILVA AGUIAR, L. *et al.* Critical evaluation of the diagnostic nomenclatures of cervical cytopathological exams used in the Brazilian Unified Health System (SUS). **Rev Bras Ginecol Obstet**, v. 33, n. 3, p. 144-149. DOI: 10.1590/s0100-72032011000300008.

SILVA NETO, J. C. Citologia clínica do trato genital feminino. **Thieme Revinter**, Ed. 2, 2020.

SLOVINSKI, B. G. *et al.* Exame preventivo de colo do útero: análise do perfil das usuárias e dos dados de incidência de câncer. **FAG Journal Of Health**, v. 2, n. 2, p. 273-283, 2020. DOI: 10.35984/fjh.v2i2.160.

SMITH, J. S. 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. DOI: 10.1002/ijc.22527.

SOLOMON D. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology: Definitions, Criteria, and Explanatory Notes. New York: **Springer**, Ed. 1, 2001.

SOLOMON, D. *et al.* The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology: Definitions, Criteria, and Explanatory Notes. New York: **Springer**, ed 3, 2018.

STABILE, S. A. B. *et al.* Estudo comparativo dos resultados obtidos pela citologia oncológica cérvico-vaginal convencional e pela citologia em meio líquido. **Einsten**, v. 10, n. 4, p. 466-472, 2012.

STEBEN, M.; DUARTE-FRANCO, E. Human papillomavirus infection: Epidemiology and pathophysiology. **Gynecologic Oncology**, v. 107, n. 2, p. S2, 2007. DOI: 10.1016/j.ygyno.2007.07.067.

SOUZA, S. T. *et al.* Diagnóstico da Infecção pelo HPV em Lesões do Colo do Útero em Mulheres HIV +: Acuidade da Histopatologia. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet**, v. 23, n. 6, 2001. DOI: 10.1590/S0100-72032001000600003

SUNG, H. *et al.* Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA: **A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209–249, 2021. DOI: 10.3322/caac.21660.

SYRJÄNEN, S. Human papillomavirus (HPV) in head and neck cancer. **Journal of Clinical Virology**, v. 32, n. 1, p. S59-66. DOI: 10.1016/j.jcv.2004.11.017.

VACCARELLA, S. *et al.* Reproductive factors, oral contraceptive use, and human papillomavirus infection: Pooled analysis of the IARC HPV prevalence surveys. **Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention**, v. 15, n. 11, p. 2148–2153, 2006. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-06-0556.

VAN DOORSLAER, K. Evolution of the Papillomaviridae. **Virology**, v. 445, n. 1–2, p. 11–20, 2013. DOI: 10.1016/j.virol.2013.05.012.

VERNON, S. D. *et al.* Comparison of Human Papillomavirus Detection and Typing by Cycle Sequencing, Line Blotting, and Hybrid Capture Downloaded from. **Journal Of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 2, p. 651-655. DOI: 10.1128/JCM.38.2.651-655.2000.

VIENS, L. J. *et al.* Human Papillomavirus-Associated Cancers - United States, 2008-2012. **Morb Mortal Wkly Rep**, v. 65, n. 26, p. 661-6. DOI: 10.15585/mmwr.mm6526a1.

WANG, H. *et al.* Matrix Metalloproteinase-14 Expression and Its Prognostic Value in Cervical Carcinoma. **Cell Biochemistry and Biophysics**, v. 70, n. 2, p. 729–734, 2014. DOI: 10.1007/s12013-014-9974-8.

WILSON, V. G. *et al.* Papillomavirus E1 Proteins: Form, Function, and Features. **Virus Genes**, v. 24, p. 275–290, 2002. DOI: 10.1023/A:1015336817836

WOODMAN, C. B. J. *et al.* The natural history of cervical HPV infection: Unresolved issues. **Nature Reviews Cancer**, v. 7, n. 1, p. 11-22. DOI: 10.1038/nrc2050.

WRIGHT, T. C. *et al.* 2001 Consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 189, n. 1, p. 295–304, 2003. DOI: 10.1067/mob.2003.633.

YOU, J. Interaction of the Bovine Papillomavirus E2 Protein with Brd4 Tethers the Viral DNA to Host Mitotic Chromosomes. **Cell**, v. 117, n. 3, p. 349-60. DOI: 10.1016/s0092-8674(04)00402-7.

ZHANG, H. *et al.* MicroRNA-9 targets matrix metalloproteinase 14 to inhibit invasion, metastasis, and angiogenesis of neuroblastoma cells. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 11, n. 7, p. 1454–1466, 2012. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-12-0001.

WHO. WHO Guidelines for Screening and Treatment of Precancerous Lesions for Cervical Cancer Prevention. Geneva: **World Health Organization**, 2020.

WU, M. T. *et al.* Lifetime exposure to environmental tobacco smoke and cervical intraepithelial neoplasms among nonsmoking Taiwanese women. **Arch Environ Health**, v. 58, p. 353-359, 2003.

ANEXO A**REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE HISTOLOGIA E EMBRIOLOGIA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convido a Sra. para participar como voluntária da pesquisa “Estudo molecular da carcinogênese das lesões cervicais: da pré-invasão a invasão”.

Após ser esclarecida sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa você não será penalizada de forma alguma. Em caso de dúvida você pode procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: (Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, Sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: 2126.8588 – e-mail: cepccs@ufpe.br). INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Título do Projeto: ESTUDO MOLECULAR DA CARCINOGENESE DAS LESÕES CERVICAIS: DA PRÉ-INVASÃO A INVASÃO

Pesquisador Responsável: Prof. Dr. Jacinto da Costa Silva Neto Endereço/Telefone/e-mail para contato (inclusive ligações a cobrar):

Av.Prof. Moraes Rego, s/n – Departamento de Histologia e Embriologia-CCB, Universidade Federal de Pernambuco, CEP 50670-901, Fone: 2126-8515, e-mail: jacinto.costa@ufpe.br Pesquisador participante: Ismael Gomes da Rocha

Telefones para contato: 81-2126-8515

OBJETIVOS: Avaliar o perfil genotípico das infecções por HPV, a expressão dos genes E5, E6 e E7 do HPV e expressão de metaloproteinases da matriz em mulheres portadoras de lesões cervicais em vários estágios de progressão.

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO: Se concordar em participar da pesquisa, você responderá a um questionário sobre alguns hábitos de vida, que podem facilitar a infecção pelo HPV e o aparecimento de lesões no colo do útero. Todas as informações que você der, bem como seu nome, serão mantidas em sigilo (segredo), ou seja, só terão acesso a essas informações os pesquisadores envolvidos na pesquisa. Além disso, você permitirá a utilização de uma amostra da biopsia e da citologia, que já serão coletados de você como parte da rotina de exames para a prevenção do câncer cervical. Também permitirá a retirada do bloco de biopsia após ser utilizado para o seu diagnóstico, sendo garantida a posterior devolução do mesmo ao serviço do hospital. Nós utilizaremos uma parte das amostras para desenvolver o nosso estudo, que tem como objetivo encontrar uma melhor forma de prevenção e tratamento do câncer cervical.

RISCOS E DESCONFORTOS: A paciente pode se sentir constrangida em responder ao questionário referente aos fatores de risco para desenvolvimento do câncer cervical. Os pesquisadores envolvidos na aplicação do questionário explicarão primeiramente do que se trata o projeto e a importância da colaboração da paciente para o estudo, deixando-a a vontade para decidir se deseja ou não fazer parte, de forma a minimizar esse desconforto. O risco na coleta de biopsia é inerente ao próprio procedimento de rotina para prevenção do câncer cervical, não estando relacionado ao presente projeto de pesquisa. A paciente pode sentir um desconforto no local em que será retirada a biopsia; caso ocorra, o médico irá realizar o tratamento adequado.

BENEFÍCIOS: Será possível retribuir a colaboração voluntária das pacientes com a detecção e identificação dos tipos de HPV de alto risco mais prevalentes na nossa região, presente nas amostras coletadas, auxiliando no diagnóstico preventivo do câncer cervical.

CUSTO/REEMBOLSO PARA O PARTICIPANTE: Não haverá nenhum gasto com sua participação. As consultas, exames e tratamentos oferecidos pelo hospital serão totalmente gratuitos, não recebendo nenhuma cobrança pela sua participação neste estudo. Você também não receberá nenhum pagamento com a sua participação. Você

pode retirar o consentimento a qualquer tempo, sem qualquer prejuízo da continuidade do acompanhamento/tratamento usual.

CONFIDENCIALIDADE DA PESQUISA: Todos os dados referentes a presente pesquisa serão armazenados no servidor do Departamento de Histologia e Embriologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, sob responsabilidade do Prof. Jacinto da Costa Silva Neto, com acesso restrito aos pesquisadores, durante o período de vigência do projeto.

Assinatura do Pesquisador Responsável:

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO

Eu,

_____, RG/C

PF _____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo, como sujeito. Fui devidamente informado(a) e esclarecido(a) pelo(a) pesquisador(a) _____ sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/assistência/ tratamento.

Recife, ____ de _____ de 20 ____.

Assinatura do sujeito ou responsável: _____

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar.

02 testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome: _____

Assinatura: _____

Nome: _____

Assinatura: _____

ANEXO B**PARECER CONSUBSTANCIADO PE**

ASSOCIAÇÃO PIAUENSE DE COMBATE AO CÂNCER /HOSPITAL SÃO MARCOS

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTUDO MOLECULAR DA CARCINOGENESE DAS LESÕES CERVICAIS: DA PRÉ-INVASÃO A INVASÃO

Pesquisador: Jacinto da Costa Silva Neto

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 17068913.6.3002.5584

Instituição Proponente: CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A CIÊNCIA E TECNOLOGIA - FACEPE MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.514.401

Apresentação do Projeto:

O Câncer de colo uterino ocupa o terceiro lugar em mulheres em todo mundo. Estudos constataram que a infecção seguida da persistência do Papilomavirus Humano (HPV) tem papel principal no surgimento e progressão das lesões cervicais. Entre os seus mecanismos de indução ao câncer encontram-se as oncoproteínas E6 e E7 com capacidade de modificar o ciclo celular devido, principalmente a mutação da proteína p16INK4A, pRB e p53. O processo de progressão celular envolve proteínas virais e do hospedeiro, entre elas as oncoproteínas E6, E7 e as metaloproteinases da matriz

(MMP), as quais podem está associadas aos processos de invasão, metástase e recidiva tumoral devido à capacidade de degradação das macromoléculas da matriz. Coletivamente têm a capacidade de degradar todas as proteínas componentes da matriz extracelular e das membranas basais. Os queratinócitos são células produtoras de MMP. O objetivo desse estudo é analisar a progressão das lesões cervicais, desde suas alterações citológicas mínimas (ASC-US), histológicas (NIC-I) até a invasão (carcinoma cervical e adenocarcinoma) correlacionando as expressões dos proteínas E5, E6, E7 e Metaloproteinases da matriz e inibidores (MMP-2, MMP-3, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 e RECK) através das técnicas de citologia oncótica, histopatologia, imunohistoquímica, detecção, sequenciamento e genotipagem para vários tipos de DNA-HPV e análise da expressão dos genes E6 e E7 por RNAm através da técnica de PCR em

Endereço: Rua Olavo Bilac 2300

Bairro: centro **CEP:** 64.001-180

UF: PI **Município:** TERESINA

Telefone: (86)2106-8102 **Fax:** (86)2106-8102

E-mail: cep.hsm@saomarcos.org.br

ANEXO C



ASSOCIAÇÃO PIAUENSE DE COMBATE AO CÂNCER / HOSPITAL SÃO MARCOS

Continuação do Parecer: 1.514.401

tempo real. O perfil das proteínas estudadas poderá esclarecer melhor os mecanismos envolvidos na progressão tumoral, auxiliando no diagnóstico, na precisão diagnóstica das lesões, conforme seu grau de estadiamento e na terapêutica que envolvem inibidores de MMP.

Objetivo da Pesquisa:

Correlacionar o perfil genotípico das infecções por HPV, a expressão dos genes E5, E6, E7, proteína p16INK4A e das metaloproteinasas em mulheres portadoras de lesões cervicais em vários estágios de progressão.

Verificar o perfil genotípico dos HPV presentes em mulheres portadoras de lesões cervicais; Correlacionar os genótipos encontrados com os graus de lesões cervicais; Conhecer os níveis de expressão dos genes E5, E6, E7, proteína p16INK4A e das Metaloproteinasas em diferentes graus de lesões cervicais; Associar a expressão de E5, E6, E7 e Metaloproteinasas; Associar a expressão de Metaloproteinasas, E5, E6 e E7 aos diagnósticos citológico, histológico e colposcópico; Constatar a taxa de multinfecções, relacionando com o grau histológico da lesão; Avaliar os cofatores envolvidos com a infecção por HPV.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O presente estudo não trará risco adicional às mulheres participantes, visto que iremos estudar os resultados obtidos entre os exames complementares de diagnóstico citológico, colposcópico e anátomo patológico realizar os experimentos propostos com o material remanescente das técnicas empregadas de rotina do serviço hospitalar nas mulheres que preenchem os critérios de inclusão. Para a obtenção de peças para o estudo anátomo patológico, usaremos a biópsia dirigida,

segundo a técnica usual e usaremos para tal a pinça de biópsia tipo saca-bocados como a GaylorMedina.

Benefícios: Ao participar desta pesquisa as pacientes não terão nenhum benefício direto, pois o procedimento seria feito de qualquer maneira, seguindo as técnicas e protocolos estabelecidos pelo Ministério da Saúde. Entretanto, esperamos que este estudo traga informações importantes sobre as lesões do colo uterino, de forma que o conhecimento que será construído a partir desta pesquisa possa contribuir no diagnóstico e tratamento precoce das lesões cervicais.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo será realizado através do método observacional, analítico transversal. O presente trabalho será realizado após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa das instituições participantes, obedecendo integralmente os princípios éticos estabelecidos na resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (CNS). Os pacientes e familiares que, após informação,

Endereço: Rua Olavo Bilac 2300

Bairro: centro **CEP:** 64.001-180

UF: PI **Município:** TERESINA

Telefone: (86)2106-8102 **Fax:** (86)2106-8102

E-mail: cep.hsm@saomarcos.org.br

Página 02 de 04



ASSOCIAÇÃO PIAUENSE DE COMBATE AO CÂNCER / HOSPITAL SÃO MARCOS

Continuação do Parecer: 1.514.401

concordarem em participar da pesquisa, assinarão o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). A identidade das participantes será mantida em sigilo absoluto

e o projeto não interferirá nos procedimentos de rotina dos serviços participantes. Por meio de emendas, o CEP foi notificado da necessidade de inclusão de novos pesquisadores e outras instituições, bem como da necessidade de prolongar o cronograma de execução da pesquisa. Demais aspectos do desenho e metodologia estão adequados e já previamente avaliados em pareceres anteriores.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados os seguintes documentos: projeto, folhas de rosto, cartas de anuência das instituições, emendas, justificativas, autorizações para uso de dados, termo de confidencialidade, currículos dos participantes.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto atende às normas éticas vigentes e encontra-se apto para sua execução.

Considerações Finais a critério do CEP:

Após discussão do colegiado o projeto foi aprovado.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASI CAS_682516 _E3.pdf	18/03/2016 10:01:05		Aceito
Parecer Anterior	parecer_jacinto_ emenda.pdf	18/03/2016 09:59:51	Jacinto da Costa Silva Neto	Aceito

Folha de Rosto	folha_rosto.pdf	18/03/2016 09:58:22	Jacinto da Costa Silva Neto	Aceito
Outros	cv_ismael.docx	18/03/2016 09:56:00	Jacinto da Costa Silva Neto	Aceito
Outros	justificativa_emendacop articipante.docx	18/03/2016 09:53:43	Jacinto da Costa Silva Neto	Aceito
Outros	CartaAnuenciah ospUFPI.pdf	26/02/2016 09:12:09	Débora Viviane Albuquerque Granja Santana	Aceito
Outros	Carta_de_Anuen cia_SAME.jpg	15/01/2016 23:59:47	Jacinto da Costa Silva Neto	Aceito
Outros	Autorizacao_de_uso_de _dados.jpg	15/01/2016 23:59:01	Jacinto da Costa Silva Neto	Aceito

Endereço: Rua Olavo Bilac 2300

Bairro: centro **CEP:** 64.001-180

UF: PI **Município:** TERESINA

Telefone: (86)2106-8102 **Fax:** (86)2106-8102 **Email:** cep.hsm@saomarcos.org.br



ASSOCIAÇÃO PIAUENSE DE
COMBATE AO CÂNCER /
HOSPITAL SÃO MARCOS

Continuação do Parecer: 1.514.401

Outros	Anuencia_HISLA.pdf	15/01/2016 23:57:22	Jacinto da Costa Silva Neto	Aceito
Outros	Anuencia_HSMarcos.pdf	15/01/2016 23:56:17	Jacinto da Costa Silva Neto	Aceito
Outros	Anuencia_HGV.pdf	15/01/2016 23:55:26	Jacinto da Costa Silva Neto	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_2016_01_15.doc	15/01/2016 23:51:42	Jacinto da Costa Silva Neto	Aceito
Outros	projeto-metaloo-- 2015-04-02-b.docx	02/04/2015 17:41:25		Aceito
Outros	Carta_anuencia- Marilea-2013-08- 20.pdf	20/08/2013 15:01:05		Aceito
Outros	TERMO DE CONFIDENCIALIDAD E- 2013-08-20.pdf	20/08/2013 12:49:56		Aceito
Outros	Lattes-Antonio- 2013-08-20.pdf	20/08/2013 12:48:19		Aceito
Outros	Lattes-Marilea-2013- 08-20.pdf	20/08/2013 12:46:03		Aceito
Outros	Lattes-Jacinto-2013- 08-20.pdf	20/08/2013 12:45:44		Aceito
Outros	Carta_anuencia- Marilea-2013-08- 20.pdf	20/08/2013 12:44:53		Aceito

Outros	Carta_anuencia-ccb-2013-08-20.pdf	20/08/2013 12:39:47	Aceito
--------	-----------------------------------	------------------------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

TERESINA, 18 de Abril de 2016

Assinado por: Neylany Raquel Silva (Coordenador)

ANEXO D

PARECER CONSUBSTANCIADO PI

ASSOCIAÇÃO PIAUIENSE DE COMBATE AO CÂNCER
Hospital São Marcos
 Rua Olavo Bilac, 2300 • Telefone 086 2106 8000 • Fax 086 2106 8074
 C.G.C. 06870026/0001-77 • I. E. Isento • 64001-280 Teresina - Piauí


SÃO MARCOS
Para toda vida

Fundada a 12 de novembro de 1953

•

Considerada de Utilidade Pública pela Lei Estadual nº 1.019 de 09 de junho de 1954

•

Considerada de Utilidade Pública Municipal pela Lei nº 1.414 de 12 de maio de 1973

•

Considerada de Utilidade Pública Federal pelo Decreto nº 89.057 de 24 de novembro de 1983

•

Certificado Definitivo de Entidade de Fins Filantrópicos expedido em 19 de março de 1984, pelo Conselho Nacional de Serviço Social do Ministério de Educação e Cultura

•

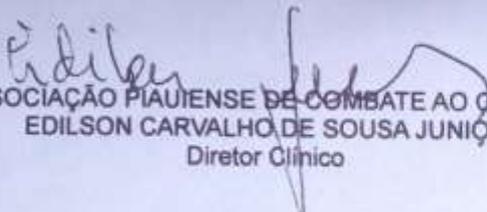
Cadastrada na Divisão Nacional de Doenças Crônicas - Degenerativas Processo DNC 9.918/72

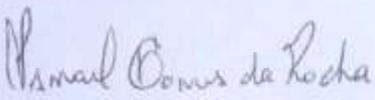
DECLARAÇÃO

A ASSOCIAÇÃO PIAUIENSE DE COMBATE AO CÂNCER, pessoa jurídica de direito privado, inscrita no CNPJ nº 06.870.026/0001-77, estabelecida na Rua Olavo Bilac nº 2300, bairro centro, em Teresina-PI, neste ato representada por seu Presidente **ALCENOR BARBOSA DE ALMEIDA**, declara que os pesquisadores Jacinto da Costa Silva Neto e Ismael Gomes da Rocha, submeteram a esta Entidade o projeto de pesquisa intitulado "Estudo molecular da carcinogênese das lesões cervicais: da pré-invasão a invasão", ciente de que a realização da pesquisa está condicionada a aprovação do referido projeto pelo Comitê de Ética e Pesquisa desta Entidade.

Declara ainda, que esta Entidade possui a infraestrutura necessária para a realização do projeto em questão.

Teresina, 23 de dezembro de 2015.


 ASSOCIAÇÃO PIAUIENSE DE COMBATE AO CÂNCER
 EDILSON CARVALHO DE SOUSA JUNIOR
 Diretor Clínico



APÊNDICE A – ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA BRAZILIAN JOURNAL OF DEVELOPMENT



Brazilian Journal of Development | 19307
ISSN: 2525-8761

Caracterização do perfil histopatológico das lesões intra-epiteliais escamosas ou invasivas em mulheres atendidas no Hospital São Marcos em Teresina-Piauí

Characterization of the histopathological profile of squamous or invasive intra-epithelial lesions in women attended at Hospital São Marcos in Teresina-Piauí

DOI:10.34117/bjdv8n3-258

Recebimento dos originais: 14/02/2022
Aceitação para publicação: 21/03/2022

Ismael Gomes da Rocha

Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco
Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/nº, Cidade Universitária Recife – Pernambuco, Brasil, CEP: 50670-901
E-mail: ismaelroch@gmail.com

Romildo Luciano da Silva

Mestre em Morfotecnologia
Departamento de Histologia e Embriologia, Centro de Ciências Biológicas
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco
Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/nº, Cidade Universitária Recife – Pernambuco, Brasil, CEP: 50670-901
E-mail: romildo14luciano@gmail.com

Giwellington Silva Albuquerque

Doutor em Biologia Celular e Molecular Aplicada
Instituição: Universidade de Pernambuco
Endereço: Rua Arnóbio Marques, 310, Santo Amaro Recife – Pernambuco, Brasil, CEP: 50100-130
E-mail: giwellington@hotmail.com

Kelly Beatriz Vieira de Oliveira

Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia
Instituição: Universidade Federal do Piauí
Endereço: Ininga, sala 15, Teresina - Piauí, Brasil, CEP: 64049-550
E-mail: vieira.beatriz.kelly@hotmail.com

Eduardo Isidoro Carneiro Beltrão

Pós-Doutor em Imunologia de Tumores
Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco
Av. Prof. Moraes Rego, s/nº, Cidade Universitária Recife - Pernambuco, Brasil, CEP: 50670-901
E-mail: ebeltrao@hotmail.com


Jacinto da Costa Silva Neto

Pós-doutor pela McGill University

Departamento de Histologia e Embriologia, Centro de Ciências Biológicas

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

 Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/nº, Cidade Universitária Recife – Pernambuco,
 Brasil, CEP: 50670-901

E-mail: jacintocosta@hotmail.com

RESUMO

A neoplasia do colo uterino desponta como uma das principais causas de câncer e óbitos em mulheres em todo o mundo. Sendo o quarto tipo de câncer mais comum entre as mulheres, e o segundo em número de mortes, segundo as estimativas mundiais. O exame histopatológico consiste no diagnóstico definitivo para as lesões cervicais, sendo considerado padrão ouro. A lesão inicial é biopsiada, dirigida pela colposcopia, que muitas vezes também serve como terapêutica. Dada a importância do histopatológico no diagnóstico precoce de lesões intra-epiteliais escamosas como forma de combater a alta incidência de câncer de colo de útero, este estudo objetivou avaliar o perfil destas lesões em mulheres residentes no estado do Piauí, a partir do arquivo de laudos histopatológicos do sistema de informações do câncer do colo do útero (SISCOLO), fornecidas pelo Hospital São Marcos – Teresina – Piauí. Na parte retrospectiva, os 96 blocos analisados eram: NIC I 8 casos (8,51%), NIC II 11 casos (11,70%), NIC III 34 casos (36,17%), Carcinoma invasor/Adenocarcinoma 33 casos (35,11%) e Carcinoma Microinvasor 8 casos (8,51%). A média de idade das pacientes pertencentes a este estudo foi de 49 anos. Sendo estas, 57 (60,64%) vindas do interior do estado e 37 (39,33%) da capital Teresina. Na parte prospectiva com 49 amostras, na qual a média de idade entre elas foi de 40 anos. Sendo estas, 37 (77,1%) oriundas do interior do estado e 11 (22,9%) da capital. Onde foram feitas associações dos laudos histopatológicos com idade, origem, etilismo, coitarcia, número de parceiros, onde as estatísticas não foram significativas. O câncer do colo uterino é uma das neoplasias com maior chance de cura quando diagnosticado precocemente. Sendo extremamente importante que o rastreamento ocorra com ampla cobertura e de forma regular para a sua efetividade.

Palavras-chave: histopatológico, câncer cervical, hpv.

ABSTRACT

The cervical cancer emerges as one of the leading causes of cancer and death in women worldwide. It is the fourth most common type of cancer among women, and the second in number of deaths, according to worldwide estimates. The histopathological examination is the definitive diagnosis for cervical lesions, and is considered the gold standard. The initial lesion is biopsied, directed by colposcopy, which often also serves as therapy. Given the importance of histopathology in the early diagnosis of squamous intraepithelial lesions as a way to combat the high incidence of cervical cancer, this study aimed to evaluate the profile of these lesions in women residing in the state of Piauí, from the file of histopathology reports of the information system of cervical cancer (SISCOLO), provided by the São Marcos Hospital - Teresina - Piauí. In the retrospective part, the 96 blocks analyzed were: CIN I 8 cases (8.51%), CIN II 11 cases (11.70%), CIN III 34 cases (36.17%), Invasive carcinoma/denocarcinoma 33 cases (35.11%) and Microinvasive carcinoma 8 cases (8.51%). The mean age of the patients belonging to this study was 49 years. These were 57 (60.64%) from the interior of the state and 37 (39.33%) from the capital Teresina. In the prospective part with 49 samples, in which the average



age among them was 40 years. These were 37 (77.1%) from the interior of the state and 11 (22.9%) from the capital. The histopathology reports were associated with age, origin, alcoholism, coitus, and number of partners, but the statistics were not significant. Cervical cancer is one of the most curable neoplasms when diagnosed early. It is extremely important that screening occurs with wide coverage and on a regular basis for its effectiveness.

Keywords: histopathology, cervical cancer, hpv.

1 INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que até 2030 surjam 27 milhões de novos casos de câncer. No Brasil, o câncer configura-se como problema de saúde pública, uma vez que as neoplasias ganham destaque crescente, apresentando-se em segundo lugar em morbimortalidade no país (Fripp JC, 2014).

O câncer do colo do útero é um dos mais frequentes tumores na população feminina e é causado pela infecção persistente por alguns tipos do papilomavirus humano (HPV). A infecção genital por esse vírus é muito frequente e não causa doença na maioria das vezes. Entretanto, em alguns casos, ocorrem alterações celulares que podem evoluir para o câncer. Essas alterações são descobertas facilmente no exame preventivo (conhecido também como Papanicolaou) e são curáveis na quase totalidade dos casos (INCA, 2019).

A estimativa mundial aponta que o câncer do colo do útero foi o quarto mais frequente em todo o mundo, com uma estimativa de 570 mil casos novos, representando 3,2% de todos os cânceres. Esse valor corresponde a um risco estimado de 15,1/100 mil mulheres. Sendo que as taxas de incidência mais elevadas foram estimadas para os países do Continente Africano (Essuatini ou Suazilândia – 51,2/100 mil e África do Sul – 43,9/100 mil) (BRAY et al., 2018; FERLAY et al., 2018).

O número de casos novos de câncer do colo do útero esperados para o Brasil, para cada ano do triênio 2020-2022, será de 16.590, com um risco estimado de 15,43 casos a cada 100 mil mulheres. (INCA, 2020)

Sem considerar os tumores de pele não melanoma, o câncer do colo do útero é o segundo mais incidente nas Regiões Norte (21,20/100 mil), Nordeste (17,62/100 mil).

No Estado do Piauí, por exemplo, houve uma taxa bruta de incidência estimada de 23,19 casos de câncer do colo do útero para cada 100 mil mulheres, com uma taxa



esperada de 390 novos casos no estado e 100 na capital Teresina, para o triênio 2020-2022 (INCA, 2020).

Outros fatores que aumentam o risco de desenvolver esse tipo de câncer são: início precoce da atividade sexual e múltiplos parceiros; tabagismo (a doença está diretamente relacionada à quantidade de cigarros fumados); e uso prolongado de pílulas anticoncepcionais (INCA, 2019)

A despeito dos dados epidemiológicos terem demonstrado uma diminuição das taxas de novos casos de câncer cervical nas últimas três décadas, a incidência do câncer de colo do útero permanece elevada (WHO, 2014).

O desenvolvimento do câncer de colo uterino está diretamente relacionado à infecção persistente pelo HPV (BOSCH FX et al., 2008). Estimativas mundiais indicam que aproximadamente 20% de indivíduos normais estão infectados pelo HPV, e a cada ano surgem em torno de 500.000 casos novos de câncer de colo uterino, dos quais cerca de 70% ocorrem em países subdesenvolvidos. Além disso, acredita-se que nessas regiões ocorram de 10 a 20 vezes mais lesões precursoras deste tipo tumoral, o que significa um número elevado de indivíduos acometidos por essa doença (TERMINI L, et al., 2008).

A incidência, no Brasil, evidencia-se a partir dos 20 aos 29 anos, e o maior risco encontra-se na faixa etária de 45 a 49 anos. Entretanto, a mortalidade resulta mais significativa à medida que aumenta a idade em virtude do prolongado período que compreende a transmissão sexual do HPV, o adoecimento e a morte por câncer do colo do útero (MINISTERIO DA SAUDE, 2019). Traçando perfis de morbimortalidade evitáveis e que conjecturam a iniquidade em saúde. O câncer do colo do útero afeta as mulheres de menor nível socioeconômico e com dificuldades de acesso aos serviços de saúde (INCA, 2020).

De todas as neoplasias malignas associadas ao HPV, o câncer cervical é, sem dúvida a mais importante, causando morbidade e mortalidade significativas em todo o mundo (GLOBOCAN, 2020).

Vários estudos investigaram a contribuição dos genótipos de HPV entre os casos de câncer cervical na população brasileira, onde relataram que o HPV16 e 18 como o HPV mais frequente Tipos, seguido por HPV 31, enquanto os HPV16, HPV31, HPV33 e HPV58 são os genótipos de HPV mais comuns encontrados em amostras cervicais do Nordeste do Brasil.(GURGEL A.,2013). Dados epidemiológicos mostraram que HPV16 e HPV18 são responsáveis por 70% dos casos de invasivo de câncer cervical em todo o mundo (SANJOSE S.,2010)



As lesões intra-epiteliais escamosas do colo do útero são comprovadamente precursoras do câncer cervical. Vários exames são utilizados na avaliação e diagnósticos dessas lesões. Dentre eles, destacam-se a citologia, colposcopia e o histopatológico (SARIAN, et al., 2010). Para classificar as lesões pré-cancerosas, atualmente, pode-se utilizar uma associação entre o Sistema Bethesda, 2014 e a classificação de Richard 1967, que relaciona lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau (LSIL) com neoplasia intra-epitelial cervical (NIC I) e infecção por HPV, e lesão intra-epitelial escamosa de alto grau (HSIL) com NIC II e NIC III (BETHESDA, 2015).

Existem vários fatores de risco que podem contribuir para a ocorrência do câncer de colo de útero. Dentre eles, os mais relevantes são: o início precoce da atividade sexual, multiplicidade de parceiros sexuais, paridade, tabagismo, higiene íntima inadequada, imunossupressão, infecções sexualmente transmissíveis, deficiências nutricionais e o uso prolongado de contraceptivos orais (INCA, 2016). Porém, o principal precursor do câncer cervical consiste na infecção pelo HPV (INCA, 2016; STIVAL, et al., 2005).

Os infectados pelo HPV e a maioria desses com infecções assintomáticas e transitórias, tornando-se completamente indetectável dentro do período de um a dois anos, mas a infecção persistente pelo vírus favorece o desenvolvimento de lesões pré-cancerosas e, posteriormente, da neoplasia (ANDRADE MS, et al., 2014).

O Ministério da saúde preconiza que toda mulher entre 25 e 64 anos de idade ou que já iniciou sua vida sexual, deve se submeter ao exame preventivo, com periodicidade anual, inicialmente. Após dois exames consecutivos com resultados negativos para displasia ou neoplasia do colo do útero, este adquire periodicidade trianual. Após resultado negativo, o risco cumulativo de desenvolver a referida patologia é bastante reduzido, mantendo tal redução nos cinco anos subsequentes (MINISTERIO DA SAUDE, 2019).

O diagnóstico oncológico utiliza diversos parâmetros, entre eles, a avaliação clínica e a histopatológica. Na avaliação clínica, as evidências surgem por meio de exame físico, exames de imagem, endoscopia, dosagem sorológica de marcadores tumorais e outros exames relevantes e primordiais, como a análise histopatológica, também conhecida como anatomopatológico (Andrade WP, 2018).

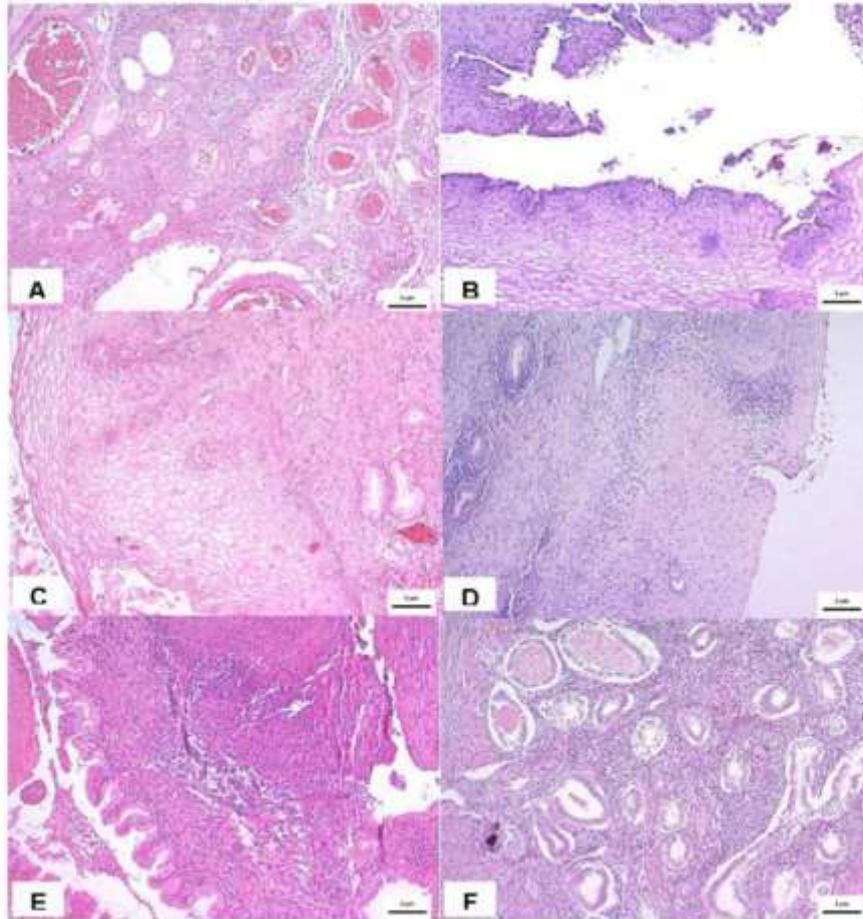
A análise histopatológica é considerada o padrão-ouro para o diagnóstico confirmatório de tumor maligno, a avaliação de prognóstico e o direcionamento terapêutico para muitos tumores (Queiroz MCLT et al., 2015). Esse diagnóstico consiste em uma avaliação macro e microscópica da peça cirúrgica e/ou biópsia. A análise



macroscópica é a avaliação da peça anatômica, como cor, tamanho e aparência da região, enquanto a microscópica utiliza escores estabelecidos para averiguar os diversos aspectos anatomopatológicos anormais, avaliar a origem histológica do tumor, podendo classificá-lo como tumor epitelial, mesenquimal e/ou embrionário, além de possibilitar a realização da avaliação de expressão de proteínas teciduais por meio da imuno-histoquímica (Silva LCZ, 2013).

O histopatológico consiste no diagnóstico definitivo para as lesões cervicais. A lesão inicial é biopsiada, dirigida pela colposcopia, que muitas vezes também serve como terapêutica. Mesmo o exame histopatológico sendo considerado padrão-ouro, há possibilidade de resultados falso-negativos se a lesão for biopsiada em local menos representativo (PESSINI; SILVEIRA, 2004). Nas imagens abaixo (Fig.1), podemos visualizar a análise histológica (HE) e a evolução das lesões cervicais nas pacientes desse estudo.

Figura 1. Análise histológica (HE) e a evolução das lesões cervicais. (A) Cervicite. (B) NIC I (C) NIC II (D) NIC III. (E) Carcinoma in situ. (F) Adenocarcinoma.





2 OBJETIVO

Avaliar o perfil das lesões intra-epiteliais escamosas de amostra obtida nos exames histopatológicos de mulheres residentes no estado do Piauí, a partir do arquivo de laudos histopatológicos positivos do sistema de informações do câncer do colo do útero (SISCOLO/versão4.0) e em coletas nas pacientes no serviço público e privado do Hospital São Marcos.

3 MÉTODOS

Trata-se de um estudo descritivo e retrospectivo transversal, com amostras provenientes das pacientes do Setor de Ginecologia e Patologia do Hospital São Marcos em Teresina – Piauí.

Este projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pernambuco (UFPE) e do Hospital São Marcos (CAAE: 17068913.6.3002.5584).

Todas as pacientes envolvidas foram devidamente esclarecidas sobre os objetivos da pesquisa e somente foram incluídas depois que concordaram em participar e assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (resolução 466/12).

Retrospectivamente foram avaliados 206 laudos histopatológicos emitidos em 2015 e 2016 pelo hospital, onde foram selecionados 96 casos positivos do banco de dados do Sistema de Informação do Controle de Câncer de Colo Uterino – Ministério da Saúde (SISCOLO).

Foram coletados do SISCOLO informações como idade das pacientes, período da realização do exame e resultado histopatológico da biópsia.

Foram coletadas 49 amostras de pacientes submetidas à colposcopia com biópsia direta de útero e de coletas no setor de Ginecologia entre dezembro de 2016 e janeiro de 2017. Onde o material biopsiado foi fixado em formol a 10% e processado para estudo histológico de rotina. Dos blocos de parafina foram realizados cortes histológicos com 5 um de espessura, os quais foram corados pela hematoxilina-eosina e examinados na rotina do Serviço de Biópsias do Departamento de Patologia do Hospital São Marcos. Posteriormente, foram examinadas por um médico patologista, com padronização do laudo e levando-se em consideração: a amostragem (somente ectocérvice, somente endocérvice ou zona de transformação); presença de infiltrado inflamatório na lâmina própria e sua avaliação semiquantitativa; presença de neoplasias intra-epiteliais ou invasoras; presença do efeito citopático do HPV (células paraceratóticas, escamas



anucleadas, coilocitose, atipia nuclear e anisocitose) e presença de outros agentes específicos. Utilizando a nomenclatura da Organização Mundial de Saúde (OMS). Essa nomenclatura classifica as alterações histopatológicas cervicais em neoplasias intraepiteliais cervicais (NIC) nos graus leve (NIC I), moderado (NIC II), acentuado (NIC III) e carcinoma invasor (SCULLY RE, et al, 1994). Os dados das pacientes foram coletados através de um questionário sócio-econômico padronizado, e analisado juntamente com os laudos histopatológicos das mesmas.

Para as análises estatísticas, utilizou-se o programa Prisma Versão 5.0 e para a análise da associação entre as variáveis e o diagnóstico histopatológico foram calculados os Odds Ratio com intervalo de confiança de 95% no teste de Fisher e T. As variáveis estudadas foram: origem da paciente, idade, laudo histopatológico, número de parceiros sexuais, menarca, coitarca, etilismo uso de contraceptivo hormonal. Os diagnósticos foram divididos em três grupos: HPV / NIC 1, NIC 2 / NIC 3, câncer invasor/adenocarcinoma e cervicite. O grupo HPV / NIC 1 foi usado como referência para a análise.

4 RESULTADOS

Retrospectivamente foram avaliados 206 laudos histopatológicos emitidos em 2015 e 2016 pelo setor de Patologia do hospital São Marcos, e destes foram selecionados 96 blocos histopatológicos dos casos positivos. No gráfico 1 estão estratificados esses casos de acordo com o resultado de seus laudos em: NIC I 8 casos (8,51%), NIC II 11 casos (11,70%), NIC III 34 casos (36,17%), Carcinoma invasor/Adenocarcinoma 33 casos (35,11%) e Carcinoma Microinvasor 8 casos (8,51%).

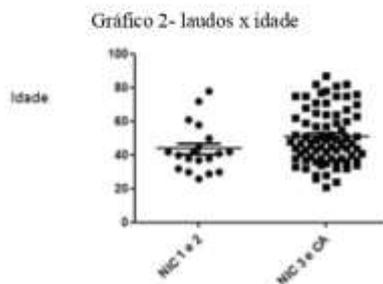
Gráfico 1 – Laudos histopatológicos





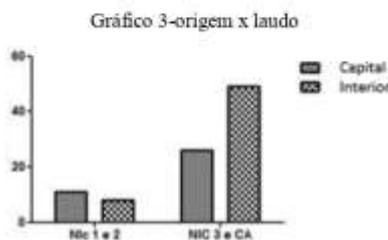
As maiores porcentagens nas prevalências entre as pacientes com laudos positivos ficaram entre 31 a 40 anos (24,47%), 41 a 50 (27,66%) e acima de 60 anos (25,53%).

O gráfico 2 demonstra a correlação entre os laudos histopatológicos e a idade das pacientes.



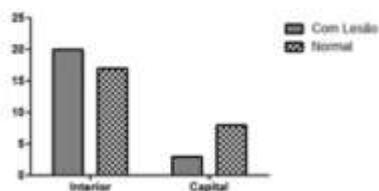
A média de idade das pacientes pertencentes a este estudo foi de 49 anos, variando de 21 a 85 anos. Sendo estas, 57 (60,64%) vindas do interior do estado e 37 (39,33%) da capital Teresina.

O gráfico 3 demonstra a correlação entre os laudos histopatológicos e a origem das pacientes.



Nessa parte do estudo, onde foram coletadas 49 amostras de pacientes submetidas à colposcopia com biópsia direta de útero e depois a um questionário socioeconômico, na qual a média de idade entre elas foi de 40 anos, variando entre 21 e 85 anos. Sendo estas, 37 (77,1%) oriundas do interior do estado e 11 (22,9%) da capital Teresina. No gráfico 4 mostra a associação da origem das pacientes x resultado dos laudos histopatológicos.

Gráfico 4 – origem x laudos



No gráfico 5 estão estratificados esses casos de acordo com o resultado de seus laudos em: Cervicite 25 casos (52,08%), NIC I/HPV 17 casos (35,42%), NIC II 1 caso (2,08%), NIC III 1 caso (2,08%), Carcinoma invasor/Adenocarcinoma 8 casos (8,34%).

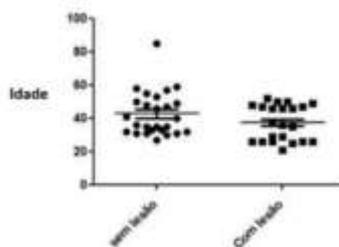
Gráfico 5 – Laudos histopatológicos



As maiores porcentagens nas prevalências entre as pacientes com cervicite e laudos positivos ficaram entre 21 a 30 anos (22,4%), 31 a 40 (32,7%) e de 41 a 50 anos (30,6%).

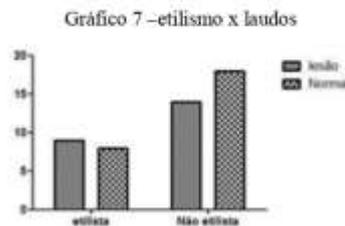
O gráfico 6 demonstra a correlação entre os laudos histopatológicos x idade das pacientes.

Gráfico 6 – laudos x idade





Em relação ao etilismo entre as pacientes, 34,7% faziam o uso regular de bebida e 65,3 % não faziam uso de qualquer tipo de bebida. O gráfico 7 demonstra a correlação entre o etilismo x laudos histopatológicos.



A mediana das pacientes no estudo para a menarca foi de 13 anos (11-23) e para a coitarca de 17 anos (13-30).

Quanto ao número de parceiros sexuais, os dados se distribuem assim: com um único parceiro temos 13 com lesões e 14 normais e com mais de um parceiro, temos 10 com lesões e 12 normais. O gráfico 9 faz a associação entre o número de parceiros sexuais x os laudos histopatológicos.

5 DISCUSSÃO

Dados sobre incidência do câncer cervical são importantes para definir prioridades de programas estratégicos de prevenção e tratamento, subsidiar gestores em saúde no direcionamento de investimento e alocação de recursos, e definir metas e avaliar resultados. Este estudo buscou traçar o perfil histopatológico das lesões intra-epiteliais escamosas e invasivas em mulheres atendidas no Hospital São Marcos em Teresina-Piauí. Um aspecto facilitador encontrado pela pesquisa foi a centralização dos tratamentos oncológicos e dos diagnósticos ser no próprio hospital.

Na parte retrospectiva do estudo aponta para o fato de que, neste período dos 96 laudos histopatológicos selecionados e analisados, 75 destas apresentava positividade para NIC III (36,17%), e Carcinoma invasivo/Adenocarcinoma/microinvasor(43,62%), ou seja, lesões mais avançadas. Concordando com estes dados, Zhou et al., também identificaram o carcinoma escamoso como o mais frequente na população estudada (86%), seguido do adenocarcinoma (10,6%) e carcinoma adenoescamoso (3,4%). Estes autores também demonstraram que grande parte das mulheres com adenocarcinoma e carcinoma adenoescamoso possuíam grau histológico bem diferenciado, enquanto que os



tumores com diagnóstico de carcinoma escamoso possuíam grau de diferenciação moderado e indiferenciado, revelando, através de análises univariadas e multivariadas, que o grau histológico pode interferir no prognóstico de mulheres com carcinoma escamoso.

A maior incidência de câncer de colo do útero acomete mulheres com idades entre 40 e 50 anos, sendo menos frequentes antes dos 30 anos, o que se deve ao longo período da infecção viral pelo HPV no início das atividades sexuais até o aparecimento do câncer (INCA, 2016). Essa situação também é encontrada neste estudo, em que 71,28% das pacientes acima dos 50 anos foram afetadas por lesões invasoras.

Mulheres com câncer cervical apresentam, em sua grande maioria, segundo dados epidemiológicos da literatura, idade entre 40 e 50 anos, marcando o fim da vida reprodutiva, cor não branca, baixo grau de escolaridade e ocupação do lar, evidenciando que a alta prevalência da doença está associada às condições de vida da população, acesso aos serviços públicos de saúde e qualidade da assistência à saúde da mulher. (Rangel G. et al, 2015)

No presente estudo, observou-se uma média de idade para o diagnóstico de 50,65 anos. Resultado similar foi encontrado por um estudo realizado em São Paulo, por Thuler et al., que avaliando as características sociodemográficas de mulheres com câncer de colo do útero no Brasil, evidenciou uma média de idade de 49,2 anos.

Thuler et al., analisando os fatores determinantes do diagnóstico em estágio avançado em mulheres com câncer de colo do útero no Brasil, evidenciou um média de idade de $52,4 \pm 14,1$ e estabeleceu uma relação de que mulheres com idade entre 30 e 39 anos teriam 10% maior chance de desenvolver doença avançada, aumentando gradativamente até 2 vezes para a faixa etária de 60 anos ou mais, concluindo, portanto, que a idade é um dos principais preditores de doença moderada e avançada.

Enquanto a infecção pelo HPV diminui com a idade, a incidência de câncer aumenta, sugerindo a persistência da infecção pelo HPV produza lesões de alto grau (FREITAS et al.,2006).

Fazendo uma correlação entre os laudos histopatológicos versus a idade das pacientes, através do Test T, obteve-se um p-valor de 0,07, um valor quase que significativo e o Teste Fisher para os laudos histopatológicos versus procedência das pacientes, com uma Odds de 2,59, que apresenta uma tendência maior ao risco de desenvolver tumores avançados em mulheres mais velhas, justamente pelo tempo de desenvolvimento.



Nas 49 amostras coletadas, teve como suas maiores proporções dos resultados dos laudos histopatológicos, 35,42% de casos com NIC I/HPV e 52,8% das suas amostras apenas com cervicite. Sendo estas com média de idade igual a 42 anos para as pacientes normais e de 37 anos para as pacientes com lesão. Outro fato interessante, é que mais de 50% dessas pacientes foram diagnosticadas com HPV em seus laudos histopatológicos, somente com a análise histológica. Fato interessante, pois só podemos sugerir a presença do vírus pelo seu efeito citopático (coilocitose) e somente confirmar que há infecção por ele, através de diagnóstico molecular para detectar sua presença.

A maioria das pacientes continua sendo oriundas do interior do estado (77,1%) e na correlação de procedência versus laudos histopatológicos, tanto pacientes normais e com lesões também, em sua maioria, vem do interior. O

Test T das idades versus laudos histopatológicos, mostrou um p-valor de 0,08, valor este semelhante a outra parte do estudo (p-valor 0,07).

Na associação dos dados de etilismo versus laudos histopatológicos obteve-se um p-valor 0,5 apesar de 65,3% dessas pacientes não fazer o uso de qualquer tipo de bebida alcoólica, estas apresentaram maior proporção de positividade para lesões nos laudos histopatológicos, o que vai contra o que está na literatura. Pois o consumo de álcool, tanto moderado como em excesso, tem sido associado a vários tipos de câncer (MU L.,2016).

Os dados mostraram que as pacientes tiveram mediana para coitarca de 17 anos (13-30), e na associação entre a coitarca versus laudos histopatológicos, o resultado foi significativo em relação a literatura, com um P valor de 0,05, mostrando que quanto mais cedo inicia a vida sexual, maiores as chances de surgimento de lesões cervicais. Embora a maior porcentagem estava presente nas pacientes com apenas cervicite nos laudos.

Quanto ao número de parceiros sexuais, as maiores proporções ficaram nas pacientes que possuía apenas um parceiro sexual, tanto nas com laudos histopatológicos normais e com lesão.

É estabelecido que um rastreio organizado de base populacional e tratamento das lesões precursoras detectadas pode diminuir a mortalidade da doença em 80%. Pois o câncer cervical progride relativamente lento, e leva anos ou mesmo décadas de um incidente de infecção por HPV infecção para desenvolver um câncer invasivo (LORENZI et al.,2015).

O câncer do colo uterino é uma das neoplasias com maior chance de cura quando diagnosticado precocemente. É extremamente importante que o rastreamento ocorra com ampla cobertura e de forma regular para que sua efetividade e os efeitos sobre a população



possam ser detectados (EDDY DM.,1990). Nesse sentido, torna se possível reduzir a incidência dos casos invasores e, especialmente nas mais idosas, obter uma menor proporção de casos com estágio localmente avançado. Estudo de perfis cito e histopatológico, bem como infectivos determinando o tipo de HPV podem ser muito úteis na deliberação metodológica aplicada em programas de rastreio.

6 CONCLUSÃO

Nesta pesquisa, observou-se o perfil clínico e epidemiológico de pacientes assistidas no setor de ginecologia do Hospital São Marcos, em Teresina-PI, que permitiu estabelecer semelhanças com estudos realizados em outras regiões do país.

Os resultados encontrados evidenciam a necessidade de investimentos na detecção precoce e na adoção de medidas educativas no sentido de promover ações que conscientizem a população quanto à importância do cuidado com a saúde. Constata-se, que a falta de instrução das pacientes está associada diretamente ao nível socioeconômico, fator de risco para o câncer de colo do útero. A desinformação leva essas mulheres a não dar a devida importância do exame preventivo, resultando em diminuição nas taxas de cobertura dos programas de rastreio e tratamento.

O rastreio de lesões intraepiteliais leva a tratamento específico evitando o surgimento ao câncer.

A promoção e a prevenção em saúde podem ser mais bem efetivadas se a população, principalmente as advindas do interior do estado, onde foram encontrados números altos de carcinoma cervical, se encontrar devidamente informada e com capacidade de compreensão sobre os riscos e os métodos de prevenção acerca do câncer de colo do útero.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), do Laboratório de Pesquisas Citológicas e Moleculares (LPCM – UFPE) e ao Hospital São Marcos em Teresina – Piauí.



REFERÊNCIAS

- 1-Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2014: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2014.
- 2-MINISTERIO DA SAUDE (BR). Sistema de informações sobre mortalidade. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2013.
- 3-BALKAWIL F, Montavani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet*. 2001;357(9255):539-45.
- 4-TERMINI L, Villa LL. Biomarcadores na triagem do câncer de colo uterino. *J bras Doenças Sex Transm*. 2008; 20(2): 125-131.
- 5-BOSCH FX, Burchell AN, Schiffman M, Giuliano AR, de Sanjose S, Bruni L, et al. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and type-specific implications in cervical neoplasia. *Vaccine*. 2008; 26(10):1-16.
- 6-COUSSENS LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. 2002;420(6917):860-7.
- 7-MEDZHITOV R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*. 2008; 454(7203): 428-35.
- 8-BUFFON, A.; CIVA, M.; MATOS, V. F. Avaliação de lesões intra-epiteliais escamosas e microbiologia em exames citológicos realizados em um laboratório. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, Porto Alegre, RS. ed.2, v.38, p. 83-86. 2006
- 9-SARIAN, L.O., DERCHAIN, S.F.M.; BASTOS, J.F.B. Método Diagnósticos para Rastreamento do Câncer do Col. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetria*, Brasil. v.32, p.363-414, 2010.
- 10-STIVAL C.O. et al. Avaliação Comparativa da Citopatologia Positiva, Colposcopia e Histopatologia: Destacando a Citopatologia como Método de Rastreamento do Câncer do Colo do Útero. O Papilomavirus Humano (HPV): *Revista brasileira de Análises Clínicas*, v. 37 n.4, p.215-218, 2005.
- 11-ANDRADE MS, Almeida MMG, Araújo TM, Santos KOB. Fatores associados a não adesão ao papanicolau entre mulheres atendidas pela Estratégia Saúde da Família em Feira de Santana, Bahia, 2010. *Epidemiol Serv Saúde*. 2014; 23(1):111-20.
- 12-INCA, Instituto Nacional do Câncer. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2011. Disponível em: <http://www.inca.gov.br>. Acesso em: 04 de novembro de 2016.
- 13-MINISTERIO DA SAUDE(BR). Controle dos cânceres do colo do útero e da mama. 2ª edição. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2013. (Caderno Atenção Básica, nº 13)



- 14-SCULLY RE, Bonfiglio TA, Kurman RJ, Silverberg SG, Wilkinson EJ. Histological typing of female genital tract tumours [World Health Organization. *International Histological Classification of Tumours*]. 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag; 1994.
- 15-EDDY DM. Screening for cervical cancer. *Ann Intern Med.* 1990;113(3):214-Comment in: *Ann Intern Med.* 1990;113(10):803; *Ann Intern Med.* 1990;113(7):560-1.
- 16-BRAY F, Loos AH, McCarron P. Trends in cervical squamous cell carcinoma incidence in 13 European Countries: changing risk and the effects of screening. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006;14(3):677-86.
- 17-PECORRELI S. FIGO annual report on the results of treatment in gynaecological cancer. *J Epidemiol Biostat.* 2001;24(6):87-91.
- 18-BRASIL, Ministério da Saúde. Instituto do Câncer. Nomenclatura brasileira para laudos cervicais e condutas preconizadas: recomendações para profissionais de saúde. 2 ed. Rio de Janeiro, INCA, 2006.
- 19-SOLOMON D, NAYAR R (Eds). *The Bethesda system for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses. Definitions, criteria, and explanatory notes.* New York: Springer-Verlag; 2015.
- 20- A. P. A. D. Gurgel, B. S. Chagas, C. M. M. do Amaral et al., "Prevalence and genetic variability in capsid L1 gene of rare human papillomaviruses (HPV) found in cervical lesions of women from North-East Brazil," *BioMed Research International*, vol. 2013, Article ID 546354, 7 pages, 2013.
- 21-WHO. *WHO Guidelines for Screening and Treatment of Precancerous Lesions for Cervical Cancer Prevention.* Geneva: World Health Organization, 2013.
- 22-WHO. *Comprehensive Cervical Cancer Control: A Guide to Essential Practice.* 2nd. ed. Geneva: World Health Organization, 2014.
- 23-GLOBOCAN 2012 v1.0, *Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base No. 11* [Internet]. <http://globocan.iarc.fr/Default.aspx>. Accessed 05 Jan 2017
- 24-LORENZI A.T., SYRJANEN K.J., FILHO A.L. Human papillomavirus (HPV) screening and cervical cancer burden. A Brazilian perspective. *Virology Journal* (2015) 12:11
- 25-MU L, et al. Alcohol consumption and rates of cancer screening: Is cancer risk overestimated? *Cancer Causes Control.* 2016.
- 26- S. de Sanjose, W. G. Quint, L. Alemany et al., "Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study," *The Lancet Oncology*, vol. 11, no. 11, pp. 1048–1056, 2010.
- 27-Fripp JC. *Sobrevivência e qualidade de vida de indivíduos com câncer registrados em serviços de alta complexidade no município de PelotasRS.* [tese]. Universidade Federal



de Pelotas, Rio Grande do Sul; 2014. Disponível em: <http://wp.ufpel.edu.br/pgenfermagem/files/2016/02/TESE-Julieta-Maria-Carriconde-Fripp.pdf>. [Acesso em: 19 jan 2017].

28-Andrade WP. Câncer de mama: TNM 8ª edição. Principais mudanças e implicações na prática diária. *Braz J Oncol*. 2018; 14(48): 1-13.

29-Queiroz MCLT, Barreto CL, Moraes VLL, Júnior WFL. *Oncologia: uma abordagem multidisciplinar*. Recife: Carpe Diem Edições e Produções Ltda.; 2015.

30-Silva LCZ. Análise da concordância entre achados histopatológicos da biópsia prostática realizada em centros não oncológicos e sua revisão em um centro oncológico. [dissertação]. Hospital de Câncer de Barretos, Barretos; 2013

31-Rangel G, Lima LD, Vargas EP. Condicionantes do diagnóstico tardio do câncer cervical na ótica das mulheres atendidas no Inca. *Saúde Debate*. 2015; 39 (107): 1065-78

32-Zhou J, Wu SG, Sun JY, Li FY, Lin HX, Chen QH, He ZY. Comparison of clinical outcomes of squamous cell carcinoma, adenocarcinoma, and adenosquamous carcinoma of the uterine cervix after definitive radiotherapy: a population-based analysis. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2017; 143 (1): 115-22.

33-Thuler LCS, Bergmann A, Casado L. Perfil das pacientes com câncer de colo do útero no Brasil, 2000-2009: estudo de base secundária. *Rev Bras Cancerol*. 2012; 58 (3): 351-7.

34-Thuler LCS, Aguiar SS, Bergmann A. Determinantes do diagnóstico em estágio avançado do câncer do colo do útero no Brasil. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2014; 36 (6): 237-43

APÊNDICE B - ANTIOXIDANT AND ANTIULCEROGENIC ACTIVITY OF THE DRY EXTRACT OF PODS OF *LIBIDIBIA FERREA* MART. EX TUL. (FABACEAE).

Hindawi
Oxidative Medicine and Cellular Longevity
Volume 2019, Article ID 1983137, 23 pages
<https://doi.org/10.1155/2019/1983137>



Research Article

Antioxidant and Antiulcerogenic Activity of the Dry Extract of Pods of *Libidibia ferrea* Mart. ex Tul. (Fabaceae)

Lady D. K. T. Prazeres ¹, Ticiana P. Aragão,² Samara A. Brito,³ Cynthia L. F. Almeida ⁴,
Amanda D. Silva,¹ Mirella M. F. de Paula,⁵ Juliane S. Farias,⁵ Leucio D. Vieira,⁵
Bolívar P. G. L. Damasceno ⁶, Larissa A. Rolim ⁷, Bruno O. Veras ⁸, Ismael G. Rocha,⁹
Jacinto C. Silva Neto ⁹, Milena L. F. Bittencourt,¹⁰ Rita de Cássia R. Gonçalves,¹⁰
Rodrigo R. Kitagawa ¹⁰ and Almir G. Wanderley ^{1,5}

¹Department of Pharmaceutical Sciences, Universidade Federal de Pernambuco, Recife 50740-521, Brazil

²Department of Nutrition, Universidade de Pernambuco, Petrolina 56328-903, Brazil

³Santa Maria College, Cajazeiras 58900-000, Brazil

⁴Collegiate of Nursing, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina 56304-205, Brazil

⁵Department of Physiology and Pharmacology, Universidade Federal de Pernambuco, Recife 50670-901, Brazil

⁶Department of Pharmacy, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande 58429-600, Brazil

⁷Drugs, Medicines and Food Analysis Center, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina 56304-917, Brazil

⁸Department of Tropical Medicine, Universidade Federal de Pernambuco, Recife 50670-901, Brazil

⁹Department of Histology and Embryology, Universidade Federal de Pernambuco, Recife 50670-420, Brazil

¹⁰Graduate Program in Pharmaceutical Sciences, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória 29047-105, Brazil

Correspondence should be addressed to Almir G. Wanderley; almir.wanderley@ufpe.br

Received 6 June 2019; Accepted 18 September 2019; Published 20 November 2019

Academic Editor: Pedro Mena

Copyright © 2019 Lady D. K. T. Prazeres et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Ethnomedicinal studies in the Amazon community and in the Northeast region of Brazil highlight the use of *Libidibia ferrea* fruits for the treatment of gastric problems. However, there are no data in the literature of this pharmacological activity. Thus, the aim of this paper is to provide a scientific basis for the use of the dry extract of *L. ferrea* pods (DELfp) for the treatment of peptic ulcers. Phytochemical characterization was performed by HPLC/MS. *In vitro* antioxidant activity was assessed using DPPH, ABTS, phosphomolybdenum, and superoxide radical scavenging activity. The gastroprotective activity, the ability to stimulate mucus production, the antisecretory activity, and the influence of -SH and NO compounds on the antiulcerogenic activity of DELfp were evaluated. The healing activity was determined by the acetic acid-induced chronic ulcer model. Anti-*Helicobacter pylori* activity was investigated. HPLC/MS results identified the presence of phenolic compounds, gallic acid and ellagic acid, in DELfp. The extract showed antioxidant activity *in vitro*. In ulcers induced by absolute ethanol and acidified ethanol, the ED₅₀ values of DELfp were 113 and 185.7 mg/kg, respectively. DELfp (100, 200, and 400 mg/kg) inhibited indomethacin-induced lesions by 66.7, 69.6, and 65.8%, respectively. DELfp (200 mg/kg) reduced gastric secretion and H⁺ concentration in the gastric contents and showed to be independent of nitric oxide (NO) and dependent on sulfhydryl (-SH) compounds in the protection of the gastric mucosa. In the chronic ulcer model, DELfp reduced the area of the gastric lesion. DELfp also showed anti-*H. pylori* activity. In conclusion, DELfp showed antioxidant, gastroprotective, healing, and antiulcerogenic activities. The mechanism of these actions seems to be mediated by different pathways and involves the reduction of gastric secretion and H⁺ concentration, dependence on sulfhydryl compounds, and anti-*H. pylori* activity. All these actions support the medicinal use of this species in the management of peptic ulcers.

APÊNDICE C - FIBROADENOMA VERSUS TUMOR PHYLLODES: COMO DIFERENCIÁ-LOS? / FIBROADENOMA VERSUS TUMOR PHYLODES: HOW TO DIFFERENTIATE THEM?



Fibroadenoma versus Tumor Phyllodes: como diferenciá-los?

Fibroadenoma versus Tumor Phyllodes: how to differentiate them?

DOI:10.34119/bjhrv4n1-315

Recebimento dos originais: 10/11/2020

Aceitação para publicação: 28/01/2021

Ismael Gomes da Rocha

Doutorando no Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia
Universidade Federal de Pernambuco
Av. Prof. Moraes Rego, s/nº - Cidade Universitária
Recife, Pernambuco-Brasil
50.670-901
E-mail: ismaelroch@gmail.com

Vanessa Lino dos Santos Silva

Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Patologia
Universidade Federal de Pernambuco
Av. Prof. Moraes Rego, s/nº - Cidade Universitária
Recife, Pernambuco-Brasil
50.670-901
E-mail: vlinoss@gmail.com

Eduardo Isidoro Carneiro Beltrão

Pós-Doutor em Imunologia de Tumores
Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências
Universidade Federal de Pernambuco
Av. Prof. Moraes Rego, s/nº - Cidade Universitária
Recife, Pernambuco-Brasil
50.670-901
E-mail: ebeltrao@hotmail.com

Carlos Daniel Passos Lobos

Doutorando no Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica
Universidade Federal de Pernambuco,
Av. Prof. Moraes Rego, s/nº - Cidade Universitária
Recife, Pernambuco-Brasil
50.670-901
E-mail: daniel.passos@hotmail.com

Jacinto da Costa Silva Neto

Pós Doutor pela McGill University
Departamento de Histologia e Embriologia, Centro de Biociências,
Universidade Federal de Pernambuco,
Av. Prof. Moraes Rego, s/nº - Cidade Universitária
Recife, Pernambuco-Brasil
50.670-901
E-mail: jacintocosta@hotmail.com

**APÊNDICE D - AN ASSESSMENT OF THE LEVEL OF KNOWLEDGE OF
SECONDARY SCHOOL STUDENTS FROM THE STATE OF PERNAMBUCO,
BRAZIL, REGARDING HUMAN PAPILOMAVIRUS (HPV) AND PROPHYLACTIC
VACCINATIONS.**

6145

Brazilian Journal of health Review

**An assessment of the level of knowledge of secondary school students
from the State of Pernambuco, Brazil, regarding Human Papillomavirus
(HPV) and prophylactic vaccinations**

**Uma avaliação do nível de conhecimento de estudantes do ensino médio
do estado de Pernambuco, Brasil, sobre o Papilomavírus Humano (HPV)
e as vacinas profiláticas**

DOI:10.34119/bjhrv2n6-109

Recebimento dos originais: 10/11/2019

Aceitação para publicação: 20/12/2019

Ismael Gomes da Rocha

PhD student in postgraduate program in Biochemistry and Physiology
Federal University of Pernambuco
Av. Prof. Moraes Rego, s/nº - Cidade Universitária
Recife, Pernambuco-Brasil.
50.670-901.
E-mail: ismaelroch@gmail.com

Raphael Ferreira Pimentel

Clinical Cytology Specialist - UFPE
Hematology and Hemotherapy Foundation of Pernambuco, UNILABE.
Joaquim Nabuco-Graças Street Recife, PE – Brasil
52011000
E-mail: pimentel.raphael@hotmail.com

Giwellington Silva Albuquerque

PhD student in postgraduate program in Applied Cellular and Molecular Biology – UPE
Arnóbio Marques street, 310 - Santo Amaro
Recife - PE – Brasil
50100-130
E-mail: giwellington@hotmail.com

Jonathan Wagner de Medeiros

PhD student in postgraduate program in Applied Cellular and Molecular Biology – UPE
Arnóbio Marques street, 310 - Santo Amaro
Recife - PE – Brasil
50100-130
Email: jonathanmedeiros.biomed@gmail.com.

APÊNDICE E – ANTIHYPERLIPIDEMIC ACTIVITY OF GLYCOCONJUGATED PHTHALIMIDES IN MICE SUBMITTED TO A MODEL OF DYSLIPIDEMIA AND INSULIN RESISTANCE.



doi.org/10.1002/cbdv.202200119

RESEARCH ARTICLE



Antihyperlipidemic Activity of Glycoconjugated Phthalimides in Mice Submitted to a Model of Dyslipidemia and Insulin Resistance

José Guedes da Silva Júnior,^{*a} Hallysson Douglas Andrade de Araújo,^a Ismael Gomes da Rocha,^b Jacinto Costa da Silva Neto,^b Ronaldo Nascimento Oliveira,^c Shalom Pôrto de Oliveira Assis,^d and Vera Lúcia de Menezes Lima^a

^a Laboratório de Lipídeos e Biomoléculas e suas Aplicações em Doenças Prevalentes e Negligenciadas (LAB-DPN), Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Brazil, e-mail: zeguedescrizant@gmail.com

^b Laboratório de Pesquisas Citológicas e Moleculares (LPCM), UFPE, Departamento de Histologia e Embriologia, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Brazil

^c Laboratório de Síntese de Compostos Bioativos (LSCB), Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brazil

^d Laboratório de Biotecnologia e Ciências Ambientais (NPCIAMB), Departamento de Medicina, Universidade Católica de Pernambuco, UNICAP, Brazil

Alterations in lipid and lipoprotein metabolism are factors that trigger several negative metabolic complications. Hyperlipidemia is the starting point for the development of comorbidities of the cardiovascular system, such as atherosclerosis. The search for compounds that reduce high levels of total cholesterol and triglycerides has been widely reported in several publications in the literature. Phthalimide derivatives have been extensively researched with various biological actions. In this study we evaluated the antihyperlipidemic ability of three phthalimide derivatives (FGT-2, FGT-3 and FGT-4) on a model of obesity and insulin resistance in mice. The animals were submitted to a hyperlipid diet for 60 days. On the thirtieth day they were treated with phthalimides (20 mg/kg). The positive control group was treated with Simvastatin (20 mg/kg) and the negative control received only the carboxymethylcellulose vehicle. Biochemical and histological analyzes of all groups were analyzed. The animals treated with phthalimidic derivatives had a reduction in total cholesterol, low density and very low density lipoproteins (LDL-c and VLDL-c), triglycerides and fasting glycemia when compared to the negative control group. The treated animals also showed good results when analyzing the atherogenic indexes Castelli I and II and the ratio Triglycerides/HDL-c. In the oral glucose tolerance test and in the insulin tolerance test, animals treated with phthalimides were more sensitive to the action of the hormone regulating carbohydrate uptake. In the evaluation of the transaminases (AST/ALT), the animals of the group treated with phthalimides presented a lower elevation than the other groups of the experiment, the same observed with the uric acid evaluation. Histological analyzes were performed on liver, kidney, heart and pancreas samples. The groups treated with the compounds FGT-2 and FGT3 presented discrete alterations in the liver and kidney. FGT-4 did not present histological alterations for both tissues and the three phthalimide derivatives did not cause alterations in the other organs. These results suggest that the phthalimides tested can act as antihyperlipidemic agents and have a pleiotropic action, by acting also reducing glycemia in insulin resistance model mimicking diabetes mellitus type 2. These compounds may appear as a new approach in the treatment of obesity and complications, which are multifaceted.

Keywords: phthalimides, cyclic imides, obesity, insulin resistance.

Supporting information for this article is available on the WWW under <https://doi.org/10.1002/cbdv.202200119>

APÊNDICE F – QUESTIONÁRIO COLETA DE DADOS



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
 Centro de Ciências Biológicas
 Laboratório de Pesquisas Citológicas e Moleculares - LPCM
 Coordenador: Prof. Dr. Jacinto da Costa Silva Neto



Registro Interno No. _____

Questionário da Coleta Citológica

Data da coleta: ____ / ____ /20__

Identificação

Paciente: _____ Idade: _____ anos

Data nascimento: ____ \ ____ \ ____ Município de origem: _____

() Capital () Interior
 Etnia: () Branco () Preto () Pardo () Amarelo () Indígena

Renda familiar: () abaixo de 1 salário mínimo () entre 1 e 3 salários
 () de 3 a 5 salário () acima de 5 salários

Escolaridade : () Ensino fundamental incompleto () Ensino fundamental completo
 () Ensino médio incompleto () Ensino médio completo
 () Ensino superior incompleto () Ensino superior completo

História Ginecológica

Menarca: _____ anos 1ª relação sexual: _____ anos Nº de parceiros: _____

Nº de gestações: _____ Nº de abortos: _____

Partos: Normal _____ Cesária _____

Está grávida/amamentando? () Não () Sim, grávida () Sim, amamentando

Anticoncepcional hormonal: () Não () Sim, qual? _____

Menopausa: _____ anos Hormônio para menopausa: () Não () Sim

História Médica

() Diabetes mellitus () Hipertensão arterial sistêmica () Doença cardiovascular

() Alguma doença inflamatória crônica? (Ex.: Artrite) Qual _____

() Transfusão sanguínea Quantas vezes _____

() Câncer, qual? _____ () Outra, qual? _____

Medicação contínua: () Não () Sim, qual? _____

Hábitos

Tabagismo: () Não () Sim, quantos cigarros/dia? _____

Tabagismo passivo em casa ou no trabalho: () Não () Sim

Etilismo: () Não () Sim, qual bebida/frequência? _____

Medidas

História Familiar

Peso: _____ Kg Câncer: () Não () Sim. Qual tipo? _____

Altura: _____ m Parentesco: _____

Material coletado: () Lâmina de citologia () Sangue () Escovado DNA () Escovado RNA

Citologia Anterior (se houver)

Resultado Citológico: _____ Data: ____ / ____ / ____

Exames da coleta

Resultado Citológico: _____