

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE – CCBS
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA – DEFAR

IAGHO JOSÉ LIMA DINIZ

**PAPILOMATOSE RESPIRATÓRIA: ANÁLISE SOCIODEMOGRÁFICA E
CLÍNICA EM PACIENTES DE SÃO LUÍS, MARANHÃO.**

SÃO LUÍS – MA

2019

IAGHO JOSÉ LIMA DINIZ

**PAPILOMATOSE RESPIRATÓRIA: ANÁLISE SOCIODEMOGRÁFICA E
CLÍNICA EM PACIENTES DE SÃO LUÍS, MARANHÃO.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Graduação em Farmácia da Universidade
Federal do Maranhão (UFMA) – Campus Bacanga,
como pré-requisito para obtenção do título de
Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof.^a. Dr.^a. Flávia Castelo Branco
Vidal

SÃO LUÍS – MA

2019

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Diniz, Iagho José Lima.

PAPILOMATOSE RESPIRATÓRIA: ANÁLISE SOCIODEMOGRÁFICA E
CLÍNICA EM PACIENTES DE SÃO LUÍS, MARANHÃO / Iagho José
Lima Diniz. - 2019.

55 f.

Orientador(a): Flávia Castello Branco Vidal.

Curso de Farmácia, Universidade Federal do Maranhão,
São Luís, 2019.

1. Papilomatose de Laringe. 2. Papilomatose
Respiratória Recorrente. 3. Papilomavirus humano. I.
Vidal, Flávia Castello Branco. II. Título.

IAGHO JOSÉ LIMA DINIZ

**PAPILOMATOSE RESPIRATÓRIA: ANÁLISE SOCIODEMOGRÁFICA E
CLÍNICA EM PACIENTES DE SÃO LUÍS, MARANHÃO.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Graduação em Farmácia da Universidade
Federal do Maranhão (UFMA) – Campus Bacanga,
como pré-requisito para obtenção do título de
Bacharel em Farmácia.

Aprovado em: ____/____/____

Conceito Final: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Flávia Castello Branco Vidal
DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA (DEMOR/UFMA)

Prof.^a Dr.^a Sally Cristina Moutinho Monteiro
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA (DEFAR/ UFMA)

Prof.^a Dr.^a Melanie Mont'Alverne Lawall Silva
DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA (DEMOR/UFMA)

DEDICATÓRIAS

A Deus pela benção de chegar até o fim dessa jornada.

À minha mãe Marileide Lima Diniz e à minha tia Dilena de Jesus Lima Diniz, por todo o carinho, amor, respeito depositados em mim. Por sonharem comigo, por sempre me incentivar, por vibrarem a cada conquista e por estarem comigo nos momentos felizes e nos mais difíceis.

À minha avó Raimunda Lima Diniz (*in memoriam*), por toda a dedicação, amor e sabedoria que depositou em mim durante sua vida, por ter sido uma mãe para todos os seus netos.

À minha irmã Maria Isadora Lima Diniz, por me mostrar a real felicidade, por ter sido o alicerce para que eu conseguisse chegar ao fim dessa jornada. **Tudo por você e para você.**

A todos os meus familiares que sempre mostraram que a Família é a base de tudo e que sempre deve estar em primeiro lugar. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Maranhão (UFMA) e ao Biobanco de Tumores e DNA do Maranhão pelo apoio neste trabalho.

À minha orientadora Prof. Dr. Flávia Castello Branco Vidal pelo apoio constante na realização deste trabalho, pela paciência e sabedoria transmitida sem egoísmo, pela confiança e dedicação ao que faz.

À Prof.^a Dr.^a. Sally Cristina Moutinho Monteiro e à Prof.^a Dr.^a Melanie Mont'Alverne Lawall Silva pela disponibilidade, atenção e carinho ao aceitar fazer parte da banca examinadora deste trabalho.

Ao prof. Dr. Fábio de Souza Monteiro, e ao Felipe Carvalho, por me iniciarem nessa jornada científica.

Aos amigos de turma que fiz nesta jornada, Italo Moraes, Sávyo Oliveira, Pollyana Kzam, Malene Gomes, Larissa Ribeiro, Icaro Dutra, Maysa Lima, Evelyn Cunha, Ana Lurdes, Amanda Passos, Vitor Nadler, Bianca Mendes, Caio Cunha, Andrew Yuri, Fabricio Lima, Caroline Martins, Luiz Felipe (*in memoriam*) que foram meu alicerce durante esses anos longe de casa, em especial do grupo "Cachacêuticos".

Às amigas fortalecidas, Roberta Ribeiro, Adriana Rodrigues, Breno Bonfim, Franklin Sampaio, Tazia Lopes e Marianne Cortez. Obrigado por me mostrarem que não estou sozinho, e por terem sido uma luz nos momentos que eu mais precisei.

Aos meus amigos de infância, Luana Vitória, Alyssa Crysthyne, Natacha Stephany, Hyngrid Moreira. Obrigado por se fazerem presentes em minha vida. Amo vocês.

Ao Charles Brito, por sempre estar ao meu lado, por todo o companheirismo, carinho, amor e dedicação.

Aos meus primos, Jamille Ribeiro, Rodrigo Bandeira e Sabrina Diniz, pela amizade e por acompanharem toda a minha jornada.

À minha madrinha, Ana Paula Diniz, por todo o suporte prestado durante esses anos.

Às minhas tias, Socorro Diniz e Denise Diniz, por sempre estarem dispostas a me ajudar.

À minha tia Lena e ao meu padrinho Everaldo Bandeira, por todo o suporte e compreensão durante esses anos.

Ao meu avô, que é como um pai para mim.

À minha mãe, Marileide Lima Diniz, por ser essa mulher independente e de garra, por ter enfrentado muitos obstáculos para que eu chegasse aonde estou hoje.

À minha segunda mãe, Dilena de Jesus Lima Diniz, por sempre me apoiar, por ter investido em meu futuro, por estar sempre presente em todas as minhas conquistas.

Às amigas que duraram até certo ponto.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

“Eu decidi a muito tempo não caminhar à sombra de alguém. Se eu fracassar, se eu suceder, pelo menos terei vivido como acredito.”

(Whitney Houston)

RESUMO

A infecção pelo papilomavírus humano (HPV) é uma das infecções sexualmente transmissíveis mais comuns em todo o mundo. O HPV é classificado de acordo com seu potencial oncogênico, podendo ser de alto ou baixo risco. Apesar da maioria das doenças não malignas associadas ao HPV serem atribuídas aos tipos 6 e 11, estes também estão associados a lesões epiteliais que podem ter patologia mais agressiva, como é o caso da papilomatose respiratória recorrente (PRR). A PRR ocorre tanto em crianças como em adultos, apresentando muitas vezes um curso clínico agressivo podendo ser fatal devido a sua alta reincidência e à tendência a se espalhar pelo trato respiratório. Este estudo foi do tipo transversal, prospectivo, com 11 pacientes, utilizando amostras frescas de lesões papilomatosas de laringe. Com base nisso, características sociodemográficas e clínicas, e a infecção por HPV foram avaliadas em pacientes com RPR atendidos em um hospital de referência em São Luís, Maranhão. Os dados sociodemográficos e clínicos foram coletados a partir de um questionário aplicado, e diretamente dos prontuários e laudos histopatológicos dos pacientes. Para análise de infecção pelo HPV, o DNA foi extraído das amostras de papilomas coletadas durante a cirurgia e submetido à reação em cadeia da polimerase (PCR). As amostras positivas foram submetidas à técnica de sequenciamento automatizado para genotipagem viral. A maioria dos pacientes era do sexo feminino (54,55%), parda (90,91%), normal (81,82%), do grupo PRR juvenil (63,63%). 90,91% apresentaram disfonia, 63,64% dispneia e 27,27% disfagia. 63,64% apresentaram recidiva da doença. A presença de HPV foi detectada em 100% dos casos, sendo o tipo 6 mais prevalente que o tipo 18. Concluiu-se que os pacientes com RPR eram compostos por crianças de cor parda, feminina, capital do estado, nascidas do parto normal, corroborando com a ideia de transmissão vertical. A prevalência de HPV 6 (baixo risco oncogênico) foi observada em 90,91% das amostras. O HPV-18, considerado de alto risco oncogênico e associado ao desenvolvimento de câncer, esteve presente em apenas um paciente (9,09%).

Palavras-chave: Papilomavirus humano; Papilomatose de Laringe; Papilomatose Respiratória Recorrente.

ABSTRACT

Human papillomavirus (HPV) infection is one of the most common sexually transmitted infections worldwide. HPV is classified according to its oncogenic potential, being high or low risk. Although most non-malignant diseases associated with HPV are attributed to types 6 and 11, they are also associated with epithelial lesions that may have more aggressive pathology, such as recurrent respiratory papillomatosis (RRR). RRR occurs in both children and adults, often presenting an aggressive clinical course and can be fatal due to its high recurrence and the tendency to spread through the respiratory tract. This cross-sectional, prospective study was carried out with 11 patients using fresh samples of laryngeal papillomatous lesions. Based on this, sociodemographic and clinical characteristics and HPV infection were evaluated in RRR patients attended at a referral hospital in São Luís, Maranhão. Socio-demographic and clinical data were collected from an applied questionnaire, and directly from the patient's medical records and histopathological reports. For analysis of HPV infection, DNA was extracted from papillomavirus samples collected during surgery and submitted to polymerase chain reaction (PCR). Positive samples were submitted to the automated sequencing technique for viral genotyping. The majority of the patients were female (54.55%), brown (90.91%), normal (81.82%), and juvenile RRR group (63.63%). 90.91% presented dysphonia, 63.64% dyspnea and 27.27% dysphagia. 63.64% presented recurrence of the disease. The presence of HPV was detected in 100% of the cases, being type 6 more prevalent than type 18. It was concluded that the RRR patients were composed of children of brown color, female, capital of the state, born of normal birth, corroborating the idea of vertical transmission. The prevalence of HPV 6 (low oncogenic risk) was observed in 90.91% of the samples. HPV-18, considered a high oncogenic risk and associated with the development of cancer, was present in only one patient (9.09%).

Keywords: Humanpapillomavirus; Laryngealpapillomatosis; Recurrent Respiratory Papillomatosis.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sequência de nucleotídeos dos primers utilizados no estudo..... 28

Tabela 2. Descrição sociodemográfica e clínica de 11 pacientes atendidos no HUUFMA com diagnóstico de PRR, São Luís, Maranhão. 32

Tabela 3. Presença do HPV em lesões papilomatosas de laringe de 11 pacientes atendidos no HUUFMA com diagnóstico de PRR, São Luís, Maranhão. 33

Tabela 4. Comparações entre as duas formas de apresentação clínica da PRR e as variáveis de agressividade. N=11..... 34

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Representação esquemática do genoma do HPV.....	19
Figura 2. Progressão tumoral mediada pelo HPV.	20
Figura 3. Exemplo de lesão papilomatosa na região laríngea	22

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BTMA	Banco de Tumores e DNA do Maranhão
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
dNTP	Desoxirribonucleotídeos Fosfatados
HPV	Papilomavírus Humano
HUUFMA	Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão
IARC	International Agency for Research on Cancer (Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer)
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
ISTs	Infecções Sexualmente Transmissíveis
LCR	Long Control Region (Região Longa de Controle)
PB	Pares de Base
PCR	Polymerase Chain Reaction (Reação em Cadeia da Polimerase)
PL	Papilomatose Laríngea
PR	Papilomatose Respiratória
PRR	Papiloma Respiratório Recorrente
RNA	Ácido Ribonucleico
RPM	Rotações por minuto
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

LISTA DE SIMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Grau Celsius
µL	Microlitro
mL	Mililitro
Mm	Milimolar
pmol	Picomol
V/cm²	Volume por centímetro quadrado

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1. Biologia do vírus e ciclo de vida.....	19
2.2. A infecção pelo HPV	21
2.3. O papel do HPV na PRR	22
2.4. Epidemiologia da PRR.....	24
3. OBJETIVOS	25
3.1. Objetivo Geral	25
3.2. Objetivos Específicos.....	25
4. MATERIAIS E MÉTODOS	26
4.1. População do estudo e participantes da pesquisa.....	26
4.2. Coleta de dados	26
4.3. Coleta das amostras	27
4.4. Extração e quantificação do DNA.....	27
4.5. Análise molecular da infecção pelo HPV: PCR	27
4.6. Visualização dos produtos amplificados.....	29
4.7. Purificação do produto de PCR.....	29
4.8. Sequenciamento automático	29
4.9. Análise estatística.....	30
4.10. Aspectos éticos	30
5. RESULTADOS	31
6. DISCUSSÃO	35
7. CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIAS	39
APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (menores de 18 anos).....	46
APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	48
APÊNDICE C – TERMO DE ASSENTIMENTO	50
APÊNDICE D – QUESTIONÁRIO SOCIOECONÔMICO.....	52
ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP	53

1. INTRODUÇÃO

O Papilomavírus Humano (HPV) é um vírus não envelopado, com um capsídeo de 55nm de diâmetro, uma dupla-fita de DNA circular e aproximadamente oito mil pares de base (pb) (AFONSO et al., 2016). A infecção pelo HPV é uma das infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) mais comuns em todo o mundo (ALBERO et al., 2013).

Atualmente existem mais de cem tipos de HPV identificados, sendo mais de trinta deles transmitidos pelo contato sexual. Segundo a *International Agency for Research on Cancer* (IARC), o HPV é classificado de acordo com seu potencial oncogênico, podendo ser de alto ou baixo risco. A infecção por tipos de baixo risco pode causar verrugas nas mãos e pés, além de condilomas nas regiões genitais (WEI et al., 2016).

Por outro lado, os tipos virais de alto risco podem causar lesões intraepiteliais de alto e baixo grau e possuem a capacidade de causar carcinomas invasivos (GANGULY; PARIHAR, 2009; ZHOU et al., 2017). Os tipos 16, 18, 33, 39, 45, 52 e 56 são classificados como de alto risco e estão associados ao desenvolvimento de câncer ou lesões pré-cancerosas, sendo os tipos 16 e 18 responsáveis por aproximadamente 70% dos casos de câncer cervical (ZACAPALA-GÓMEZ et al., 2016). Os subtipos considerados de baixo risco oncogênico, principalmente o HPV-6 e HPV-11, são responsáveis por até 90% dos casos de verrugas genitais em ambos os sexos (WEI et al., 2016).

O vírus HPV infecta as células proliferativas da camada basal do epitélio escamoso através de micro lesões (BIRYUKOV; MEYERS, 2015; SCHIFFMAN et al., 2016). Uma vez dentro da célula, o DNA do vírus é liberado do capsídeo e transportado para o núcleo onde o DNA do HPV vai se replicar e se manter na forma episomal (cerca de cem cópias por célula) (FELLER et al., 2009).

O HPV possui tropismo por células epiteliais, infectando principalmente pele e mucosas (HONG; LAIMINS, 2017). Estas infecções geralmente são eliminadas pelo próprio sistema imunológico do hospedeiro, não evoluindo para manifestações clínicas em até 70% dos casos (ZURHAUSEN, 2009; AKOGBE et al., 2012; ZACAPALA-GÓMEZ et al., 2016).

Várias lesões papilomatosas de cabeça e pescoço têm sido atribuídas ao HPV, mas seu papel no desenvolvimento da lesão e a sua correlação com o prognóstico ainda não estão claros (NGUYEN et al., 2014; NIYIBIZI et al., 2014).

Apesar de a maioria das doenças não malignas associadas ao HPV serem atribuídas aos tipos 6 e 11 do vírus, estes também estão associados a lesões epiteliais que podem ter comportamento mais agressivo, como é o caso da papilomatose laríngea também denominada papilomatose respiratória recorrente (PRR) (NGUYEN et al., 2014; NIYIBIZI et al., 2014; OMLAND et al., 2014).

A PRR é uma doença crônica de etiologia viral que ocorre tanto em crianças como em adultos. É causada pelos tipos 6 e 11 de HPV em 90% dos casos. Apesar de benigna, tende a ter um curso clínico agressivo em crianças e pode ser fatal devido a sua alta reincidência e à tendência a se espalhar pelo trato respiratório. O principal sítio de desenvolvimento dos papilomas é a laringe, mas pode ocorrer também na cavidade nasal, traqueia e brônquios (DERKAY; WIATRAK, 2008; VENKATESAN; PINE; UNDERBRINK, 2012; WANG et al., 2015).

A PRR é uma doença relativamente rara, com incidência no Canadá de 0,24 a cada 100.000 habitantes e nos Estados Unidos de 0,36 a 1,11 a cada 100.000 habitantes (HAWKES et al., 2008; LARSON; DERKAY, 2010). A forma de transmissão ainda é pouco discutida, uma vez que o HPV é um vírus transmitido através do contato sexual, acredita-se que a transmissão ocorra da mãe para o bebê durante a passagem pelo canal vaginal (VENKATESAN et al., 2012).

Existem poucos estudos no Brasil sobre a etiologia da PRR e descrição clínica e sociodemográfica dos pacientes portadores desta enfermidade. Em pesquisas nas principais bases de dados (PubMed, SciELO e LILACS) foi verificado que no Maranhão ainda não há estudos sobre o assunto. Desta forma, este estudo irá contribuir para o melhor conhecimento do perfil clínico da doença, especificamente na população maranhense.

A PRR, por ser uma patologia rara, muitas vezes não é levada em conta pelos médicos nos diagnósticos diferenciais de estridor da criança, sendo

confundida muitas vezes com asma, alergias, laringite, bronquite e nódulos ou cistos nas cordas vocais.

O diagnóstico precoce é importante de modo a prevenir o crescimento de papilomas e a consequente obstrução grave das vias aéreas. Desta forma, os resultados deste estudo podem servir de alerta para os profissionais da saúde sobre a importância da PRR nos diagnósticos. Além disso, o conhecimento dos tipos virais envolvidos no desenvolvimento da PRR é importante para se definirem medidas profiláticas e terapêuticas na população.

Portanto, objetivou-se avaliar as características sociodemográficas, clínicas e a infecção pelo HPV em pacientes com papilomatose respiratória, tratados em hospital de referência de São Luís, Maranhão.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Biologia do vírus e ciclo de vida

O Papilomavírus humano (HPV) é um vírus não envelopado, com um capsídeo de 55 nm de diâmetro contendo uma dupla-fita de DNA com aproximadamente oito mil pares de base (EFTEKHAAR et al., 2017). O genoma é composto por \pm 8000 pb (ou 8kpb) e é dividido em três regiões: uma não-codificante denominada LCR (*long control region*), que controla a transcrição viral e a replicação do DNA, uma codificante denominada E (*early*), que codifica 6 diferentes genes: E1, E2, E4, E5, E6 e E7 e outra também codificante denominada L (*late*), que codifica dois genes: L1 e L2. (Figura 1) (GANGULY; PARIHAR, 2009).

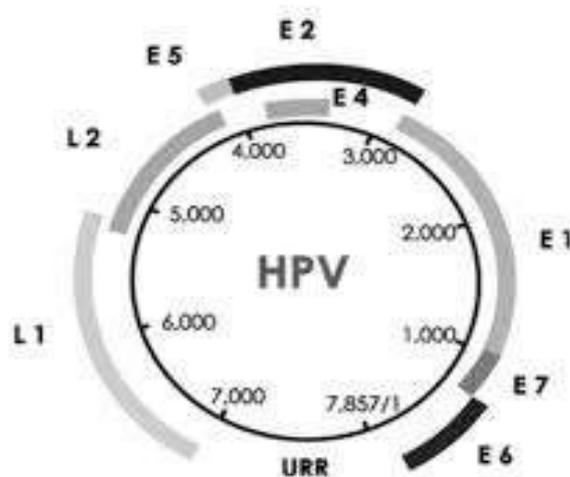


Figura 1. Representação esquemática do genoma do HPV.

(MUÑOZ et al, 2006).

Existem atualmente mais de cem tipos de HPV descritos e que infectam o epitélio cutâneo ou de mucosas (HEBNER; LAIMINS, 2006; GANGULY; PARIHAR, 2009). Sua transmissão é, principalmente, por via sexual, podendo ocorrer também através de autoinoculação, já que as mãos são consideradas reservatórios da infecção tanto em homens como em mulheres (HERNANDEZ et al., 2008). Estudos sugerem que o HPV também pode ser transmitido da mãe para o bebê durante o parto (RINTALA et al., 2005; IVANCIC et al., 2018).

O ciclo de vida do HPV está intimamente relacionado ao processo de diferenciação e renovação do epitélio. O epitélio escamoso normal cresce como camadas estratificadas em que apenas as células da camada basal são capazes de proliferar, enquanto as células dos estratos superiores tornam-se diferenciadas e não proliferativas. Durante a renovação do epitélio, a célula basal se divide e uma das células-filha migra para as camadas superiores do tecido, iniciando sua diferenciação e interrompendo o seu ciclo proliferativo, enquanto a outra célula-filha permanece na camada basal com fenótipo proliferativo, perpetuando a linhagem. Células infectadas pelo HPV perdem a capacidade de controlar o ciclo celular mesmo quando diferenciadas (WOODMAN et al., 2012) (Figura 2).

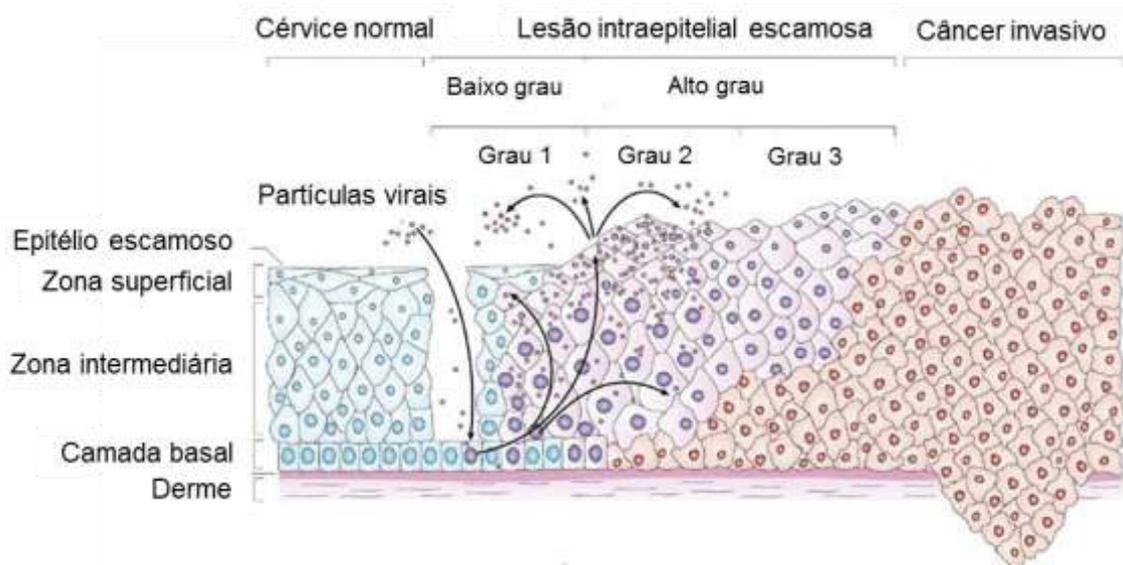


Figura 2. Progressão tumoral mediada pelo HPV.

(WOODMAN et al., 2012)

A entrada do HPV na célula ocorre através de microfissuras na camada basal do epitélio. Por meio de um processo ainda não conhecido, o HPV penetra na célula, migra para o núcleo e permanece na forma episossomal, ou seja, circular no núcleo da célula do hospedeiro. Após seu estabelecimento, o HPV inicia sua replicação extra cromossômica na célula hospedeira chegando ao número de 50/100 episossomos por célula (HEBNER; LAIMINS, 2006; GANGULY; PARIHAR, 2009).

À medida que a célula basal se divide, os episômos do HPV também são replicados e se distribuem entre as células-filhas. Nas camadas mais superficiais do epitélio, o DNA viral é envolvido pelo capsídeo recém-sintetizado e os vírions formados são liberados junto com a descamação normal do epitélio.

2.2. A infecção pelo HPV

A infecção pelo HPV pode causar diferentes patologias na epiderme e nos tratos genital, gastrointestinal e respiratório de humanos (EFTEKHAAR et al., 2017). No trato genital, é considerada uma das infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) mais comuns em todo o mundo, uma vez que dois terços dos adultos jovens adquirem HPV nos dois primeiros anos de atividade sexual (HEBNER; LAIMONIS, 2006). Estima-se que até 70% da população contrai o HPV em algum momento de sua vida (KAHN; LAN; KAHN, 2007).

Dentre os fatores de risco para infecção pelo HPV podemos citar: (1) imunossupressão (transplantados e pacientes HIV positivos); (2) homens ou mulheres com mais de dez parceiros sexuais; (3) não utilização de preservativo; (4) má higiene íntima; (5) tabagismo; (6) terapia com radiação; (7) fimose; (8) bebês cujas mães possuem HPV de alto risco (RINTALA et al., 2005; CROSIGNANI et al., 2013).

A maioria dos vírus é de baixo risco e causam apenas verrugas benignas que não evoluem malignamente, mesmo se não tratadas. O HPV-1, HPV-2, HPV-4 e HPV-26 são alguns dos responsáveis pelas verrugas cutâneas comuns. HPV-6 e o HPV-11 são geralmente os responsáveis pelo aparecimento das verrugas genitais também denominados *condiloma accuminata* (CROSIGNANI et al., 2013).

Os vírus HPV de alto risco são os responsáveis pelo aparecimento de lesões intraepiteliais que podem progredir para carcinomas escamosos invasivos. Dentre os tumores cuja presença de HPV já foi detectada, o câncer de colo de útero é o que apresenta maior associação com a infecção por este vírus. Cerca de 99% dos tumores cervicais estão associados à infecção pelos vírus HPV de alto risco, sendo o tipo 16 o mais prevalente, seguido pelos tipos 18 e 31 (HEBNER; LAIMINS, 2006; GANGULY; PARIHAR, 2009). Os

carcinomas epidermóides penianos e anais também têm como principal agente etiológico o HPV (ABBASAKOOR; BOULOS, 2005; KIDD et al., 2017).

2.3. O papel do HPV na PRR

A PRR é uma doença crônica rara cujo agente etiológico é o HPV, sendo os tipos 6 e 11 presentes em 90% dos casos. O vírus provoca o surgimento de papilomas exofíticos na mucosa epitelial do trato respiratório (Figura 3).

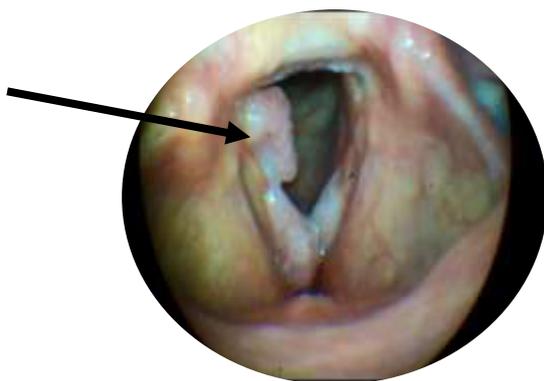


Figura 3.Exemplo de lesão papilomatosa na região laríngea (seta). Acometimento glótico (mais comum). Lesões em toda extensão de prega vocal direita e 1/3 anterior de prega vocal esquerda.

Fonte: BENEVITI, J. (2018).

A PRR também é conhecida como papilomatose glotal devido à predileção das lesões em surgir na glote, que é a estrutura anatômica localizada na porção final na laringofaringe com a função de impedir a entrada de alimentos facilitando a saída e a entrada de ar para os brônquios e pulmões. Entretanto, os papilomas podem surgir em qualquer região ao longo do trato respiratório, como traqueia, brônquios, pulmões, orofaringe e cavidade nasal (REEVES et al., 2003; GÉLINAS et al., 2008; MAMMAS et al., 2009).

Baseado na idade do paciente, a PRR pode ser classificada em PRR-juvenil, quando atinge indivíduos com doze ou abaixo dos doze anos de idade; e PRR-adulta, acometendo indivíduos acima dos 12 anos (FARHADI et al., 2016; IVANCIV et al., 2018). A forma de transmissão ainda é pouco discutida, porém, a transmissão vertical é o meio mais provável e aceito (LEE et al., 2013; MÉSZNER et al., 2015; FARHADI et al., 2016).

Estudos observaram que cerca de 80% dos neonatos nascido de mulheres com HPV genital possuem o DNA do HPV no aspirado de nasofaringe e cavidade oral (SILVERBERG et al., 2003; ROMBALDI et al., 2009; LEE et al., 2013). Apesar disso, o desenvolvimento da doença clínica é incomum e parece estar relacionada a uma resposta imune disfuncional observada em alguns pacientes e que ainda não está bem elucidada (BONAGURA et al., 2010; DEVOTI et al., 2014).

A PRR-juvenil possui um curso clínico mais agressivo do que a PRR-adulta (IVANCIC et al., 2018). A transmissão da PRR-adulta ainda não está clara. Estudos levam a crer que a transmissão poder ser via sexual ou por reativação de uma infecção latente adquirida na infância, porém nada está confirmado (OMLAND et al., 2014; RUIZ et al., 2014).

Os sintomas clássicos da PRR são disfonia e dispneia. O diagnóstico precoce é importante, já que as massas verrucosas crescem e, progressivamente, levam à afonia e à obstrução das vias aéreas superiores (EFTEKHAAR et al., 2016). Em pacientes onde a doença é mais agressiva, a traqueostomia torna-se necessária (IVANCIC et al., 2018). Além disso, estudos relatam uma malignização destas lesões em alguns casos (NEBESIO et al., 2001; DERKAY; WIATRAK, 2008; TIPLE et al., 2015).

Não existe cura para a PRR. O tratamento é voltado à manutenção da voz do paciente e desobstrução das vias aéreas superiores. Para isso, o manejo tradicional da PRR é a excisão das lesões, em centro cirúrgico, com instrumentos a frio, laser de CO₂ ou microdebridação (IVANCIC et al., 2018). Geralmente, especialmente na PRR-juvenil, são necessárias múltiplas cirurgias para melhorar a qualidade de vida do paciente (DERKAY; WIATRAK, 2008; SHETTY et al., 2013).

Tratamentos adjuvantes são utilizados em alguns casos em que somente a cirurgia não controla a reincidência da doença (SCHRAFF et al., 2004). Terapias adjuvantes incluem imunomoduladores (interferons), antivirais (cidofovir), anti-angiogênicos (bevacizumab), anti-inflamatórios (celecoxib) e, mais recentemente, a vacina contra o HPV (IVANCIC et al., 2018).

A vacina contra o HPV, especificamente o Gardasil®, é utilizada no Brasil para a prevenção do HPV, por meio da imunização de meninas de nove a catorze anos, e meninos de onze a catorze anos (BRASIL, 2017).

Estudos vêm relatando que o tratamento com a vacina de crianças com PRR severa diminui o tempo de reincidência da doença (FORSTER et al., 2008; HOCEVAR-BOLTEZAR et al., 2014; YOUNG et al., 2015). Entretanto, apesar desses resultados promissores, estudos multicêntricos randomizados controlados são necessários para avaliar a real eficácia da vacinação contra o HPV como vacina terapêutica na população com PRR (IVANCIC et al., 2018).

2.4. Epidemiologia da PRR

Como a PRR é uma doença rara, poucos estudos avaliam sua prevalência e esses estudos estão concentrados em países desenvolvidos, como Estados Unidos, Canadá e Dinamarca (LINDEBERG; ELBROND, 1990; DERKAY, 1995; ARMSTRONG et al., 2000; REEVES et al., 2003; CAMPISI et al., 2010).

A PRR é uma doença relativamente rara, com incidência de 0,24 a cada 100.000 habitantes no Canadá, e 0,36 a 1,11 a cada 100.000 nos Estados Unidos (CAMPISI et al., 2010; LARSON; DERKAY., 2010). Derkay e Wiatrak (2008) estimaram uma taxa de incidência de 4.3 para cada 100.000 da PRR-juvenil e 1.8 a cada 100.000 para a PRR-adulta.

A prevalência da PRR é bastante variável e depende de vários fatores, como localização geográfica, início da patologia e condição socioeconômica. Não existe ainda um estudo que avalie a incidência da PRR no Brasil. O que existem são alguns trabalhos com coortes com pequena amostra de pacientes portadores de papilomatose (XIMENES et al., 2003; MATOS et al., 2013; SILVA et al., 2014).

O Maranhão, assim como outros estados da região Norte e Nordeste, apresenta condições socioeconômicas, educacionais e de saúde inferiores a outros estados do Brasil, principalmente àqueles localizados nas regiões Sul e Sudeste.

Segundo o IBGE (2010), o Maranhão é o segundo estado com menor IDH (Índice de Desenvolvimento Humano) no Brasil. Devido a estas características, o estado está sujeito a maiores índices de doenças que se dão por meio de má condição sanitária, higiene ou falta de informação, como é o caso das lesões causadas pelo HPV.

3.OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar as características sociodemográficos, clínicas e a infecção pelo HPV em pacientes com papilomatose respiratória, tratados em hospital de referência de São Luís, Maranhão.

3.2. Objetivos Específicos

- Descrever os dados sociodemográficos da população estudada;
- Avaliar os dados histopatológicos das amostras;
- Avaliar a prevalência da infecção pelo HPV nas lesões papilomatosas;
- Analisar os tipos mais prevalentes de HPV nas lesões papilomatosas;
- Comparar as duas formas de apresentação, juvenil e adulta, em relação às variáveis clínicas avaliadas.

4.MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. População do estudo e participantes da pesquisa

A população do estudo constituiu-se de indivíduos atendidos no Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (HUUFMA), no período de julho de 2013 a junho de 2019, diagnosticados com papilomatose laríngea, totalizando 12 pacientes, entretanto, um paciente foi excluído do estudo já que, posteriormente, o laudo histopatológico classificou a lesão como um pólipó vocal ao invés de papiloma. Portanto, a amostra final foi composta por 11 pacientes diagnosticados com papilomatose laríngea. As amostras foram coletadas por conveniência, de acordo com o número de pacientes que deram entrada no referido hospital.

Como critérios de inclusão, os participantes da pesquisa foram indivíduos de todas as idades com diagnóstico final de papilomatose laríngea, de ambos os sexos, submetidos à cirurgia para retirada dos papilomas.

Como critério de exclusão, pacientes diagnosticados com outras patologias laríngeas como nódulos nas cordas vocais.

Aos participantes e responsáveis pelos menores foi explicada toda a pesquisa e entregue o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndices A e B). Às crianças letradas, geralmente àquelas acima de sete anos, foi aplicado, após aceite dos responsáveis, o termo de assentimento (Apêndice C).

4.2. Coleta de dados

Os participantes com PRR tratados no Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão foram identificados e seus dados clínicos e sociodemográficos foram coletados por meio de revisão dos prontuários médicos e por um questionário sociodemográfico aplicado pelo aluno/pesquisador (Apêndice D).

As características histopatológicas das lesões foram obtidas dos laudos histopatológicos.

4.3. Coleta das amostras

As amostras foram coletadas durante a cirurgia e acondicionadas em RNA Later (*Life Technologies*) a 4°C e, no dia seguinte, armazenadas em freezer a -80°C.

4.4. Extração e quantificação do DNA

A extração do DNA genômico total das amostras congeladas foi realizada como descrito pelo manual de uso do *kitDNeasy Blood and Tissue* (QIAGEN Ltd,UK). Resumidamente, o fragmento da lesão foi seccionado e depositado em tubos de 2 mL, onde foram ressuspensos em 180µL de tampão ATL e 20µL de Proteinase K. A digestão ocorreu a 56°C em termomixer por 24 horas. Posteriormente, foi adicionado 200µL de Tampão AL e os tubos foram incubados a 56°C por dez minutos em termomixer. Em seguida, foi adicionado 200µL de Etanol (96-100%) à amostra, e a mistura foi transferida para um tubo contendo uma coluna de sílica. O tubo foi centrifugado e a coluna lavada com diferentes tampões. Ao final, foi adicionado no centro da coluna 100µL de Tampão AE e, em seguida, centrifugada a 14.000 rpm, durante quatro minutos para a obtenção do DNA. As amostras foram identificadas e armazenadas a -20°C para posterior utilização nas reações de PCR.

A pureza e a concentração do DNA foram determinadas por meio do espectrofotômetro Nanovue (GE, USA). Quando as relações entre as densidades ópticas, A260/A280, for igual ou maior que 1.7, o material será considerado puro.

4.5. Análise molecular da infecção pelo HPV: PCR

Para detecção do vírus nas amostras, foi realizada a técnica de PCR Nested. Esta técnica consiste em duas reações subsequentes de PCR. A primeira utiliza como molde o DNA genômico e a segunda reação utiliza como molde o produto da primeira reação. Os primers utilizados foram PGMY 09 e PGMY11, e GP+5 e GP+6 (Tabela 1).

Tabela 1. Sequência de nucleotídeos dos primers utilizados no estudo (COUtlÉE et al., 2002).

Primers		Sequência 5' → 3'
PGMY11	PGMY11-A	GCA CAG GGA CAT AAC AAT GG
	PGMY11-B	GCG CAG GGC CAT AAT AAT GG
	PGMY11-C	GCA CAG GGA CAT AAT AAT GG
	PGMY11-D	GCC CAG GGC CAC AAC AAT GG
	PGMY11-E	GCT CAG GGT TTA AAC AAT GG
PGMY09	PGMY09-F	CGT CCC AAA GGA AAC TGA TC
	PGMY09-G	CGA CCT AAA GGA AAC TGA TC
	PGMY09-H	CGT CCA AAA GGA AAC TGA TC
	PGMY09-Ia	G CCA AGG GGA AAC TGA TC
	PGMY09-J	CGT CCC AAA GGA TAC TGA TC
	PGMY09-K	CGT CCA AGG GGA TAC TGA TC
	PGMY09-L	CGA CCT AAA GGG AAT TGA TC
	PGMY09-M	CGA CCT AGT GGA AAT TGA TC
	PGMY09-N	CGA CCA AGG GGA TAT TGA TC
	PGMY09-Pa	G CCC AAC GGA AAC TGA TC
	PGMY09-Q	CGA CCC AAG GGA AAC TGG TC
	PGMY09-R	CGT CCT AAA GGA AAC TGG TC
	HMB01b	GCG ACC CAA TGC AAA TTG GT
GP+5		TTT GTT ACT GTG GTA GAT ACT AC
GP+6		GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT C

A primeira reação utilizou os primers PGMY09/11. A ciclagem ocorreu com uma desnaturação inicial por dois minutos a 95°C, seguido por 40 ciclos de desnaturação por 40 segundos a 95°C, 40 segundos de anelamento a 55°C, 40 segundos de extensão a 72°C. A reação resultou em um volume final de 25 µl contendo 10 pmol de cada primer, 2.5µl de tampão 10X, 0.5µl de cloreto de magnésio a 50 Mm, 10 Mm dNTP e 0.2 µl de *Taq Polimerase Platinum* (Invitrogen) (COUtlÉE et al., 2002).

A segunda reação foi realizada somente se a primeira reação foi negativa para infecção pelo HPV. Nesta reação, foram utilizados os primers GP5+/GP6+, onde a desnaturação inicial ocorreu por quatro minutos a 95°C seguida por 45 ciclos de desnaturação por 45 segundos a 95°C, anelamento a 40°C por 1 minuto e extensão por 1 minuto a 72°C. A reação resultou em um volume final de 25 µL contendo 10 pmol de cada primer, 2.5µL de tampão 10X, 1.5µL de cloreto de magnésio a 50 Mm, 10 Mm dNTP e 0.3 µL de Taq Polimerase Platinum (Invitrogen) (COUtlÉE et al., 2002).

4.6. Visualização dos produtos amplificados

Os produtos das reações foram visualizados por eletroforese em gel de agarose 1.5% em tampão TBE 1X. Uma alíquota de 5µL de DNA foi homogeneizada em uma solução de tampão de carregamento (Sigma-Aldrich, USA) e corante 0.1% de *Gel Red*, sendo toda a mistura aplicada no gel. A eletroforese foi realizada por 30 - 50 minutos a 5 V/cm² em cuba horizontal (*Life Technologies*, EUA). Os fragmentos de DNA amplificados foram visualizados em um transiluminador de luz ultravioleta (BIO-RAD Laboratories, EUA).

4.7. Purificação do produto de PCR

Os produtos de PCR foram purificados com o *kit Genelute PCR Clean up*, de acordo com o protocolo do fabricante (Sigma-Aldrich, USA). Em cada microtubo foi adicionado 500 µL de tampão de captura a 100 µL de produto de PCR. Esta solução foi transferida a uma coluna *Microspin* com tubo coletor e depois de uma série de lavagens com tampões, foram adicionados ao centro da coluna 25 µL de tampão de eluição. O material foi centrifugado e armazenado a -20 °C para posterior sequenciamento.

4.8. Sequenciamento automático

As reações de sequenciamento foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Estadual do Maranhão localizado no Centro de Estudos Superiores de Caxias-CESC-UEMA, sob a supervisão do Doutor Elmary da Costa Fraga. O sequenciamento foi realizado com o *kitET*

Dye Terminator Cycle Sequencing kit (GE Healthcare, UK), de acordo com o protocolo do fabricante. Foram utilizados, em cada reação, 2 µL do produto de PCR purificado, 40 ng dos oligonucleotídeos específicos para cada exóns (senso ou antisenso) e 2 µL do kit. O sequenciador que foi utilizado é o MegaBACE 1000 (GE Healthcare, UK).

4.9. Análise estatística

As frequências das variáveis categóricas foram calculadas no programa Epi Info 7® (CDC). Nas comparações entre as duas formas de apresentação clínica da papilomatose laríngea, foi realizado uma comparação por meio do teste exato de *Fisher*, sendo os resultados considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$. Toda a análise estatística foi realizada também no programa Epi Info 7® (CDC).

4.10. Aspectos éticos

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Maranhão e aprovado sob parecer nº 1.377.876 (Anexo A).

4.11. Financiamento

Todo o material foi adquirido através do financiamento da FAPEMA (Universal-00460/15).

5.RESULTADOS

Fez-se a análise dos dados e das amostras de doze pacientes atendidos no Hospital Universitário Presidente Dutra, no período de julho de 2013 a junho de 2019. Entretanto, um paciente foi excluído do estudo, pois o laudo histopatológico classificou a lesão como um pólipó de cordas vocais, ao invés de papiloma, posteriormente. Portanto, a amostra final foi composta por onze pacientes diagnosticados com Papilomatose Respiratória Recorrente.

A tabela 2 refere-se às variáveis sociodemográficas e clínicas, onde a maioria dos pacientes eram do sexo feminino (54,55%), de cor declarada parda (90,91%), residentes na capital do estado (54,55%). O parto vaginal foi o mais frequente entre os pacientes analisados (81,82%). Dentre as manifestações clínicas mais comuns no quadro de PRR, observou-se que quase todos os participantes apresentaram disfonia (90,91%), mais da metade apresentou dispneia (63,64%), sendo que somente dois pacientes necessitaram de traqueostomia devido ao agravamento do quadro de dispneia (18,18%), e somente três pacientes relataram sofrer de disfagia (27,27%). A PRR juvenil foi mais frequente em nosso estudo, com 63,63%. Mais da metade dos pacientes (63,64%) apresentaram recorrência dos papilomas, sendo submetidos a múltiplas intervenções cirúrgicas.

Tabela 2. Descrição sociodemográfica e clínica de 11 pacientes atendidos no HUUFMA com diagnóstico de PRR, São Luís, Maranhão.

	N (11)	%
Idade média (DP) 12,63 (11,54)		
Sexo		
F	06	54.55
M	05	45.45
PRR		
Juvenil (\leq 12 anos)	07	63.63
Adulta ($>$ 12 anos)	04	36.36
Cor declarada		
Branco	01	9,09
Pardo	10	90,91
Procedência		
Capital	06	54.55
Interior	05	45.45
Tipo de parto		
Vaginal	09	81.82
Cesária	01	9.09
Não informado	01	9.09
Nº de recorrências		
Nenhuma	04	36.36
\geq 2	07	63.64
Dispneia		
Sim	07	63.64
Não	04	36.36
Disfagia		
Sim	03	27.27
Não	08	72.73
Disfonia		
Sim	10	90.91
Não	01	9.09
Traqueostomia		
Sim	02	18.18
Não	09	81.82

Todos os onze pacientes estudados foram submetidos à ressecção cirúrgica dos papilomas, através da técnica de laringoscopia direta com utilização de pinças frias (microcirurgia de laringe convencional). Com relação à presença do vírus HPV, todas as amostras (100%) estavam infectadas. Entre os tipos virais identificados, 90,91% dos pacientes apresentaram o HPV de baixo risco tipo 6, enquanto somente em um paciente foi identificado o HPV-18, conhecido como de elevado risco oncogênico (Tabela 3).

Tabela 3. Presença do HPV em lesões papilomatosas de laringe de 11 pacientes atendidos no HUUFMA com diagnóstico de PRR, São Luís, Maranhão.

	N (11)	%
Sim	11	100
HPV-6	10	90,91
HPV-18	01	09,09

Quando comparadas as duas formas de papilomatose (juvenil e adulta) com parâmetros relacionados à agressividade da doença, não encontramos associação com nenhuma das variáveis (Tabela 4).

Entre os onze pacientes estudados, cinco eram do sexo masculino, sendo dois do grupo juvenil e três do grupo adulto. Seis eram do sexo feminino, sendo cinco do grupo juvenil e uma do grupo adulto. Comparando os dois grupos, não foi encontrada diferença estatística significativa em relação ao sexo dos pacientes ($p=0,24$). Todos os pacientes com PRR-juvenil haviam nascido de parto normal, enquanto o único paciente nascido por meio de cesárea foi no grupo PRR-adulta ($p=0,3$).

As recorrências das lesões foram mais frequentes no grupo PRR-juvenil, porém sem diferença significativa ($p=0,36$). A disfonia e a dispneia também foram mais frequentes no grupo PRR-juvenil, mas sem significância estatística quando comparado ao grupo PRR-adulto ($p=0,36$ e $p=0,08$, respectivamente). O sintoma de disfagia ocorreu somente em pacientes do grupo PRR-juvenil. Todos os pacientes com PRR-juvenil apresentaram HPV de baixo risco oncogênico. O único paciente portador do HPV de alto risco era do

grupo PRR-adulta. Os dois pacientes que necessitaram do procedimento de traqueostomia eram do grupo PRR-juvenil.

Tabela 4. Comparações entre as duas formas de apresentação clínica da PRR e as variáveis de agressividade. N=11.

	PRR-Juvenil	PRR-Adulta	P
Sexo			0.24
Masculino	2 (29%)	3 (75%)	
Feminino	5 (71%)	1 (25%)	
Cor			1.00
Pardo	6 (86%)	4 (100%)	
Branco	1 (14%)	0	
Parto			0.3
Natural	7	2	
Cesárea	0	1	
Não informado	-	-	
Recorrência			0.36
Sim	6 (86%)	2 (50%)	
Não	1 (14%)	2 (50%)	
Dispneia			0.08
Sim	6 (86%)	1 (25%)	
Não	1 (14%)	3 (75%)	
Disfagia			0.23
Sim	3 (43%)	0	
Não	4 (57%)	4 (100%)	
Disfonia			0.36
Sim	7 (100%)	3 (75%)	
Não	0	1 (25%)	
Tipo de HPV			
Baixo risco	7 (100%)	3 (75%)	
Alto risco	0	1 (25%)	
Traqueostomia			0.49
Sim	2 (29%)	0	
Não	5 (71%)	4 (100%)	

6. DISCUSSÃO

Não há uma unanimidade entre os estudos sobre a prevalência da PRR entre os sexos. Alguns autores reportam uma maior ocorrência no sexo masculino, enquanto outros relatam uma taxa de prevalência igual da PRR em ambos os sexos (OMLAND, 2014; FORTES, 2017; FIGUEIREDO, 2018; JAMES, 2018). Em nosso estudo, não observamos diferença estatística significativa entre os grupos de PRR juvenil e adulto no que diz respeito ao sexo dos indivíduos ($P= 0.24$).

A PRR juvenil foi mais frequente em nosso estudo, com 63,63% dos pacientes com 12 anos de idade ou menores, além disso, todos os indivíduos do grupo PRR juvenil nasceram de parto normal. Alguns estudos apontam que a doença é mais comum em crianças, e acredita-se que o vírus seja transmitido pelo contato com secreções infectadas durante a passagem pelo canal vaginal, durante o parto. Em adultos, a infecção pelo HPV pode ocorrer após o sexo oral (MARCHIORI, 2008; KATSEKOS, 2011; FUSCONI, 2014; CARIFI, 2015; FORTES, 2017).

Estudos prévios mostraram que a PRR na maioria dos casos está afetando uma população pediátrica e a maior prevalência é entre menores de 5 anos (CARIFI, 2015; JAMES, 2018). Em nosso estudo, 45,45% dos pacientes tinham até 5 anos de idade no momento do diagnóstico. A imaturidade do sistema imune e o tipo de HPV podem estar relacionados à maior gravidade da PRR em crianças (XIMENES, 2003; BUCHINSKY, 2008; FIGUEIREDO, 2018).

A disfonia é o sintoma mais comumente observado entre os pacientes (ADOGA, 2008; SILVA et al., 2014), o que corrobora com nosso estudo, o qual esteve presente em 90,91% dos pacientes avaliados.

A dispneia é o segundo sintoma mais relatado na literatura (SILVA et al., 2014; WILCOX, 2014), o que pode ser observado em nosso trabalho, onde mais da metade dos pacientes apresentaram dispneia (63,64%). Levando em consideração somente o grupo de PRR juvenil, 86% dos indivíduos apresentaram dispneia. Isso se deve ao fato de que a laringe da criança, especialmente na região subglótica, é menor que a dos adultos, o que facilita a ocorrência de obstrução nos estágios iniciais da doença (XIMENES, 2003; BUCHINSKY, 2008; FIGUEIREDO, 2018).

A incidência de traqueotomia em pacientes com papilomatose laríngea observada na literatura varia de 1,8 a 64%. Em nosso estudo observamos que somente dois pacientes, equivalente a 18,2% da população estudada, necessitaram do procedimento. Corroborando com outros autores, onde estudos preliminares demonstram maior necessidade do procedimento em indivíduos com menos de 11 anos, os dois indivíduos do nosso estudo eram do grupo PRR-juvenil, o que demonstra uma maior agressividade da doença neste grupo (FILHO, 2003; NOVAKOVIC, 2016; IVANCIC, 2018; MAÏGA, 2018).

A taxa de recidiva da doença foi de aproximadamente 64%, sendo que 86% em indivíduos pertencentes ao grupo juvenil e 50% apresentaram PRR adulta ($P=0,36$). Dados semelhantes foram observados por Ximenes e colaboradores (2003), onde a taxa de recidiva geral foi de 66%, sendo de 76,2% na forma juvenil e 56,5% na forma adulta ($p=0,17$); e por Garcia-Romero e colaboradores (2015), onde a taxa de recidiva de 35 indivíduos com PRR-adulta foi de 40%.

O HPV-DNA foi encontrado em 100% das lesões, o que corrobora com a literatura, onde o HPV é o agente etiológico da PRR, e com outros trabalhos, que também detectaram a presença do DNA-HPV em todas as amostras de papilomas analisados (WIATRAC, 2004; MONTAÑO-VELÁZQUEZ, 2017; SEEDAT, 2018; MATINHIRA, 2019).

Os HPV de baixo risco do tipo 6 e 11 são mais comumente encontrados nas lesões papilomatosas de laringe (WILCOX, 2014; GARCÍA-ROMERO, 2015; NOVAKOVIC, 2016; MONTAÑO-VELÁZQUEZ, 2017; IVANCI, 2018; SEEDAT, 2018; MATINHIRA, 2019). A genotipagem dos tipos virais na população deste estudo demonstrou que o único tipo viral de baixo risco encontrado foi o HPV-6. O HPV-11 não foi encontrado nas lesões papilomatosas analisadas. Outros estudos também observaram maior prevalência do HPV-6. Matos e colaboradores (2013) observaram em uma população brasileira a presença do HPV-6 (72%) sobre o HPV-11 (28%) em 25 pacientes com PRR. Eftekhaar e colaboradores (2017) observaram em 12 pacientes iranianos com PRR uma prevalência do HPV-6 de 75% sobre o HPV-11 (16,7%). Em um estudo sueco, com 55 pacientes com PRR, Tjon e colaboradores (2015) viram que dos 76% dos pacientes estavam infectados

com HPV-6 e 24% com HPV-11. Garcia-Romero e colaboradores (2015) demonstraram a presença do HPV-6 em 80% dos casos e viram que apenas 8% possuíam o HPV-11. Assim como em nosso estudo, um dos pacientes apresentou um HPV de alto risco, no caso o tipo 18.

Um dos pacientes desse estudo, de 14 anos e do sexo masculino, apresentou infecção pelo HPV de alto risco oncogênico, no caso, o tipo 18. Baseado na classificação de Farhadi e colaboradores (2016) e Ivancic e colaboradores (2018), a PRR neste caso é classificada como adulta e pode estar relacionado com uma provável transmissão através do sexo oral (GARCÍA-ROMERO, 2015; FORTES, 2017; FIGUEIREDO, 2018). Porém, não podemos inferir que este foi o caso.

A incidência do HPV em uma população está diretamente relacionada a sua condição socioeconômica (SOUSA et al., 2015), o mesmo se refere à PRR. Estudos demonstram que a PRR é mais frequente em pacientes com condição socioeconômica menos favorecida, como é o caso de grande parte da população maranhense (LEUNG, 2007; MARSICO, 2015; CARIFI, 2015; FORTES, 2017).

7. CONCLUSÃO

Com o presente estudo, foi possível observar que a população avaliada de portadores de papilomatose respiratória era composta, principalmente, por crianças de cor declarada parda, do sexo feminino, residentes na capital do estado. A maioria dos pacientes nasceram de parto natural, corroborando com a ideia de transmissão vertical. Observou-se a prevalência do HPV 6 (baixo risco oncogênico) em 90,91% das amostras. O HPV-18, considerado de alto risco oncogênico e associado ao desenvolvimento do câncer, esteve presente em apenas um paciente (9,09%). O sintoma mais relatado foi a disfonia (90,91%), e a maior parcela de pacientes (63,64%) apresentaram duas ou mais recorrências, caracterizando uma alta taxa de reincidência da doença.

Contudo, por ser uma doença rara, os trabalhos sobre o assunto possuem um número amostral reduzido, e estão limitados à pacientes da região Sudeste do país. Portanto, este estudo é o primeiro trabalho que analisa uma população com Papilomatose Respiratória na região Nordeste brasileira.

REFERÊNCIAS

- ABBASAKOOR, F.; BOULOS, PB Neoplasia intraepitelial anal. **Revista Britânica de Cirurgia: Incorporando Revista Européia de Cirurgia e Cirurgia Suíça**, v. 92, n. 3, p. 277-290, 2005.
- ADOGA, A. A.; NIMKUR, L. T.; ADOGA, A. S. Recurrent respiratory papillomatosis in Jos, Nigeria: clinical presentation, management and outcome. **East and Central African Journal of surgery**, v. 13, n. 2, p. 105-108, 2008.
- AFONSO, Larissa A. et al. Infecção por papilomavírus humano de alto risco do prepúcio em homens assintomáticos e pacientes com fimose. **The Journal of urology**, v. 195, n. 6, p. 1784-1789, 2016.
- AKOGBE, Gabriel O. et al. Race and prevalence of human papillomavirus infection among men residing in Brazil, Mexico and the United States. **International journal of cancer**, v. 131, n. 3, p. E282-E291, 2012.
- ALBERO, Ginesa et al. Male circumcision and prevalence of genital human papillomavirus infection in men: a multinational study. **BMC infectious diseases**, v. 13, n. 1, p. 18, 2013.
- ALEMANY, Laia et al. Human papillomavirus DNA prevalence and type distribution in anal carcinomas worldwide. **International journal of cancer**, v. 136, n. 1, p. 98-107, 2015.
- ARMSTRONG, L. R. et al. Incidence and prevalence of recurrent respiratory papillomatosis among children in Atlanta and Seattle. **Clinical Infectious Diseases**, v. 31, n. 1, p. 107-109, 2000.
- BIRYUKOV, Jennifer; MEYERS, Craig. Papillomavirus infectious pathways: a comparison of systems. **Viruses**, v. 7, n. 8, p. 4303-4325, 2015.
- BONAGURA, Vincent R. et al. Recurrent respiratory papillomatosis: a complex defect in immune responsiveness to human papillomavirus-6 and-11. **Apmis**, v. 118, n. 6-7, p. 455-470, 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2018. **Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, RJ. 2017, 128 p.
- BUCHINSKY, FJ; Donfack J, Derkay CS, Choi SS, Conley SF, Myer 3rd CM, et al. Age of child, more than HPV type, is associated with clinical course in recurrent respiratory papillomatosis. *PLoS One* 2008;3(5): e2263.
- CAMPISI, Paolo; HAWKES, Michael; Canadian Juvenile Onset Recurrent Respiratory Papillomatosis Working Group. The epidemiology of juvenile onset recurrent respiratory papillomatosis derived from a population level national database. **The Laryngoscope**, v. 120, n. 6, p. 1233-1245, 2010.

- CARIFI, Marco et al. Recurrent respiratory papillomatosis: current and future perspectives. **Therapeutics and clinical risk management**, v. 11, p. 731, 2015.
- CHIRILĂ, Magdalena; BOLBOACĂ, Sorana D. Clinical efficiency of quadrivalent HPV (types 6/11/16/18) vaccine in patients with recurrent respiratory papillomatosis. **European Archives of Oto-Rhino-Laryngology**, v. 271, n. 5, p. 1135-1142, 2014.
- COELHO, Ronald Wagner Pereira et al. Penile cancer in Maranhão, Northeast Brazil: the highest incidence globally. **BMC urology**, v. 18, n. 1, p. 50, 2018.
- COUILLÉE, François et al. Use of PGM1 primers in L1 consensus PCR improves detection of human papillomavirus DNA in genital samples. **Journal of clinical microbiology**, v. 40, n. 3, p. 902-907, 2002.
- CROSIGNANI, Piergiorgio et al. Towards the eradication of HPV infection through universal specific vaccination. **BMC publichealth**, v. 13, n. 1, p. 642, 2013.
- DE MATOS, Renata Prandini Adum et al. Nucleotide and phylogenetic analysis of human papillomavirus types 6 and 11 isolated from recurrent respiratory papillomatosis in Brazil. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 16, p. 282-289, 2013.
- DE SOUSA, Isaura Danielli Borges et al. Prevalence of human papillomavirus in penile malignant tumors: viral genotyping and clinical aspects. **BMC urology**, v. 15, n. 1, p. 13, 2015.
- DERKAY, Craig S.; WIATRAC, Brian. Recurrent respiratory papillomatosis: a review. **The Laryngoscope**, v. 118, n. 7, p. 1236-1247, 2008.
- DEVOTI, James et al. Decreased langerhans cell responses to IL-36 γ : Altered innate immunity in patients with recurrent respiratory papillomatosis. **Molecular Medicine**, v. 20, n. 1, p. 372, 2014.
- EFTEKHAAR, Negin Sadat et al. Human papillomavirus (HPV) genotype distribution in patients with recurrent respiratory papillomatosis (RRP) in Iran. **Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP**, v. 18, n. 7, p. 1973, 2017.
- FARHADI, Mohammad et al. Contovir-a new adjuvant therapy in recurrent respiratory papillomatosis: A case study. **Iranian Red Crescent Medical Journal**, v. 19, n. 12, 2017.
- FELLER, Liviu et al. Epithelial maturation and molecular biology of oral HPV. **Infectious agents and cancer**, v. 4, n. 1, p. 16, 2009.
- FIGUEIREDO, Marcelo Cardoso et al. Prevalence and clinical implications of low-risk human papillomavirus among patients with recurrent respiratory papillomatosis in Rio de Janeiro, Brazil. **AurisNasusLarynx**, 2018.

- FILHO, João Aragão Ximenes et al. Papilomatose laríngea recorrente: experiência de 10 anos. **Rev Bras Otorrinolaringol**, v. 69, n. 5, p. 599-604, 2003.
- FÖRSTER, G. et al. Juvenile laryngeal papillomatosis--immunisation with the polyvalent vaccine gardasil. **Laryngo-rhino-otologie**, v. 87, n. 11, p. 796-799, 2008.
- FORTES, Helena Ribeiro et al. Papilomatose respiratória recorrente: uma revisão de última geração. **Medicina respiratória**, v. 126, p. 116-121, 2017.
- FUSCONI, M. et al. Recurrent respiratory papillomatosis by HPV: review of the literature and update on the use of cidofovir. **Acta Otorhinolaryngologica Italica**, v. 34, n. 6, p. 375, 2014.
- GANGULY, Niladri; PARIHAR, Suraj P. Human papillomavirus E6 and E7 oncoproteins as risk factors for tumorigenesis. **Journal of biosciences**, v. 34, n. 1, p. 113-123, 2009.
- GARCÍA-ROMERO, Carmen S. et al. Subtipificação molecular do papilomavírus humano em indivíduos adultos do sexo masculino com papilomatose respiratória recorrente. **Auris Nasus Larynx**, v. 42, n. 5, p. 385-389, 2015.
- GELINAS, Jean-Francois; MANOUKIAN, John; CÔTÉ, Aurore. Lung involvement in juvenile onset recurrent respiratory papillomatosis: a systematic review of the literature. **International journal of pediatric otorhinolaryngology**, v. 72, n. 4, p. 433-452, 2008.
- HAWKES, Michael et al. Time course of juvenile onset recurrent respiratory papillomatosis caused by human papillomavirus. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 27, n. 2, p. 149-154, 2008.
- HEBNER, Christy M.; LAIMINS, Laimonis A. Human papillomaviruses: basic mechanisms of pathogenesis and oncogenicity. **Reviews in medical virology**, v. 16, n. 2, p. 83-97, 2006.
- HERMANN, Juliana Sato et al. Effectiveness of the human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) vaccine in the treatment of children with recurrent respiratory papillomatosis. **International journal of pediatric otorhinolaryngology**, v. 83, p. 94-98, 2016.
- HERNANDEZ, Brenda Y. et al. Transmission of human papillomavirus in heterosexual couples. **Emerging infectious diseases**, v. 14, n. 6, p. 888, 2008.
- HOČEVAR-BOLTEŽAR, Irena et al. Human papilloma virus vaccination in patients with an aggressive course of recurrent respiratory papillomatosis. **European Archives of Oto-Rhino-Laryngology**, v. 271, n. 12, p. 3255-3262, 2014.

HONG, Shiyuan; LAIMINS, Laimonis A. Manipulation of the innate immune response by human papillomaviruses. **Virusresearch**, v. 231, p. 34-40, 2017.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA; ESTATÍSTICA. COORDENAÇÃO DE POPULAÇÃO; INDICADORES SOCIAIS. **Perfil dos municípios brasileiros 2009: pesquisa de informações básicas municipais**. IBGE, 2009.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Estimativa | 2018. **Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, 2017.

INTAKORN, Pavinee; SONSUWAN, Nuntigar. Human papillomatosis genotyping and severity in patients with recurrent respiratory papillomatosis. **J Med Assoc Thai**, v. 97, n. Suppl 6, p. S136-41, 2014.

IVANCIC, Ryan et al. Current and future management of recurrent respiratory papillomatosis. **Laryngoscope investigative otolaryngology**, v. 3, n. 1, p. 22-34, 2018.

IZADI, Farzad et al. The role of Human papilloma virus (HPV) genotyping in recurrent respiratory papillomatosis in RasoulAkram Hospital. **Medical journal of the Islamic Republic of Iran**, v. 26, n. 2, p. 90, 2012.

JAMES, Marco et al. Prevalência, apresentações clínicas, fatores de risco associados e recidiva da papilomatose laríngea entre pacientes internados em um hospital terciário na zona norte da Tanzânia. **The Pan African Medical Journal**, v. 30, 2018.

KAHN, Jessica A.; LAN, Dongmei; KAHN, Robert S. Sociodemographic factors associated with high-risk human papillomavirus infection. **Obstetrics & gynecology**, v. 110, n. 1, p. 87-95, 2007.

KAMINAGAKURA, Estela et al. High-risk human papillomavirus in oral squamous cell carcinoma of young patients. **International journal of cancer**, v. 130, n. 8, p. 1726-1732, 2012.

KASHIMA, Haskins K. et al. Human papillomavirus in sinonasalpapillomas and squamous cell carcinoma. **The Laryngoscope**, v. 102, n. 9, p. 973-976, 1992.

KATSENOS, Stamatis; BECKER, Heinrich D. Recurrent respiratory papillomatosis: a rare chronic disease, difficult to treat, with potential to lung cancer transformation: apropos of two cases and a brief literature review. **Case reports in oncology**, v. 4, n. 1, p. 162-171, 2011.

KIDD, Laura C. et al. Relationship between human papillomavirus and penile cancer—implications for prevention and treatment. **Translational Andrology and Urology**, v. 6, n. 5, p. 791, 2017.

LARSON, Daniel A.; DERKAY, Craig S. Epidemiology of recurrent respiratory papillomatosis. **Apmis**, v. 118, n. 6-7, p. 450-454, 2010.

LEE, Chia-Jung; ALLEN, Clint T.; MERATI, Albert L. Prevalence of diabetes mellitus and its impact on disease severity in adult recurrent respiratory

papillomatosis. **Otolaryngology--Head and Neck Surgery**, v. 149, n. 4, p. 603-607, 2013.

LEUNG, R.; HAWKES, M.; CAMPISI, P. Severity of juvenile onset recurrent respiratory papillomatosis is not associated with socioeconomic status in a setting of universal health care. **International journal of pediatric otorhinolaryngology**, v. 71, n. 6, p. 965-972, 2007.

LINDEBERG, H. et al. Laryngeal papillomas: classification and course. **Clinical otolaryngology and allied sciences**, v. 11, n. 6, p. 423-429, 1986.

LINDEBERG, HENNING; ELBRØND, OLE. Laryngeal papillomas: the epidemiology in a Danish subpopulation 1965–1984. **Clinical Otolaryngology & Allied Sciences**, v. 15, n. 2, p. 125-131, 1990.

MAÏGA, S. et al. Laryngeal papillomatosis in Senegal: A ten-year experience. **European annals of otorhinolaryngology, head and neck diseases**, v. 135, n. 3, p. 221-224, 2018.

MAMMAS, Ioannis N.; SOURVINOS, George; SPANDIDOS, Demetrios A. Human papilloma virus (HPV) infection in children and adolescents. **European journal of pediatrics**, v. 168, n. 3, p. 267, 2009.

MARCHIORI, Edson et al. Laryngotracheobronchial papillomatosis: findings on computed tomography scans of the chest. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 34, n. 12, p. 1084-1089, 2008.

MARSICO, Mark et al. Estimating the incidence and prevalence of juvenile-onset recurrent respiratory papillomatosis in publicly and privately insured claims databases in the United States. **Sexually transmitted diseases**, v. 41, n. 5, p. 300-305, 2014.

MATINHIRA, Naboth et al. Human papillomavirus types causing recurrent respiratory papillomatosis in Zimbabwe. **International journal of pediatric otorhinolaryngology**, v. 116, p. 147-152, 2019.

MCCLAY, John E. Recurrent respiratory papillomatosis. **E Medicine**, 2004.

MONTAÑO-VELÁZQUEZ, B. B. et al. Quality of life of young patients with recurrent respiratory papillomatosis. **The Journal of Laryngology & Otology**, v. 131, n. 5, p. 425-428, 2017.

MUNOZ, Nubia et al. HPV in the etiology of human cancer. **Vaccine**, v. 24, p. S1-S10, 2006.

NEBESIO, Christy L.; MIROWSKI, Ginat W.; CHUANG, Tsu-Yi. Human papillomavirus: clinical significance and malignant potential. **International journal of dermatology**, v. 40, n. 6, p. 373-379, 2001.

NGUYEN, Harrison P. et al. Human papillomavirus infections of the oral mucosa and upper respiratory tract. In: **Human Papillomavirus**. Karger Publishers, 2014. p. 132-153.

NIYIBIZI, Joseph et al. Risk factors for the development and severity of juvenile-onset recurrent respiratory papillomatosis: a systematic review. **International journal of pediatric otorhinolaryngology**, v. 78, n. 2, p. 186-197, 2014.

NOVAKOVIC, Daniel et al. Juvenile recurrent respiratory papillomatosis: 10-year audit and Australian prevalence estimates. **The Laryngoscope**, v. 126, n. 12, p. 2827-2832, 2016.

OLTHOF, Nadine C. et al. Next-generation treatment strategies for human papillomavirus-related head and neck squamous cell carcinoma: where do we go?. **Reviews in medical virology**, v. 22, n. 2, p. 88-105, 2012.

OMLAND, Turid et al. Recurrent respiratory papillomatosis: HPV genotypes and risk of high-grade laryngeal neoplasia. **PloS one**, v. 9, n. 6, p. e99114, 2014.

OMLAND, Turid et al. Risk factors for aggressive recurrent respiratory papillomatosis in adults and juveniles. **PloS one**, v. 9, n. 11, p. e113584, 2014.

REEVES, William C. et al. National registry for juvenile-onset recurrent respiratory papillomatosis. **Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery**, v. 129, n. 9, p. 976-982, 2003.

RINTALA, Marjut AM et al. Transmission of high-risk human papillomavirus (HPV) between parents and infant: a prospective study of HPV in families in Finland. **Journal of clinical microbiology**, v. 43, n. 1, p. 376-381, 2005.

ROMBALDI, Renato L. et al. Perinatal transmission of human papillomavirus DNA. **Virology journal**, v. 6, n. 1, p. 83, 2009.

RUIZ, Ryan et al. Risk factors for adult-onset recurrent respiratory papillomatosis. **The Laryngoscope**, v. 124, n. 10, p. 2338-2344, 2014.

SCHIFFMAN, Mark et al. Carcinogenic human papillomavirus infection. **Nature reviews Disease primers**, v. 2, p. 16086, 2016.

SCHRAFF, Scott et al. American Society of Pediatric Otolaryngology members' experience with recurrent respiratory papillomatosis and the use of adjuvant therapy. **Archives of otolaryngology–head & neck surgery**, v. 130, n. 9, p. 1039-1042, 2004.

SEEDAT, R. Y.; SCHALL, R. Age of diagnosis, incidence and prevalence of recurrent respiratory papillomatosis—A South African perspective. **Clinical Otolaryngology**, v. 43, n. 2, p. 533-537, 2018.

SEEDAT, R. Y.; SCHALL, R. Age of diagnosis, incidence and prevalence of recurrent respiratory papillomatosis—A South African perspective. **Clinical Otolaryngology**, v. 43, n. 2, p. 533-537, 2018.

SNIJDERS, Peter JF et al. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. **The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland**, v. 208, n. 2, p. 152-164, 2006.

TJON PIAN GI, Robin EA et al. Clinical course of recurrent respiratory papillomatosis: comparison between aggressiveness of human papillomavirus-6 and human papillomavirus-11. **Head & neck**, v. 37, n. 11, p. 1625-1632, 2015.

VENKATESAN, Naren N.; PINE, Harold S.; UNDERBRINK, Michael P. Recurrent respiratory papillomatosis. **Otolaryngologic Clinics of North America**, v. 45, n. 3, p. 671-694, 2012.

WANG, Rong et al. Nationwide prevalence of human papillomavirus infection and viral genotype distribution in 37 cities in China. **BMC infectious diseases**, v. 15, n. 1, p. 257, 2015.

WEI, Feixue et al. Human papillomavirus prevalence and associated factors in women and men in south China: a population-based study. **Emerging microbes & infections**, v. 5, n. 1, p. 1-8, 2016.

WIATRAC, Brian J. et al. Recurrent respiratory papillomatosis: a longitudinal study comparing severity associated with human papilloma viral types 6 and 11 and other risk factors in a large pediatric population. **The Laryngoscope**, v. 114, n. S104, p. 1-23, 2004.

WILCOX, Lyndy J. et al. Diagnosis and management of recurrent respiratory papillomatosis. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 33, n. 12, p. 1283-1284, 2014.

WILCOX, Lyndy J. et al. Diagnosis and management of recurrent respiratory papillomatosis. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 33, n. 12, p. 1283-1284, 2014.

WOODMAN, Ciaran BJ; COLLINS, Stuart I.; YOUNG, Lawrence S. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. **Nature Reviews Cancer**, v. 7, n. 1, p. 11, 2007.

ZACAPALA-GÓMEZ, Ana Elvira et al. Changes in global gene expression profiles induced by HPV 16 E6 oncoprotein variants in cervical carcinoma C33-A cells. **Virology**, v. 488, p. 187-195, 2016.

ZHOU, Xiao Hui et al. Distribution characteristics of human papillomavirus infection: a study based on data from physical examination. **Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP**, v. 18, n. 7, p. 1875, 2017.

ZUR HAUSEN, Haral. Human papillomavirus & cervical cancer. **Indian Journal of Medical Research**, v. 130, n. 3, p. 209-210, 2009.

**APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(menores de 18 anos)**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(menores de 18 anos)

ESTUDO: *Envolvimento do papilomavírus humano na progressão de lesões papilomatosas de laringe em pacientes de São Luís, Maranhão*

Prezado(a) Senhor(a),

Você está sendo convidado a autorizar a participação de seu filho (a) ou menor sob sua responsabilidade no presente estudo. O objetivo deste estudo é determinar através de exames de laboratório, a presença e o tipo de vírus presente na lesão que será retirada na cirurgia.

Não será realizado nenhum procedimento a mais no menor. É solicitada a vossa senhoria somente uma pequena amostra da lesão que será retirada durante a cirurgia.

Os dados do menor como o nome e idade, serão consultados nos registros médicos somente pela equipe de pesquisadores envolvidos nesse estudo. O nome do menor e seus dados pessoais (endereço, telefone) não serão revelados.

Esta pesquisa tem como benefícios conseguir novas informações sobre a papilomatose de laringe no Maranhão, podendo ajudar no futuro, indivíduos com a mesma doença. Os benefícios, portanto, não são direcionados ao menor.

Sua autorização deverá ser voluntária. Você não receberá nenhum valor em dinheiro e também não terá despesas referentes à participação do menor. Você poderá entrar em contato com a nossa equipe a qualquer momento para tirar dúvidas.

No caso de aceitação no estudo, assine ao final deste documento que está em duas vias assinada pelo pesquisador responsável. Uma das vias é sua.

Sua colaboração será muito importante para nós. Mas, se quiser desistir a qualquer momento, isto não causará nenhum prejuízo, nem a você, nem ao

menor. Você terá a garantia de sigilo, direito de retirar o consentimento a qualquer tempo, sem prejuízo da continuidade na forma de tratamento, assistência, cuidado, ou acompanhamento proporcionado ao menor.

A pesquisa será encerrada após a publicação dos resultados em meios de divulgação da área científica.

Eu _____ aceito que o menor sob minha responsabilidade participe da presente pesquisa. Entendi os riscos e benefícios da pesquisa e que eu posso a qualquer momento desistir da participação, sem qualquer prejuízo. Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas. Recebi uma cópia deste termo de consentimento, li e concordo.

Responsável:

Data do aceite ____ / ____ / ____

São Luís, de de 20

Pesquisador responsável:

Iagho José Lima Diniz

Telefone de contato (98) 99238-1340

Pesquisador:

Dra. Flávia Castello Branco Vidal

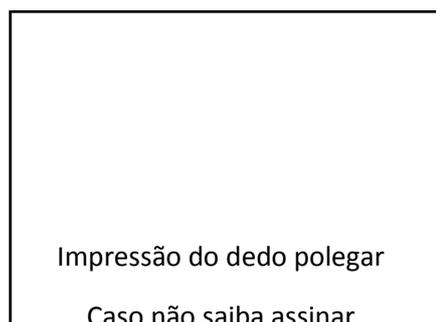
Telefone de contato (98) 98225-9660

**Comitê de Ética em Pesquisa – Hospital
Universitário – UFMA**

Rua Barão de Itapary, 227, 4º andar, Centro. Telefone: 2109-1250

E-mail: cep@huufma.br

Responsável: Dr. Rita da Graça Carvalhal Frazão Corrêa



APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

ESTUDO: *Envolvimento do papilomavírus humano na progressão de lesões papilomatosas de laringe em pacientes de São Luís, Maranhão*

Prezado(a) Senhor(a),

Você está sendo convidado a participar do estudo que pretende analisar através de exames de laboratório, a presença e o tipo de vírus presente na sua lesão.

Para a realização dos exames, não será realizado nenhum procedimento a mais no senhor (a). Será solicitada somente, uma pequena amostra da lesão que será retirada durante a cirurgia pelo médico. Após os exames, as amostras serão desprezadas de forma adequada.

Seu registro no hospital (prontuário) será consultado pela equipe de pesquisadores envolvidos nesse estudo. Seu nome e dados pessoais (endereço, telefone) não serão revelados.

Os benefícios da sua participação serão representados pela obtenção de dados importantes para a epidemiologia da papilomatose de laringe no Maranhão. Desta forma os pesquisadores e médicos poderão melhorar o conhecimento sobre a doença e estudar a possibilidade de novas formas de tratamento. Os benefícios, portanto, não são direcionados à você.

Os riscos potenciais de participação nesta pesquisa são mínimos e representados por algum constrangimento ou intimidação que o(a) senhor(a) possa sentir com o pesquisador que vai lhe explicar a pesquisa. A entrevista será realizada por profissional treinado, portanto, não tema. Além disso, o (a) senhor(a) está livre para se recusar a participar da pesquisa.

Sua autorização deverá ser voluntária. Você não receberá nenhum valor em dinheiro e também não terá despesas referentes à participação. Você poderá entrar em contato com a nossa equipe a qualquer momento para tirar dúvidas.

Caso aceite participar, assine ao final deste documento que está em duas vias assinada pelo pesquisador responsável. Uma das vias é sua!

Sua colaboração será muito importante para nós. Mas, se quiser desistir a qualquer momento, isto não causará nenhum prejuízo. Você terá a garantia de sigilo, direito de retirar o consentimento a qualquer tempo, sem prejuízo da continuidade na forma de tratamento, assistência, cuidado ou acompanhamento.

A pesquisa será encerrada após a publicação dos resultados em meios de divulgação da área científica.

Eu _____ aceito participar da pesquisa Envolvimento do papiloma vírus humano na progressão de lesões papilomatosas de laringe em pacientes de São Luís, Maranhão. Entendi os riscos e benefícios da pesquisa q eu posso a qualquer momento desistir da minha participação, sem qualquer prejuízo. Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas. Recebi uma cópia deste termo de consentimento, li e concordo em participar da pesquisa.

Participante da Pesquisa:

Data do aceite ____ / ____ / ____

São Luís, de de 20

Pesquisador responsável:

Iagho José Lima Diniz

Telefone de contato (98) 99238-1340

Pesquisador:

Dra. Flávia Castello Branco Vidal

Telefone de contato (98) 98225-9660

Impressão do dedo polegar Caso não saiba assinar

Comitê de Ética em Pesquisa – Hospital Universitário – UFMA

Rua Barão de Itapary, 227, 4º andar, Centro. Telefone: 2109-1250

E-mail: cep@huufma.br

Responsável: Dr. Rita da Graça Carvalho Frazão Corrêa

APÊNDICE C – TERMO DE ASSENTIMENTO

TERMO DE ASSENTIMENTO

ESTUDO: *Envolvimento do papilomavírus humano na progressão de lesões papilomatosas de laringe em pacientes de São Luís, Maranhão*

Olá,

Você está sendo convidado para participar na nossa pesquisa. Seus pais permitiram que você participe.

A pesquisa que nós vamos fazer tem como objetivo descobrir o tipo de vírus que está no machucado que será retirado na cirurgia. Iremos trabalhar somente com o que será retirado pelo médico. Nada a mais será realizado em você.

Outras crianças e adultos vão participar dessa pesquisa. Você não precisa participar se não quiser, é um direito seu, não terá nenhum problema se desistir.

A pesquisa será feita no Banco de Tumores e DNA do Maranhão, próximo ao Hospital onde será realizada sua cirurgia.

As coisas boas que podem acontecer com sua participação na pesquisa será o melhor conhecimento dos pesquisadores e médicos sobre a sua doença. Conhecendo melhor o seu machucado, poderemos criar novas formas de tratamento e controle para crianças e adultos no futuro.

Você pode sentir alguma vergonha quando o pesquisador for lhe explicar a pesquisa. Não Fique! Ele é treinado para isto. Além disso, você pode dizer que não quer participar!

Caso você tenha alguma dúvida, nos procure pelos telefones que estão no final da página.

Ninguém saberá que você está participando da pesquisa, não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. A pesquisa será encerrada após a publicação dos resultados em meios de divulgação da área científica. mas sem identificar as crianças que participaram da pesquisa.

Após estas informações, se você aceitar, assine ao final deste documento que está em duas vias assinada pelo pesquisador responsável. Uma das vias é sua.

Sua colaboração será muito importante para nós.

Eu _____ aceito participar da pesquisa Envolvimento do papilomavírus humano na progressão de lesões papilomatosas de laringe em pacientes de São Luís, Maranhão. Entendi as coisas ruins e as coisas boas que podem acontecer. Entendi que posso dizer “sim” e participar, mas que, a qualquer momento, posso dizer “não” e desistir que ninguém vai ficar furioso. Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus responsáveis. Recebi uma cópia deste termo de assentimento e li e concordo em participar da pesquisa.

Participante da Pesquisa:

Data do aceite ____ / ____ / ____

Pesquisador:.....

São Luís, de de 20

Pesquisador responsável:

lagho José Lima Diniz

Telefone de contato (98) 99238-1340

Pesquisador:

Dra. Flávia Castello Branco Vidal

Telefone de contato (98) 98225-9660

Impressão do dedo polegar
Caso não saiba assinar

Comitê de Ética em Pesquisa – Hospital Universitário – UFMA

Rua Barão de Itapary, 227, 4º andar, Centro. Telefone: 2109-1250

E-mail: cep@huufma.br

Responsável: Dr. Rita da Graça Carvalhal Frazão Cor

APÊNDICE D – QUESTIONÁRIO SOCIOECONÔMICO

QUESTIONÁRIO SÓCIO-DEMOGRÁFICO DO PROJETO *Envolvimento do papilomavírus humano na progressão de lesões papilomatosas de laringe em pacientes de São Luís, Maranhão.*

Nº do Prontuário:	
Nome do paciente:	
Idade:	
Cor: () branca () parda () preta () outra: _____	
Data da coleta :	Naturalidade:
Data de Nascimento:	Telefone/Celular:
Endereço:	
Renda familiar: () Programas Sociais () até ½ salário mínimo () entre ½ a 1 salário mínimo () sem renda () mais de 1 a 2 salários mínimos () mais de 3 salários mínimos	Nível de Educação: () analfabeto () ensino fundamental () ensino médio () ensino superior () Completo () Incompleto
Tipo de parto: () natural () cesárea	
Idade dos primeiros sintomas:	
Idade do diagnóstico:	
Idade da primeira intervenção/cirurgia:	
Quantidade de recorrências: () Uma () Duas () Três () Quatro ou mais	
Intervalo de tempo entre as recorrências: () Meses () Anos	
Sintomas: () Dispneia () Disfagia () Disfonia () Estridor () Vômitos	
Traqueostomia: () Sim () Não	
Vacinação contra HPV: () Sim () Não	
Melhora após vacinação: () Sim () Não	
Entrevistador:	

Observações do entrevistador:

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO UFMA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Envolvimento do papilomavírus humano na progressão de lesões papilomatosas de laringe em pacientes de São Luís, Maranhão.

Pesquisador: Flávia Castello Branco Vidal Cabral

Área Temática: Genética Humana;

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);

Versão: 2

CAAE: 49681215.6.1001.5087

Instituição Proponente: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO MARANHÃO - FAPEMA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.377.876

Apresentação do Projeto:

Introdução: O papilomavírus humano (HPV) é um vírus não envelopado que infecta o epitélio cutâneo ou de mucosas. Sua transmissão é principalmente por via sexual, podendo ocorrer também através de auto-inoculação ou transmissão vertical, da mãe para o bebê durante o parto. A papilomatose respiratória recorrente (PRR) é causada pelos tipos 6 e 11 de HPV em 90% dos casos. Apesar de benigno, tende a ter um curso

clínico agressivo em crianças e pode ser fatal devido a sua alta reincidência e tendência a se espalhar pelo trato respiratório. A forma de contágio

mais aceita seria através do canal vaginal durante o parto normal. **Objetivos:** Analisar o papel do HPV na progressão de lesões papilomatosas de

laringe em pacientes de São Luís, Maranhão. **Materiais e Métodos:** Trata-se de um estudo epidemiológico, do tipo analítico, prospectivo e seccional

de casos de lesões papilomatosas de laringe em crianças e adolescentes (menores de 18 anos). As amostras serão coletadas no Hospital

Universitário da Universidade Federal do Maranhão Unidade Materno-Infantil. Após leitura do TCLE

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1906 CEB Velho

Bairro: Bico C, Sala 7, Comitê de Ética **CEP:** 65.080-040

UF: MA **Município:** SÃO LUÍS

Telefone: (98)3272-8708 **Fax:** (98)3272-8708 **E-mail:** cepufma@ufma.br

e consentimento do responsável pelo menor, as amostras serão coletadas durante a cirurgia e o DNA extraído para análise da infecção pelo HPV. As amostras positivas para o vírus serão genotipadas e a correlação entre a presença e o tipo de HPV com o desfecho clínico dos pacientes, será analisado. Outros parâmetros laboratoriais como observação da integração do DNA viral ao DNA humano serão realizados para enriquecimento dos resultados da pesquisa. Para a avaliação da relação entre os dados epidemiológicos e clínicos e a presença de HPV, serão utilizados o teste Qui-quadrado e o teste exato de Fisher, sendo os resultados considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$. Toda a análise estatística será feita no programa GraphPad. Resultados Esperados: Com os dados obtidos neste projeto, pretende-se adicionar informações e esclarecer questões que envolvam a patologia papilomatose respiratória recorrente. Através da análise molecular da presença do HPV e sua genotipagem, poderemos monitorar a prevalência do HPV nas lesões papilomatosas, e apontar o tipo viral mais comum, associando a gravidade da doença com algum tipo viral específico. A análise do status do HPV, se integrado ou não ao genoma humano, nas células infectadas nos dará informações valiosas acerca da patogênese do vírus nas lesões avaliadas. Conclusão: Este tipo de estudo em lesões papilomatosas de laringe será o primeiro do Estado do Maranhão, e um dos poucos no Brasil. A solicitação de recurso financeiro para este projeto foi enviada à FAPEMA e aguarda resultado.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Analisar o papel do papilomavírus humano na progressão de lesões papilomatosas de laringe em pacientes de São Luís, Maranhão.

Objetivo Secundário:

1. Avaliar a prevalência da infecção pelo HPV em lesões de laringe.
2. Analisar os tipos mais prevalentes de HPV nas lesões de laringe.
3. Correlacionar a presença e o tipo de HPV com a expressão do marcador p16 e de genes de proliferação celular e os desfechos clínicos de pacientes com papilomas de laringe
4. Analisar a integração do HPV ao DNA humano por PCR em tempo real nas amostras de papilomas de laringe.

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1906 CEB Velho		
Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética	CEP: 65.080-040	
UF: MA	Município: SAO LUIS	
Telefone: (98)3272-8708	Fax: (98)3272-8708	E-mail: capulma@ulma.br

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Nenhum procedimento cirúrgico adicional será realizado no paciente para a realização do presente estudo. As amostras utilizadas na pesquisa serão coletadas durante a cirurgia de rotina para retirada dos papilomas de laringe nos pacientes. Os potenciais riscos e incômodos que a pesquisa possa acarretar é representado por algum possível constrangimento ou intimidação que o profissional de saúde possa causar na hora da explanação da pesquisa. Este risco será minimizado através da atuação de um profissional treinado especialmente para este fim.

Benefícios:

Os benefícios desta pesquisa para o paciente são indiretos baseados no ganho de conhecimento acerca da patologia. Com a avaliação da incidência da infecção pelo HPV em papilomas de laringe, poderemos comparar os dados obtidos com os nacionais e internacionais de incidência assim como avaliar os tipos virais mais prevalentes especificamente na região maranhense. Os resultados da pesquisa poderão contribuir para melhor conhecimento sobre a etiologia da PRR que pode levar ao desenvolvimento de novas formas de tratamento desta patologia.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa apresenta todos os elementos necessários para o seu desenvolvimento de maneira satisfatória.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos de apresentação obrigatória foram apresentados e estão de acordo com a resolução 466/12 do CNS.

Recomendações:

Todas as recomendações foram acatadas e corrigidas pela pesquisadora.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as pendências foram acatadas e corrigidas pela pesquisadora e estão de acordo com a resolução 466/12 CNS.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
----------------	---------	----------	-------	----------

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho
Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética CEP: 65.080-040
UF: MA Município: SAO LUIS
Telefone: (98)3272-8708 Fax: (98)3272-8708 E-mail: cepulma@ulma.br