

ÁREA TEMÁTICA: (marque uma das opções)

- COMUNICAÇÃO
- CULTURA
- DIREITOS HUMANOS E JUSTIÇA
- EDUCAÇÃO
- MEIO AMBIENTE
- SAÚDE
- TECNOLOGIA E PRODUÇÃO
- TRABALHO

A PRESENÇA DE BINUCLEAÇÃO NA CITOPATOLOGIA CERVICAL FRENTE À MICROBIOTA VAGINAL

Débora Hiromi Yoshizawa (debora.yoshizawa@gmail.com)¹

Jucélia de Fátima dos Anjos (jucelia.anjos@bol.com.br)²

Ednéia Peres Machado (edpmach@gmail.com)³

Resumo: O método de Papanicolaou é usado para o rastreamento do câncer de colo de útero, visto que é um câncer de alta mortalidade no Brasil. A microbiota vaginal é importante para evitar crescimento de microrganismos patogênicos. No processo inflamatório vaginal, as células escamosas sofrem alterações morfológicas, como a binucleação, podendo desenvolver alterações degenerativas. Foi feita a correlação entre a microbiota vaginal com a ocorrência de binucleação no exame de Papanicolaou, realizando um estudo transversal de 1633 esfregaços cervicovaginais, de mulheres com faixa etária de 16 a 64 anos. As análises citológicas foram realizadas em microscópio óptico comum, com aumento de 100x e 400x e a microbiota, em aumento de 1000x em imersão. A binucleação foi considerada oriunda da inflamação, em células com o núcleo aumentado até duas vezes. Das 1633 amostras analisadas, 253 apresentaram binucleação, onde a microbiota foi quantificada e classificada quanto sua composição. Foi observado que a microbiota mais relacionada à binucleação é a lactobacilar, sendo a flora vaginal majoritária. A binucleação, associada à inflamação e na presença da microbiota prevalente, sugere a necessidade de estudos aprofundados, principalmente sobre o ácido láctico produzido por esses microrganismos.

Palavras-chave: Teste de Papanicolaou, Neoplasias do colo do útero, Microbiota.

INTRODUÇÃO

O método de Papanicolaou foi preconizado no Brasil para uso no rastreamento do câncer do colo do útero por ser de baixo custo e ter boa especificidade para a pesquisa de lesões pré-malignas, malignas e alterações citopáticas específicas associadas a microrganismos patogênicos. Apesar de ser um método específico para o estudo de células epiteliais, tem se mostrado eficiente também para a pesquisa de agentes patogênicos causadores de infecções sexualmente transmissíveis (IST) (PANÚCO et al., 2000).

¹ Graduanda; UEPG; curso de Farmácia; debora.yoshizawa@gmail.com

² Enfermeira; UEPG, PRORH; jucelia.anjos@bol.com.br

³ Coordenadora de projeto de extensão, UEPG, docente do curso do Farmácia; DELCIN; edpmach@gmail.com

A identificação de alteração da microbiota vaginal pela presença de microrganismos causadores de inflamação ou mesmo da inversão do microbioma vaginal pela presença da vaginose bacteriana é relevante, uma vez que esses agentes alojam-se no colo uterino atuando na zona de transformação, causando a metaplasia escamosa, um processo de substituição da mucosa glandular por epitélio escamoso. O epitélio metaplásico é tido como propenso para a gênese do carcinoma do colo do útero por ser permissivo à infecção pelo HPV (papiloma vírus humano) (ANJOS, 2010).

No processo inflamatório, as células escamosas apresentam alterações morfológicas em consequência do processo reativo e degenerativo que sofrem, e mostram discreto aumento nuclear, bi ou multinucleação, discreta hiper cromasia com cromatina finamente granular e distribuída de maneira uniforme (CIBAS E DUCATMAN, 1996). A degeneração nuclear pode resultar em cariopicnose e cariorréxix, que devido à fragmentação da cromatina tornam-se mais escuros e pouco irregulares. No citoplasma pode ser visualizado policromasia, vacuolização ou halos perinucleares (KURMAN E SOLOMON, 1994).

Sob efeito persistente de agentes patogênicos e inflamação, as células do epitélio escamoso vaginal e glandular do colo uterino podem desenvolver alterações degenerativas. Nas células glandulares o citoplasma pode dissolver-se completa ou parcialmente e o núcleo tornar-se compacto, denso e picnótico com perda dos detalhes da cromatina (BIBBO, 1997).

A presença de alterações degenerativas celulares é comumente encontrada na citologia pelo Papanicolaou na presença de *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus sp.*, *Trichomonas vaginalis*, *Candida spp*, *Actinomyces spp*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, Herpes Simplex e na infecção pelo Papiloma vírus humano, principal fator de risco para o câncer do uterino (KURMAN e SOLOMON, 1994; CIBAS & DUCATMAN, 1996).

OBJETIVOS

Correlacionar a presença de binucleação na citologia pelo Papanicolaou com a microbiota vaginal.

METODOLOGIA

O projeto de extensão “Prevenção e educação na atenção à saúde da mulher: coleta de exame” (Projeto pap), atua de forma indissociada com a pesquisa “Adequabilidade das amostras cervicovaginais de mulheres atendidas no projeto de extensão ‘Prevenção e

educação na atenção à saúde da mulher: coleta e exame Papanicolaou”, com parecer consubstanciado da Comissão de Ética e Pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa sob número 1.614.753.

Foi realizado um estudo transversal onde foram analisadas em 1.633 esfregaços cervicovaginais, de mulheres na faixa etária de 16 a 64 anos. Foram coletados raspados de amostras cervicovaginais com auxílio de espátula de Ayre e escovinha cervical no Ambulatório da UEPG, para pesquisa citológica pelo método e Papanicolaou. A estatística foi realizada por frequência simples pelo Excel 2010.

As análises citológicas foram realizadas no Laboratório de Citologia do Laboratório Universitário de Análises Clínicas da Universidade Estadual de Ponta Grossa, com o uso de microscopia ótica comum em aumento de 100X e 400X.

A presença de binucleação não foi quantificada, considerando-se positiva a observação da presença dessa alteração reativa a partir de uma única célula ou mais no esfregaço cervical.

A microbiota foi analisada em aumento de 1.000 vezes, em imersão, nos esfregaços corados pelo Papanicolaou quantificada em: ausente com zero por campo, escasso com 1 a 5 bactérias por campo, frequente 6 a 15 bactéria por campo, moderado 6 a 30 bactérias por campo e acentuada acima de 30 bactérias por campo.

A microbiota foi classificada em: *Lactobacillus*, quando formada exclusiva por microbiota lactobacilar; mista quando constituída por lactobacilos e presença de proliferação variável de bactérias; cocoide com presença de cocos com disposição linear, onde permite reconhecê-los como estreptococos ao exame citológico, mas não podem ser especificadas e outros possíveis cocos que não são reconhecidos com facilidade nem podem ser especificados; *Gardnerella* quando o esfregaço citológico apresentou o fundo coberto por intensa proliferação bacteriana levemente basofílica, formando em vários campos, espaços claros entre as células epiteliais e também cobrindo células epiteliais que podem ser reconhecidas como *clue cells*; microbiota bacilar (predomínio de bacilos curtos e grossos) e microbiota mista (mistura entre cocos e bacilos com presença de lactobacilos).

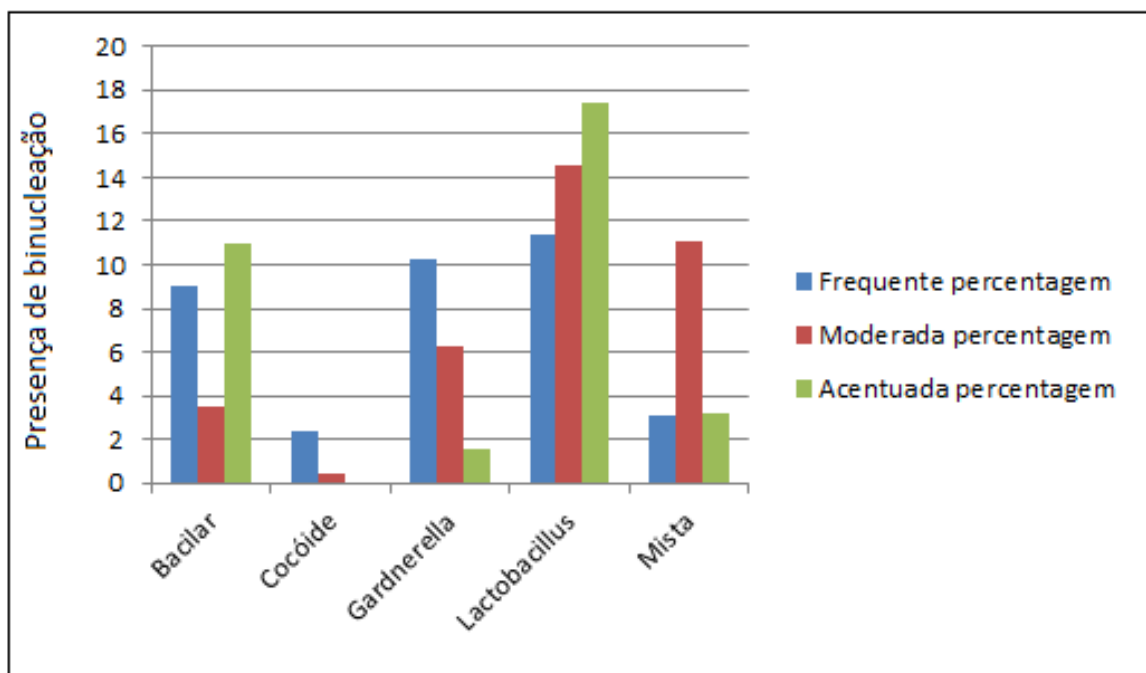
RESULTADOS

O ProjetoPap realizou 1.633 exames citopatológicos, cujas amostras foram avaliadas pelo projeto de pesquisa Adequabilidade das amostras cervicovaginais de mulheres atendidas no projeto de extensão “Prevenção e educação na atenção à saúde da mulher: coleta e exame Papanicolaou”, donde observou binucleação em 253 (15,5%) dos esfregaços

cervicais corados pelo Papanicolaou. Das 253 amostras com binucleação, a microbiota apresentou-se: 11 (4,29%) ausente, 34 (13,4%) bacilar, 7 (2,76%) cocoide, 46 (18,2%) *Gardnerella*, 83 (32,8%) *Lactobacillus* e 44 (17,4%) mista e blastóporos 1 (0,39%).

A quantificação da microbiota das 253 amostras com binucleação foi a seguinte: microbiota ausente 11 (4,3%). Microbiota frequente: bacilar 23 (9,0%), blastóporo 1 (0,4%), cocoide 6 (2,4%), *Gardnerella* 26 (10,3%), *Lactobacillus* 29 (11,4%) e microbiota mista 8 (3,16%). Microbiota moderada: bacilar 9 (3,6%), cocoide 1 (0,39%), *Gardnerella* 16 (6,3%), *Lactobacillus* 37 (14,6%) e microbiota mista 28 (11,07%). Microbiota acentuada: bacilar 2 (0,8%), *Gardnerella* 4 (1,6%), *Lactobacillus* 44 (17,4%) e microbiota mista 8 (3,16%) (Figura 1).

Figura 1 – Percentual da presença de binucleação em amostras cervicovaginais coradas pelo Papanicolaou frente à microbiota vaginal



Fonte: as autoras

A avaliação do processo inflamatório e de alterações reativas celulares, oriundas de inflamação no esfregaço cervicovaginal pelo método de Papanicolaou pode ser dificultado uma vez o aparelho genital feminino inferior sofre mudanças relacionadas ao estado hormonal da mulher (KOSS & GOMPEL, 2006).

A binucleação é uma alteração reativa celular associada a inflamação, resultado de divisão nuclear sem a simultânea divisão da célula.

Este trabalho observou que a binucleação se fez mais presente frente à microbiota lactobacilar. Lactobacilos são as bactérias prevalentes na microbiota vaginal, com cerca de mais de 80 espécies já identificadas (HUTTI & HOOFFMANN, 2000).

Inicialmente, o *Lactobacillus acidophilus* foi encontrado em mulheres saudáveis na menacme, e hoje tem como as espécies dominantes detectadas pelo método de amplificação gênica as espécies *L. crispatus*, *L. inners* e *L. gasseri*, e menos prevalente outras espécies como *L. jensinii*, *L. gallinarum* e *L. vaginalis* (ZHOU et al., 2004; PAVLOVA et al., 2002).

Está bem estabelecido na literatura que o número excessivo de lactobacilos promove extensa citólise das células intermediárias do epitélio escamoso vaginal, que culmina na vaginose citolítica ((HUTTI & HOOFFMANN, 2000), cujos sintomas são semelhantes à candidíase vaginal, o que leva ao erro diagnóstico clínico (CERIKCIOGLU & BEKSAC, 2004).

O ácido láctico produzido pelos lactobacilos conferem efeito protetor ao ambiente vaginal contra agentes agressores, caracterizado por ser um composto quiral com um isômero D e L. As espécies *L. jensenii*, *L. crispatus* e *L. gasseri* produzem predominantemente o isômero D e o *L. iners* o isômero L. A proporção mais elevada de L- para D-lactato pode levar ao aumento da expressão do indutor de metaloproteinase da matriz extracelular e à ativação da metaloproteinase de matriz (MMP-8), que pode acarretar na alteração da integridade cervical e facilitar a entrada de HPV nos queratinócitos basais, onde o vírus prospera. Adicionalmente, concentrações elevadas de D-lactato produzidas pela microbiota dominante de *L. crispatus* têm mostrado aumentar a viscosidade do muco cervicovaginal e aumentar o seu potencial de captura de partículas virais (MITRA et al., 2016; WITSIN et al., 2013).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A binucleação demonstrada neste trabalho como sendo a alteração reativa celular associada à inflamação de forma mais intensa na presença de microbiota lactobacilar, sugere a necessidade de estudos mais aprofundados frente à estrutura isomérica do ácido láctico presente frente a esta alteração celular e a espécie a prevalência da espécie de *Lactobacillus* encontrada comumente com a binucleação.

REFERÊNCIAS

ANJOS, S. J. S. B. et al. Fatores de risco para câncer do colo do útero segundo resultados de IVA, citologia e cervicografia. **Revista da Escola de Enfermagem. USP**, São Paulo, v.44, n.4, p. 912-920, 2010.

BIBBO, M. **Comprehensive Cytopathology**. 2. Ed. Philadelphia: Saunders, 1997.

CERIKCIOGLU, N. & BEKSAC, M.S. Cytolytic vaginosis: misdiagnosed as candidal vaginitis. **Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology**. V. 12, n. 1, p. 16-16, 2004.

CIBAS, E. S.; DUCATMAN, B. S. **Cytology: Diagnostic principles and clinical correlates**. W.B.Saunders Company, 1996.

HUTTI, M.H. e HOOFFMANN C. Cytolytic vaginosis: an overlooked cause of cyclic vaginal itching and burning. **Journal of the American Academy Nurse Practitioners**, v. 12, n. 2, p. 55-57, 2000.

KOSS, L. G. e GOMPEL, C. **Introdução à citopatologia ginecológica com correlações histológicas e clínicas**. São Paulo: Roca, 2006.

KURMAN, R.J.; SOLOMON, D. **The BETHESDA System for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses: definitions, criteria and explanatory notes for terminology and specimen adequacy**. New York: Springer-Verlag, 1994.

MITRA, A., MacINTYRE, D.A., MARCHESI, J.R., LEE, Y.S., BENNETT, P.R., KYRGIU, M. The vaginal microbiota, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia: what do we know and where are we going next? **Microbiome**, v. 4, n. 1, p. 02-15, 2016.

PANÚCO, C. A B.; RODRÍGUEZ, I.D; et al. Detection of Chlamydia trachomatis in pregnant women by the Papanicolaou technique, enzyme immunoassay and polymerase chain reaction. **Acta Cytologica**, v.44, n.2,114-123, 2000.

PAVLOVA, S.I., KILIC, S.S., SO, J.S., SO, J.S., NADER-MACIAS, M.E., Simoes JA, TAO, L. Genetic diversity of vaginal lactobacilli from women in different countries based on 16S rRNA gene sequences. **Journal Applied Microbiology**, v, 92, n. 3, p. 451-459, 2002.

WITSIN, S.S., MENDES-SOARE, H., LINHARES, I.M., JAYARAM, A., LEDGER, W.J., FORNEY, L. J. Influence of Vaginal Bacteria and d- and l-Lactic Acid Isomers on Vaginal Extracellular Matrix Metalloproteinase Inducer: Implications for Protection against Upper Genital Tract Infections. **mBio**, v.4, n.4, aug., p.1-7, 2013.

ZHOU, X., BENT, S.J., SCHNEIDER, M.G., DAVIS, C.C., ISLAM, M.R., FORNEY, L.J. Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods. **Microbiology**. V. 150, p. 2565-2573, 2004.