

## Caracterização molecular do papilomavírus humano em mulheres infectadas com o vírus da imunodeficiência humana do tipo 1 no Distrito Federal e Entorno

Molecular characterization of human papillomavirus in women infected with HIV-1 in Central Brazil

Daniela Marreco Cerqueira<sup>1,2</sup>  
Daniella Sousa de Moraes<sup>1</sup>  
Natália Milanezi<sup>1</sup>  
Geni Neumann Lima Camara<sup>2</sup>  
Fádia Aguiar Amaral<sup>3</sup>  
Ceres Nunes Resende Oyama<sup>4</sup>  
Maria Quitéria dos Santos<sup>3</sup>  
Cláudia Renata Fernandes Martins<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Biologia, Universidade de Brasília-DF, Brasil  
<sup>2</sup> Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília-DF, Brasil  
<sup>3</sup> Unidade Mista de Saúde da Asa Sul/Secretaria de Estado de Saúde do DF, Brasil  
<sup>4</sup> Hospital Universitário, Brasília-DF, Brasil

### Correspondência:

Daniela Marreco Cerqueira  
SHIN CA 05 lote L1 Edifício Varandas  
do Lago Norte II apt° 306, Lago Norte,  
Brasília, DF  
CEP 71503-505; e-mail: danimarreco@  
yahoo.com.br

Recebido em 26/abril/2007  
Aprovado em 14/outubro/2007

### RESUMO

**Introdução:** a infecção por HPV é a infecção transmitida sexualmente mais comum no mundo e representa uma das infecções oportunistas que mais acomete as mulheres portadoras do HIV-1. A diversidade genética do HPV foi investigada entre mulheres infectadas pelo HIV-1 no Distrito Federal e Entorno.

**Método:** duzentas amostras cervicais de mulheres soropositivas para o HIV-1 foram submetidas a exame citopatológico e à amplificação por PCR. A genotipagem do HPV foi realizada por RFLP e as análises estatísticas pelo programa Epi Info.

**Resultados:** a prevalência do HPV foi 41%. Entre as amostras sem anormalidades citopatológicas cervicais, 29,2% tinham HPV, enquanto a maioria das amostras com citologia alterada tinha HPV (89,7%). Uma grande diversidade de genótipos foi observada com a maior prevalência dos HPV -16 e -81 (12,2%). Observou-se uma prevalência significativamente maior de HPV em mulheres com menos de 30 anos. As análises estatísticas sugeriram que a imunossupressão estava associada com a prevalência de anormalidades citológicas, mas não com a presença de infecção por HPV. A carga viral do HIV-1, por sua vez, estava associada com a detecção de DNA do HPV e de anormalidades citológicas. Não foi observada associação significativa entre a terapia anti-retroviral e a presença de HPV ou de anormalidades citológicas.

**Conclusão:** uma proporção elevada de mulheres soropositivas para o HIV-1 está co-infectada por HPV, e, muitas vezes, por genótipos oncogênicos, mesmo em casos onde a avaliação citológica não revela resultados anormais, demonstrando a necessidade de acompanhamento dessa população.

**Palavras-chave:** HPV; HIV; Distrito Federal.

## ABSTRACT

**Introduction:** the present study on genetic diversity of HPV in women infected by HIV in Central Brazil describes the frequency and genotypes of HPV.

**Method:** 200 cervical smears of HIV positive women were submitted to cytological examination and the DNA samples obtained were assayed by PCR amplification, followed by RFLP typing. Statistical analyses were carried out using Epi Info package.

**Results:** the overall HPV DNA positive rate was 41%. 161 samples (80.5%) had benign cellular alterations or normal cytological results and HPV DNA frequency among them was 29.2%. Otherwise, almost all samples (89.7%) with altered cytology were positive for HPV DNA. A high diversity of genotypes was observed. HPV -16 and -81 were the most prevalent (12.2%). We observed a significantly higher prevalence of HPV infection in women under 30 years old. Statistical analysis suggested that immunosuppression was associated with the prevalence of cytologic abnormalities, but not with HPV infection. On the other hand HIV viral load was associated with detection of HPV DNA and of cytologic abnormalities. No statistical significant association was observed between the use of antiretroviral therapy and the presence of HPV or the detection of cytologic abnormalities.

**Conclusion:** a high proportion of HIV-infected women are also infected with HPV and may carry oncogenic genotypes, even when cytological evaluation shows normal results. These finds call attention for the importance of monitoring HIV-HPV co-infected women with regarding to the development of cervical lesions.

**Key words:** HPV; HIV; Central Brazil.

## INTRODUÇÃO

O câncer cervical é a segunda causa de morte por câncer em mulheres em todo o mundo. Em muitos países em desenvolvimento, é ainda a principal causa de morte por câncer em mulheres. Devido à associação entre alguns genótipos do papilomavírus humanos (HPV) e o câncer cervical observada em estudos epidemiológicos, a infecção por HPV foi reconhecida em 1992, pela Organização Mundial de Saúde (OMS), como a principal causa do câncer cervical<sup>1</sup>.

De acordo com dados do Instituto Nacional de Câncer (INCA), o câncer de colo do útero é o segundo mais comum entre mulheres no mundo sendo responsável, anualmente, por cerca de 470 mil casos novos e pelo óbito de, aproximadamente, 230 mil mulheres por ano. Quase 80% dos ca-

sos novos ocorrem em países em desenvolvimento onde, em algumas regiões, esse é o câncer mais comum entre as mulheres. Para 2006, as estimativas do INCA sobre incidência previam 19260 novos casos de câncer de colo do útero, com um risco estimado de 20 casos a cada 100 mil mulheres. No Distrito Federal, para 2006, estimava-se uma incidência de 22,63 novos casos de câncer de colo do útero para cada 100 mil mulheres<sup>2</sup>.

A classificação atual do HPV em genótipos baseia-se na comparação de seqüências de nucleotídeos do gene L1. Cada genótipo de HPV difere dos outros em, pelo menos, 10% na seqüência de nucleotídeos de L1. Em casos nos quais a diferença na seqüência desse gene varia entre 2 e 10%, o isolado é considerado um subtipo. Variantes de um

determinado genótipo diferem em menos de 2% do isolado original, denominado “protótipo”<sup>3,4</sup>.

Os genótipos são subdivididos em cutâneos, que infectam a pele, e mucosotróficos, que infectam as mucosas urogenitais, anais e ororrespiratória. Dentre os mais de 100 genótipos de HPV descritos, cerca de 30 podem infectar o trato genital<sup>3</sup>. Esses HPV mucosotróficos podem ser ainda considerados como de baixo ou alto risco, de acordo com o potencial de progressão para neoplasias. A manifestação patológica da infecção pode ser uma tumoração benigna, verruga ou papiloma, associada aos HPV de baixo risco. Essa manifestação pode progredir para condições malignas, displasia e neoplasia intra-epitelial cervical (NIC), que estão associadas aos HPV de alto risco<sup>1,5</sup>. Vacinas contra HPV estão em desenvolvimento e um dos principais problemas é determinar acuradamente que genótipos de HPV devem ser incluídos, pois variações geográficas na prevalência dos tipos são observadas<sup>6</sup>. Uma dessas vacinas, a quadrivalente contra os HPV -6, -11, -16 e -18, já foi registrada no Brasil pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e encontra-se, atualmente, em comercialização. O registro da vacina bivalente contra os HPV -16 e -18 está em fase de análise pela ANVISA.

O HPV representa uma das infecções oportunistas que mais acomete as mulheres portadoras do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1). Em 1993, o câncer de colo uterino foi a neoplasia mais freqüente entre mulheres com AIDS. Desde então, o Centro de Controle e Prevenção de Doenças nos Estados Unidos (*Center for Disease Control and Prevention* - CDC) declarou que o carcinoma cervical invasivo (CCI) enquadra-se na lista de doenças definidoras da AIDS em mulheres infectadas pelo HIV<sup>5,7</sup>.

A infecção pelo HIV-1 pode acelerar a progressão das lesões associadas ao HPV. Essas lesões associadas ao HPV comprometem a mucosa do colo uterino e podem evoluir para lesões de alto grau. Em geral, o câncer cervical invasivo demora cerca de dez anos para se desenvolver em mulheres infectadas apenas com o HPV. Entretanto, no caso das mulheres co-infectadas por HIV-1 e HPV, esse período pode ser de um ou dois anos. Além disso, a replicação do HPV pode ser mais eficiente em um hospedeiro imunodeficiente, o que resultaria em uma maior taxa de detecção e em maior probabilidade de desenvolvimento de uma infecção persistente pelo HPV. Outro fator que pode explicar a associação entre HIV-1 e HPV é a via comum de transmissão, ou seja, sexual<sup>8,9</sup>.

No Distrito Federal, não há dados sobre a prevalência e a variabilidade do HPV em amostras de mulheres co-infectadas pelo HIV-1. Com vistas a ampliar o conhecimento sobre a variabilidade do HPV nesse grupo específico de indivíduos e a compreender melhor a interação entre HPV e HIV-1 na co-infecção, os objetivos deste trabalho foram: i) determinar a prevalência da infecção por HPV em mulheres infectadas pelo HIV-1; ii) determinar a frequência dos genótipos de HPV nessa população de mulheres soropositivas para o HIV-1; iii) determinar a prevalência e os tipos de lesões associadas à infecção por HPV em amostras de mulheres co-infectadas com HIV-1; iv) estabelecer correlações entre os marcadores da infecção pelo HIV, especificamente a contagem de linfócitos T CD4 e a carga viral, com a presença de infecção por HPV e o tipo de lesão associada; v) determinar a relação entre o tratamento anti-retroviral, a presença de infecção por HPV e o tipo de lesão associada na população em estudo.

## MÉTODO

**População de estudo.** A população alvo do estudo foi constituída de mulheres, com sorologia reagente para HIV-1, e residentes no Distrito Federal e Entorno (incluindo as Regiões Administrativas de Brasília, Gama, Taguatinga, Brazlândia, Sobradinho, Planaltina, Paranoá, Núcleo Bandeirante, Ceilândia, Guará, Cruzeiro, Samambaia, Santa Maria, São Sebastião, Recanto das Emas, Lago Sul, Riacho Fundo, Lago Norte, Candangolândia, Águas Claras, Riacho Fundo II, Sudoeste/Octogonal, Varjão, Park Way, Setor Complementar de Indústria e Abastecimento, Sobradinho II, Jardim Botânico e Itapuã). Foram considerados os seguintes critérios de inclusão: a) assinatura do consentimento livre e esclarecido, conforme as normas de pesquisa envolvendo seres humanos; b) idade superior a 13 anos; c) disponibilidade dos dados referentes à infecção por HIV-1 (carga viral e contagem de linfócitos T CD4+); d) disponibilidade de dados referentes ao laudo citopatológico cervical; e) disponibilidade de dados relativos ao tratamento anti-retroviral.

A amostragem de indivíduos incluídos no estudo foi de 200 mulheres. Esse número de amostras foi definido como representativo da população feminina soropositivas para o HIV-1 do DF, utilizando-se o programa Statcalc Epi-6 (CDC), para um nível de confiança de 99,9%. As amostras foram coletadas no período de 07/06/2004 a 14/12/2006, sendo nove amostras provenientes do Hospital Universitário de Brasília (HUB), três amostras do Hospital Regional de Sobradinho, duas amostras provenientes de consultório particular

e 186 amostras da Unidade Mista de Saúde da Asa Sul (Hospital Dia), que é centro de referência para tratamento de pacientes infectados por HIV no DF e Entorno. O estudo ora apresentado foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria de Estado de Saúde do Governo do Distrito Federal.

**Coleta de dados.** Foi utilizado um questionário estruturado para coleta dos seguintes dados: idade, resultado do teste de carga viral do HIV-1, resultado do teste de contagem de células T CD4+, tratamento anti-retroviral realizado no momento da coleta e laudo citopatológico cervical. Os dados assim obtidos foram utilizados para a execução dos objetivos desse projeto, sendo importante salientar que a privacidade das pacientes incluídas foi garantida, de forma que o nome de cada uma não foi vinculado às demais informações. Para tanto, todas as amostras foram previamente codificadas e, através desses códigos, identificamos os dados acima mencionados, não tendo sido feita nenhuma identificação de pacientes por nome.

**Coleta e processamento das amostras.** As coletas foram realizadas, principalmente, na Unidade Mista de Saúde do Distrito Federal (Hospital Dia, Asa Sul), que atende e acompanha o tratamento dos portadores de HIV-1. Pacientes de outros estabelecimentos constituintes do Serviço de Saúde do DF, a saber, Hospital Universitário de Brasília (HUB) e Hospital Regional de Sobradinho, também foram incluídas neste estudo. O procedimento de coleta de um raspado de células do colo do útero foi realizado pelo médico que atendeu à paciente no referido serviço de saúde.

O material coletado foi transferido para tubos estéreis, contendo 5 ml de tampão fosfato salino (PBS) (pH 7,2 ± 0,1). Os tubos foram transportados em condições refrigeradas para a Universidade de Brasília, onde foram vortexados e centrifugados por 10 minutos a 4000 rpm, para a precipitação das células. O sobrenadante foi descartado e as células foram ressuspensas em 1 ml de tampão [10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl] e aquecidas à 95°C por 15 minutos<sup>10</sup>. O material biológico assim obtido foi armazenado em *freezer* a -80 °C.

Para controle da qualidade do DNA no material biológico, foi realizada amplificação por reação em cadeia da polimerase (PCR), usando-se os *primers* pCO3/pCO4, que amplificam um fragmento de 110 pares de bases (pb) do gene da beta globina. As amostras negativas para amplificação da beta globina foram consideradas inadequadas e excluídas do estudo.

**Deteção e genotipagem do HPV.** As amostras foram amplificadas por PCR, usando-se *primers* específicos para um fragmento do gene L1 (MY09/MY11), além de controles negativos e positivos adequados<sup>11</sup>. As amostras amplificadas foram analisadas em gel de agarose.

Quando apresentaram produtos de PCR resultantes da amplificação por MY09/MY11 com tamanho aproximado de 450pb, as amostras foram submetidas à análise de polimorfismo (RFLP) após a digestão com as enzimas de restrição *Bam* HI, *Dde* I, *Hae* III, *Hinf* I, *Pst* I, *Rsa* I e *Sau* 3AI. Nessa metodologia, cada amostra digerida foi analisada em gel de poliacrilamida 8% e comparada com perfis de restrição característicos de cada genótipo de HPV descritos na literatura<sup>11,12</sup>.

As amostras amplificadas com MY09/MY11 que não puderam ser genotipadas por RFLP foram clonadas e seqüenciadas automaticamente, o que permitiu a caracterização do(s) genótipo(s) do(s) vírus presente(s)<sup>13</sup>. As amostras não amplificadas com MY09/MY11 foram consideradas negativas para a presença de HPV, de acordo com a metodologia utilizada.

## RESULTADOS

Foram obtidas 200 amostras de células da mucosa da cérvix uterina, provenientes de pacientes atendidas na rede de saúde do DF. A média de idade foi de 35,8 anos (variação: 17-61; mediana: 35,5), com contagem de células CD4+ variando de 2,0 a 1336 células/ $\mu$ L (média: 421,7 mediana: 393) e carga viral do HIV-1 variando de indetectável (<50 cópias/mL) a 500000 cópias/mL (média: 18210,1; mediana: 942). Entre as mulheres soropositivas para o HIV-1, 30 (15%) estavam imunocomprometidas (contagem de CD4+ <200/ $\mu$ L).

Dentre as 200 amostras analisadas, 82 (41%) apresentaram resultado positivo para HPV em PCR, enquanto 118 (59%) apresentaram resultado negativo para HPV em PCR.

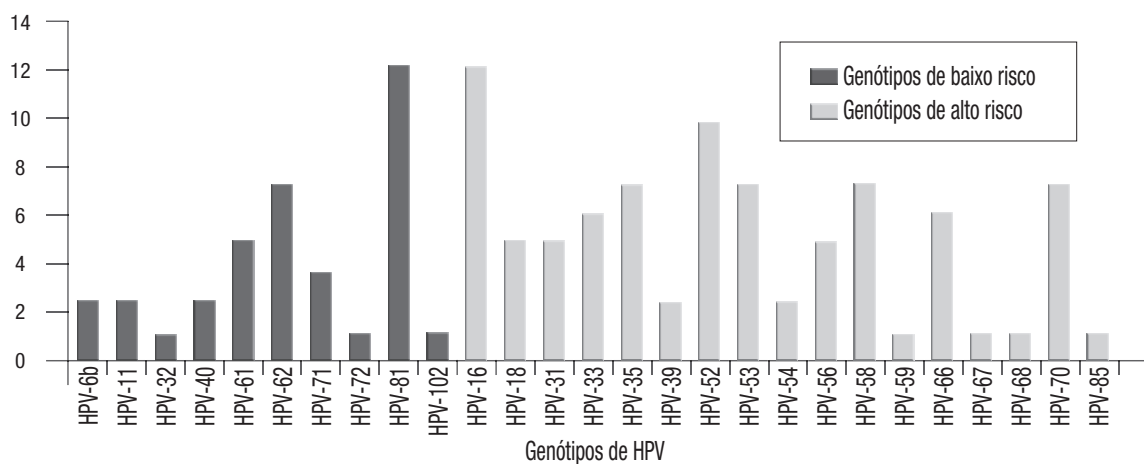
A maioria das mulheres (75,5%; n = 151) tinha idade igual ou superior a 30 anos. Foi possível observar que a presença de infecção por HPV foi significativamente maior (59,2%; 29/49) entre as mulheres com menos de 30 anos, quando comparadas àquelas com 30 anos ou mais (35,1%; 53/151) (p < 0,003).

**Genotipagem.** O DNA do HPV foi identificado em 82 (41%) das 200 mulheres soropositivas para o HIV-1. Dessas amostras positivas para HPV, 72% estavam infectadas com genótipos oncogênicos (59/82). A análise por RFLP sugeriu que 26 (13%) das 82 pacientes positivas para DNA do HPV estavam infectadas por múltiplos genótipos. A distribuição desses genótipos, de acordo com o risco de desenvolvimento de câncer cervical, está apresentada na Figura 1.

Dos 27 genótipos detectados, 17 (63%) eram de alto risco e 10 (37%) de baixo risco. Os HPV -16 e -81 foram os mais prevalentes (12,2%; n = 10), seguidos pelos HPV -52 (9,8%; n = 8), -35, -53, -58, -62 e -70 (7,3%; n = 6), -33, e -66 (6,1%; n = 5), -18, -31, -56 e -61 (4,9%; n = 4), -71 (3,7%; n = 3), -6b, -11, -39, -40 e -54 (2,4%; n = 2) e -32, -59, -67, -68, -72, -85 e -102 (1,2%; n = 1) (Figura 1).

Figura 1

Frequência dos genótipos de HPV, de acordo com o risco de progressão para câncer, entre as mulheres soropositivas para o HIV-1 no Distrito Federal e Entorno.



**HPV X Citopatologia.** As 200 amostras obtidas foram classificadas em dois grupos com relação aos laudos citopatológicos:

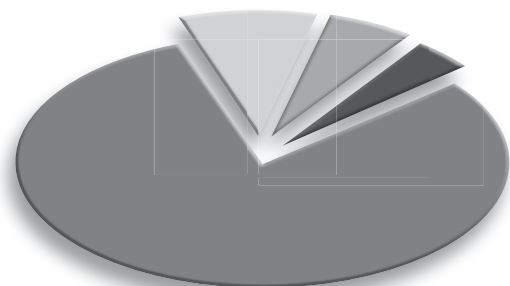
- Grupo 1 (G1) – amostras com diagnóstico citopatológico descrito como: i) dentro dos limites da normalidade, no material examinado; ii) alterações celulares benignas, incluindo inflamação, reparação, metaplasia escamosa imatura, atrofia com inflamação ou radiação;
- Grupo 2 (G2) – amostras com diagnóstico citopatológico alterado, com atipias celulares incluindo: i) lesão intra-epitelial de baixo grau - LSIL (compreendendo efeito citopático pelo HPV - HPV e neoplasia intra-epitelial cervical grau I - NIC I); ii) lesão intra-epitelial de alto grau - HSIL (compreendendo neoplasias intra-epiteliais cervicais graus II e III - NIC II e III); iii) células atípicas de significado indeterminado - ASCUS.

Com relação ao laudo citopatológico, 161 amostras (80,5%) apresentaram resultados normais ou

apenas alterações celulares benignas, constituindo o grupo G1. Por outro lado, 39 amostras (19,5%) pertenciam ao grupo G2: LSIL (53,8%; 21/39); HSIL (35,9%; 14/39); e ASCUS (10,2%; 4/39) (Figura 2).

Figura 2

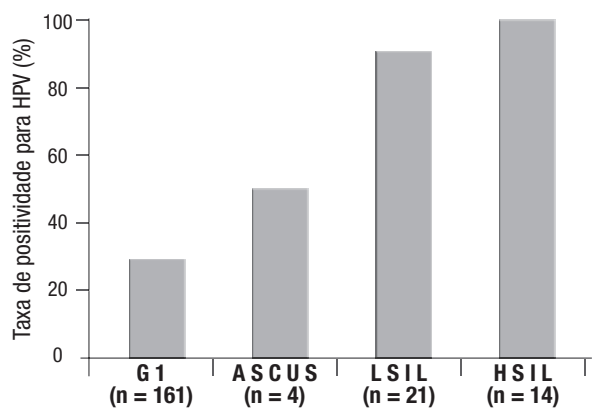
Distribuição dos laudos citopatológicos cervicais entre as pacientes do Distrito Federal e Entorno. G1: grupo 1, incluindo diagnóstico citopatológico normal ou alterações celulares benignas; LSIL: lesão intra-epitelial de baixo grau; HSIL: lesão intra-epitelial de alto grau; ASCUS: células atípicas de significado indeterminado.



■ G1 (80,5%) ■ LSIL (10,5%) ■ HSIL (7%) ■ ASCUS (2%)

Figura 3

Relação entre os laudos citopatológicos, agrupados de acordo com a severidade das lesões, e a positividade para DNA do HPV. G1: Alterações celulares benignas ou resultados normais; ASCUS: células atípicas de significado indeterminado; LSIL: lesão intra-epitelial de baixo grau; HSIL: lesão intra-epitelial de alto grau.



Em G1, 114 amostras (70,8%) apresentaram resultados negativos para HPV em PCR e 47 amostras (29,2%) apresentaram resultados positivos. Por outro lado, em G2, a maior parte das amostras (89,7%; n = 35) foram positivas para HPV e apenas 4 amostras (10,3%) foram negativas, observando-se uma prevalência significativamente maior de infecção por HPV em G2 ( $p < 0,0001$ ) (Figura 3).

A análise dos genótipos de HPV entre os dois grupos citológicos revelou que, em G1, 66% das amostras positivas para DNA de HPV estavam infectadas por HPV de alto risco e 34% por HPV de baixo risco. Em G2, a maioria das amostras HPV positivas também foi positiva para infecção por genótipos de alto risco (80%; 28/35) e apenas 7 amostras (20%) estavam infectadas por genótipos de HPV de baixo risco. Uma associação significativa entre os HPV de alto risco e G2 pôde ser observada ( $p < 0,0001$ ).

**HPV x HIV-1.** A frequência de infecção por HPV e de anormalidades citopatológicas nessa população foi analisada com relação à contagem de células CD4+ das mulheres infectadas por HIV-1. Para tanto, as mulheres foram divididas em três grupos: <200, 200-500 e >500 células CD4+/ $\mu$ L. Trinta pacientes (15%) tinham CD4+ <200; dentre elas, 17 (56,7%) eram positivas para o HPV e 12 (40%) apresentaram resultado alterado no exame citológico (G2). Das 110 pacientes (55%) com contagem de CD4+ entre 200 e 500, 46 (41,8%) foram positivas para HPV e 21 (19,1%) pertenciam ao G2. Finalmente, das 60 pacientes (30%) com contagem de CD4+ >500, 19 (31,7%) foram

positivas para HPV e apenas 6 (10%) apresentaram anormalidade no laudo citopatológico. As análises estatísticas sugeriram que as anormalidades citológicas estavam associadas ao nível de imunossupressão ( $p < 0,005$ ), mas não foi possível observar associação estatisticamente significativa entre a prevalência de infecção por HPV e o nível de imunossupressão.

A carga viral do HIV-1 estava associada à ocorrência de anormalidades citológicas e à detecção de DNA do HPV ( $p < 0,008$ ). Entre os 22 indivíduos com carga viral superior a 30000 cópias/mL, a prevalência de infecção por HPV foi de 68,2% e de anormalidades citológicas foi de 40,9%. Entre as 178 pacientes com carga viral menor que 30000 cópias/mL, o DNA do HPV foi detectado em 37,6% e anormalidades citológicas em 16,8% (Tabela 1).

Tabela 1

Relação entre os resultados de exame citológico cervical, a infecção por HPV e os marcadores da infecção por HIV-1 (CD4+ e carga viral).

	Citopatologia	
	Normal / Alterações celulares benignas n = 161	Alterada n = 39
HPV negativa	114 (70,8%)	4 (10,3%)
HPV positiva, alto risco	31 (19,2%)	28 (71,8%)
HPV positiva, baixo risco	16 (9,9%)	7 (17,9%)
HPV positiva, co-infecção	12 (7,4%)	14 (35,9%)
CD4+/ $\mu$ L média / mediana	446,9 / 415	317,8 / 280
Carga viral do HIV média / mediana	11351,4 / 780	46524,1 / 3736

A maioria (68%, n = 136) das pacientes estava sob algum tipo de tratamento anti-retroviral, com 16/136 (11,8%) em terapia quádrupla, 93/136 (68,4%) em tripla e 27/136 (19,8%) em dupla. Cinquenta e oito pacientes submetidas ao tratamento foram positivas para DNA do HPV (42,6%) e 78 (57,3%) foram negativas. Das 136 pacientes em tratamento, 29 (21,3%) apresentaram laudo citopatológico cervical alterado (G2). As demais 64 mulheres (32%) soropositivas para o HIV-1 não estavam recebendo qualquer tratamento anti-retroviral ao entrar no estudo. Dentre elas, 37,5% (24/64) eram positivas para DNA do HPV e 62,5% (40/64) eram negativas. Dentre essas 64 pacientes que não estavam recebendo anti-retrovirais,

10 (15,6%) pertenciam ao G2. Não foi observada uma associação significativa entre o uso de drogas

anti-retrovirais e a presença de HPV ou de anormalidades citológicas (Tabela 2).

Tabela 2

Relação entre a presença de infecção por HPV, os marcadores da infecção por HIV-1 (CD4+ e carga viral) e o tratamento anti-retroviral.

	HPV n (%)	HPV alto risco n (%)	HPV baixo risco n (%)
CD4+/ $\mu$ L			
< 200 (n = 30)	17 (56,7)	14 (46,7)	3 (10)
200-500 (n = 110)	46 (41,8)	33 (30)	13 (11,8)
> 500 (n = 60)	19 (31,7)	12 (20)	7 (11,7)
HIV carga viral (cópias/mL)			
< 30000 (n = 178)	67 (37,6)	45 (25,3)	22 (12,4)
> 30000 (n = 22)	15 (68,2)	14 (63,6)	1 (4,5)
Terapia Anti-retroviral			
Sim (n = 136)	58 (42,6)	40 (29,4)	18 (13,2)
Não (n = 64)	24 (37,5)	19 (29,7)	5 (7,8)

## DISCUSSÃO

**Prevalência do HPV** - As infecções por HPV são as doenças sexualmente transmitidas mais comuns atualmente. Estudos utilizando teste para DNA de HPV em mulheres assintomáticas na população geral estimam que a prevalência de infecção por HPV varie de 2-44%. Essa ampla variação nas estimativas de prevalência é bem explicada por diferenças de idade entre as amostras populacionais estudadas, por diferenças na sensibilidade molecular dos vários ensaios usados para detectar o DNA do HPV e devido ao fato de que populações diferentes são estudadas<sup>14</sup>.

Um estudo internacional multicêntrico conduzido pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) forneceu dados de 15 áreas em 4 continentes, envolvendo mulheres com idades entre 15 e 74 anos. A prevalência de HPV variou de menos de 5% em alguns países mediterrâneos e do sudeste asiático a mais de 15% em diversos países da América Latina e entre algumas populações africanas<sup>15</sup>.

Os resultados obtidos sobre a prevalência de HPV em mulheres soropositivas para o HIV-1 do DF (41%), assim como os divulgados em outros estudos, sugerem que é necessário o monitoramento constante de patologias cervicais em mulheres infectadas por HIV-1<sup>16</sup>. Chaturvedi *et al.* observaram, nos Estados Unidos, uma prevalência de 48,7% de infecção por HPV em mulheres soropositivas para o HIV-1. Esses dados também são compatíveis com os obtidos em estudos anteriores, que relatam, fre-

qüentemente, que a prevalência de infecção por HPV varia entre 50-70%, de acordo com a população em estudo<sup>16</sup>. Em estudo conduzido na Itália sobre a distribuição dos HPV entre mulheres imigrantes e com histórico de prostituição, observou-se que 42,2% das amostras foram positivas para HPV, com taxas de detecção de 57,1% entre as soropositivas para o HIV-1 e 35,5% entre as soronegativas para o HIV-1<sup>17</sup>. Na região sudeste do Brasil, foi demonstrado, por PCR, que 87% das mulheres soropositivas para o HIV-1 apresentavam DNA do HPV<sup>18</sup>. Essas variações na prevalência de infecção por HPV refletem, provavelmente, diferenças nas populações estudadas e nos métodos de detecção do HPV utilizados. Na população soronegativa para o HIV-1, tem sido relatado que a prevalência do HPV varia entre 15% a 50%, dependendo das características da população de estudo<sup>16</sup>. No geral, os resultados são consistentes e indicam que cerca de 50% de todas as mulheres estão infectadas por HPV, caracterizando um problema mundial de saúde pública.

O estudo dos diferentes genótipos do HPV em cada região pode contribuir para o controle e para o tratamento da doença associada ao HPV, definindo-se a relevância de pesquisas epidemiológicas moleculares. Esses estudos podem fornecer evidências sobre a existência de diferenças biológicas na transmissibilidade e patogênese entre os diversos genótipos do HPV, além de contribuir para o desenvolvimento e utilização efetiva de vacinas. A distribuição dos genótipos do HPV no Brasil parece ser complexa, já que sua prevalência pode diferir significativamente mesmo entre cida-

des bem próximas. Porém, é importante destacar que a distribuição dos genótipos de HPV tem determinantes próprios e que os dados de um local não podem ser generalizados para todo o país ou mesmo para uma região geográfica. Além disso, conforme tem sido verificada na literatura, a distribuição dos diversos genótipos do HPV parece ser diferente de acordo com o cenário clínico em estudo como, por exemplo, entre populações soropositivas e soronegativas para o HIV-1.

Os genótipos mais freqüentes de HPV entre as mulheres soropositivas para o HIV-1 no DF foram os HPV -16 e -81 (12,2%). A seguir, foram mais freqüentes os HPV -52, -35, -53, -58, -62, -70, -33, -66, -18, -31, -56, -61, -71, -6b, -11, -39, -40, -54, -32, -59, -67, -68, -72, -85 e -102. Sabe-se que o HPV-16 é o genótipo mais prevalente em todo o mundo. A Agência Internacional de Pesquisa sobre o câncer (IARC) divulgou, recentemente, resultados de uma análise sobre a distribuição mundial de genótipos de HPV, onde o genótipo mais comum foi o HPV-16, seguido pelos HPV -42, -58, -31, -18, -56, -81, -35, -33 e -45. As diferenças na prevalência dos genótipos de HPV podem estar relacionadas à complexa inter-relação geográfica e biológica entre os diferentes genótipos ou variantes de HPV e fatores imunogenéticos do hospedeiro<sup>19</sup>. Os resultados aqui encontrados confirmam a necessidade de estudos epidemiológicos para verificar o risco de genótipos de HPV menos comuns, para identificar vírus desconhecidos e para monitorar a eventual dispersão de genótipos virais não usuais relacionados a programas de vacinação e/ou mobilidade populacional<sup>20</sup>.

**HPV x Idade** - A idade mediana de início da vida sexual é de cerca de 16 anos na maioria dos países. Após 5 anos do início da vida sexual, aproximadamente 50% das mulheres jovens já estão infectadas com no mínimo um dos 40 genótipos de HPV que infectam os genitais. Os resultados obtidos no DF mostram uma prevalência significativamente mais alta de HPV entre mulheres jovens (< 30 anos), o que está de acordo com o relatado na literatura que indica que a incidência máxima da infecção por HPV ocorre em adultos jovens<sup>9,21</sup>.

Os adultos jovens sexualmente ativos representam a parcela da população com maior risco de adquirir HPV, conforme estudos epidemiológicos que mostram que a prevalência de infecção por HPV é mais alta entre mulheres jovens sexualmente ativas, indicando uma redução no risco após a idade de 30 anos. A redução no risco de infecção por HPV com o aumento da idade parece ser indepen-

dente de mudanças no comportamento sexual, sugerindo um papel da resposta imune. Entretanto, um segundo pico de infecção por HPV em idades avançadas também é uma característica comum das descobertas epidemiológicas<sup>14,15</sup>.

**HPV x Laudo citopatológico** - Em estudo sobre a distribuição dos genótipos de HPV entre o espectro de categorias de citologia cervical, o DNA viral foi detectado em 27% das amostras sem lesão intra-epitelial, em 89,5% das amostras com ASCUS, em 97,5% das amostras com LSIL e em 96,5% das amostras com HSIL. Esse estudo concluiu que a detecção de HPV de alto risco por PCR pode beneficiar o manejo das pacientes com lesões de baixo grau<sup>22</sup>.

Na Suécia, de 1 milhão de testes de Papanicolau realizados por ano, cerca de 4% apresentam qualquer grau de anormalidade. Considerando-se as mulheres com atipias de baixo grau analisadas, 66% eram positivas para DNA do HPV, o que demonstra a importância da confirmação da infecção utilizando-se técnicas moleculares, mesmo em mulheres com laudos citopatológicos sugestivos de infecção por HPV<sup>23</sup>. Na Itália, entre 414 mulheres estudadas, as prevalências de infecção por HPV foram 19,7%, 63,4%, 80% e 81,5% entre pacientes com cérvix normal, lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau, de alto grau e carcinomas cervicais, respectivamente. Um total de 31 genótipos foi identificado e, como esperado, o HPV-16 foi o mais freqüente<sup>20</sup>.

Em estudo recente no Rio de Janeiro, Carvalho *et al.* observaram que a prevalência geral de DNA do HPV foi de 50,1%, variando de 25% entre mulheres classificadas como normais no teste de Papanicolau para 100% entre mulheres com diagnóstico de HSIL. Diferenças estatisticamente significativas foram detectadas entre as porcentagens de indivíduos com infecção por HPV com cérvix normal versus HSIL<sup>6</sup>. No DF, observamos uma prevalência de HPV entre as mulheres soropositivas para o HIV-1 sem anormalidades no laudo citopatológico de 29,2%. Por outro lado, entre as mulheres com algum tipo de anormalidade cervical, a prevalência de DNA do HPV foi de 89,7%, semelhante ao que tem sido relatado na literatura.

A presença de DNA do HPV entre amostras cervicais normais pode caracterizar infecções latentes ou lesões cervicais incipientes, caracterizando um baixo nível de replicação gênica do HPV. Esses casos devem ser monitorados por representarem um maior risco de desenvolvimento de lesão em

tais mulheres infectadas. Mesmo um único teste positivo para HPV em mulheres citologicamente normais é substancialmente preditivo de lesão de alto grau. Entretanto, outra explicação poderia ser devido à presença de erros no teste de DNA ou no diagnóstico citológico. A positividade para DNA de HPV, mesmo quando a amostra citológica é negativa, pode determinar a necessidade de um melhor acompanhamento clínico. Além disso, fatores ambientais e imunológicos do hospedeiro podem ter um papel importante no desenvolvimento de lesões cervicais. A história natural de uma infecção genital por HPV, incluindo os tipos e a carga viral do HPV ao longo do tempo, pode influenciar o risco de lesão, bem como sua tendência de regredir, persistir ou progredir<sup>6</sup>.

Por outro lado, a presença de amostras negativas para HPV entre mulheres com laudos citopatológicos apresentando atipias celulares pode ser explicada pelo fato de que, segundo as diretrizes da Sociedade Americana de Colposcopia e Patologia Cervical (ASCCP), da perspectiva de triagem de câncer de colo do útero, um resultado de exame citopatológico alterado com teste negativo para DNA de HPV representa, na maioria das vezes, um resultado falso-positivo. O exame de Papanicolau é apenas um recurso de triagem, cuja sensibilidade é de 70%, e as anormalidades detectadas por ele requerem uma avaliação definitiva por colposcopia e biópsia<sup>24</sup>.

**HPV x HIV-1** – A incidência de lesões cervicais de alto grau em mulheres soropositivas para o HIV está relacionada ao seu estado imune, expresso pela contagem de células CD4. Além disso, as mulheres soropositivas para o HIV-1 quando comparadas às soronegativas para o HIV-1 apresentam uma progressão mais rápida à lesão de alto grau após infecção por HPV<sup>7</sup>.

Em estudo sobre HIV-1 entre mulheres (*Women's Interagency HIV Study* - WIHS), a positividade do HIV-1, positividade do HPV, baixa contagem de células CD4+ e elevado número de cópias de RNA do HIV-1 estavam associados com a incidência de anormalidades citológicas. Na literatura, os relatos sobre o impacto do tratamento anti-retroviral sobre a história natural e tratamento de lesões cervicais são variados, provavelmente devido a diferenças no desenho e desenvolvimento do estudo, padrões de uso dos anti-retrovirais e populações estudadas. De forma geral, os dados sugerem que esses medicamentos têm um impacto positivo modesto sobre a história natural de neoplasias. Foi demonstrado que mulheres que recebem a terapia

anti-retroviral têm uma menor incidência de HSIL e uma maior taxa de regressão dessas lesões para lesões de baixo grau. Entretanto, ainda não foi demonstrada uma redução na incidência de câncer cervical associada ao tratamento anti-retroviral<sup>25</sup>.

Já foi relatado na literatura que o nível de RNA do HIV-1 no plasma está associado à presença de DNA do HPV em amostras cervicais e à detecção de anormalidades no exame citológico. No entanto, não é fácil selecionar marcadores que possam ser usados para identificar um subgrupo de mulheres soropositivas para o HIV-1 que tenha maior probabilidade de apresentar infecção concomitante por HPV. Diversos fatores epidemiológicos são comuns a todas as mulheres infectadas por HIV-1 e não podem ser usados para caracterizar aquelas em risco particularmente alto de infecção por HPV e de doença cervical. Também já foi demonstrado que contagens reduzidas de células CD4 em pacientes infectados por HIV-1 estão associadas à doença cervical e a taxas mais altas de infecção por HPV<sup>26</sup>.

No DF, as análises estatísticas sugeriram que as anormalidades citológicas estavam associadas ao nível de imunossupressão, mas não foi possível observar associação estatisticamente significativa entre a prevalência de infecção por HPV e a contagem de células CD4. Por outro lado, a carga viral do HIV-1 estava associada à ocorrência de anormalidades citológicas e à detecção de DNA do HPV. A análise do uso de drogas anti-retrovirais não demonstrou uma associação significativa com a presença de HPV ou de anormalidades citológicas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chow LT, Broker TR. Small DNA tumor viruses. In: Nathanson N, editor. Viral pathogenesis. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1997. p. 267-301.
2. INCA [base de dados na Internet]. Brasília (DF): Ministério da Saúde – c1996. [acesso em 2007 Mar]. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/>.
3. Bernard HU. The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. J Clin Virol. 2005 Mar;32 Suppl 1:S1-6.
4. Bernard HU, Calleja-Macias IE, Dunn ST. Genome variation of human papillomavirus types: phylogenetic and medical implications. Int J Cancer. 2005 Mar 1;118(5):1071-6.

5. Clarke B, Chetty R. Postmodern cancer: the role of human immunodeficiency virus in uterine cervical cancer. *J Clin Pathol: Mol Pathol*. 2002 Feb;55(1):19-24.
6. Carvalho MO, Carestiato FN, Perdigão PH, Xavier MP, Silva K, Botelho MO, et al. Human papillomavirus infection in Rio de Janeiro, Brazil: a retrospective study. *Braz J Infect Dis*. 2005 Oct;9(5):398-404.
7. Sirera G, Videla S, Herranz P, Corzo-Delgado JE; Grupo de Estudio del SIDA (GESIDA). Virus del papiloma humano y virus de la inmunodeficiencia humana/sida. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2006 Nov;24 Suppl 2:40-6.
8. Volkow P, Rubi S, Lizano M, Carrillo A, Vilar-Compte D, García-Carrancá A, et al. **High prevalence of oncogenic human papillomavirus in the genital tract of women with human immunodeficiency virus.** *Gynecol Oncol*. 2001 Jul;82(1):27-31.
9. Levi JE, Kleter B, Quint WGV, Fink MCS, Canto CLM, Matsubara R, et al. High prevalence of human papillomavirus (HPV) infections and high frequency of multiple HPV genotypes in human immunodeficiency virus-infected women in Brazil. *J Clin Microbiol*. 2002 Sep;40(9):3341-5.
10. Nindl I, Rindfleisch K, Lotz B, Schneider A, Dürst M. Uniform distribution of HPV 16 E6 and E7 variants in patients with normal histology, cervical intra-epithelial neoplasia and cervical cancer. *Int J Cancer*. 1999 Jul 19;82(2):203-7.
11. Bernard HU, Chan SY, Manos MM, Ong CK, Villa LL, Delius H, et al. Identification and assessment of known and novel human papillomaviruses by polymerase chain reaction amplification, restriction fragment length polymorphisms, nucleotide sequence and phylogenetic algorithms. *J Infect Dis*. 1994 Nov;170(5):1077-1085.
12. Camara GNNL, Cerqueira DM, Oliveira APG, Silva EO, Bonfim PR, Carvalho LGS, et al. Prevalence of human papillomavirus types in women with pre-neoplastic and neoplastic cervical lesions in Central Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2003 Oct;98(7):879-883.
13. Cerqueira DM, Camara GNN, Cruz MR, Silva EO, Brígido MM, Carvalho LGS, et al. Variants of human papillomavirus types 53, 58 and 66 identified in Central Brazil. *Virus Genes*. 2003 Jan;26(1):83-7.
14. Trottier H, Franco EL. Human papillomavirus and cervical cancer: burden of illness and basis for prevention. *Am J Manag Care*. 2006 Dec 12;17 Suppl:S462-72.
15. Bosch FX, Qiao Y-L, Castellsagué X. The epidemiology of human papillomavirus infection and its association with cervical cancer. *Int J Gynaecol Obst*. 2006;94 Suppl 1:S8-S21.
16. Chaturvedi AK, Dumestre J, Gaffga AM, Mire KM, Clark RA, Braly PS, et al. Prevalence of human papillomavirus genotypes in women from three clinical settings. *J Med Virol*. 2005 Jan;75(1):105-113.
17. Tornesello ML, Duraturo ML, Buonaguro L, Vallefuoco G, Piccoli R, Palmieri S, et al. Prevalence of human papillomavirus genotypes and their variants in high risk West Africa women immigrants in South Italy. *Infect Agent Cancer*. 2007 Jan 3;2:1.
18. Levi JE, Fernandes S, Tateno AF, Motta E, Lima LP, Eluf-Neto J, et al. Presence of multiple human papillomavirus types in cervical samples from HIV-infected women. *Gynecol Oncol*. 2004 Jan;92(1):225-231.
19. Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Muñoz N, Snijders PJF, Vaccarella S, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet*. 2005 Sep 17-23;366(9490):991-8.
20. Tornesello ML, Duraturo ML, Botti G, Greggi S, Piccoli R, de Palo G, et al. Prevalence of alpha-papillomavirus genotypes in cervical squamous intraepithelial lesions and invasive cervical carcinoma in the Italian population. *J Med Virol*. 2006 Dec;78(12):1663-72.
21. Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev*. 2003 Jan;16(1):1-17.
22. Evans MF, Adamson CS, Papillo JL, St John TL, Leiman G, Cooper K. Distribution of human papillomavirus types in ThinPrep Papanicolaou tests classified according to the Bethesda 2001 terminology and correlations with patient age and biopsy outcomes. *Cancer*. 2006 Mar 1;106(5):1054-64.
23. Andersson S, Dillner L, Elfgrén K, Mints M, Persson M, Rylander E. A comparison of the human papillomavirus test and Papanicolaou smear as a second screening method for women with minor

- cytological abnormalities. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2005 Oct;84(10):996-1000.
24. Cox JT, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. The clinician's view: role of human papillomavirus testing in the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology Guidelines for the management of abnormal cervical cytology and cervical cancer precursors. *Arch Pathol Lab Med.* 2003 Aug;127(8):950-8.
25. Palefsky JM. HPV infection and HPV-associated neoplasia in immunocompromised women. *International Journal of Gynecology and Obstetrics.* 2006;94 Suppl 1:S56-S64.
26. Luque AE, Demeter LM, Reichman RC. Association of human papillomavirus infection and disease with magnitude of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) RNA plasma level among women with HIV-1 infection. *J Infect Dis.* 1999 Jun;179(6):1405-9.

---

O trabalho que originou este artigo foi financiado pelos seguintes órgãos: Programa Nacional DST/AIDS – Ministério da Saúde; Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF); Fundação de Empreendimentos Científicos e Tecnológicos (FINATEC); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).