

PREVALÊNCIA E GENOTIPAGEM DO PAPILOMAVIRUS HUMANO EM MULHERES PORTADORAS DE HIV

ENTIAUSPE, Ludmila Gonçalves^{1,2,3,4,5*}; NUNES, Emily Montosa^{1,2,3,4}; DA SILVEIRA, Mariângela Freitas^{1,6,7}; COLLARES, Tiago^{1,2,4,5}; SEIXAS, Fabiana Kömmling^{1,2,3,4,5}**

¹Universidade Federal de Pelotas. ²Centro de Desenvolvimento Tecnológico. ³Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. ⁴Laboratório de Genômica Funcional. ⁵Grupo de Pesquisa em Oncologia Celular e Molecular. ⁶Faculdade de Medicina. ⁷Centro de Estudos Epidemiológicos.

*ludmila.entiauspe@gmail.com

**seixas.fk@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Agente causal do câncer cervical (CC), e responsável por levar ao óbito todos os anos 31.400 mulheres na América Latina (WHO, 2007) e 11.000 somente no Brasil (INCA, 2009), o Vírus do Papiloma Humano (HPV) é uma doença sexualmente transmissível e considerada de grande importância à Saúde Pública (WHO, 2006).

De acordo com sua capacidade de transformação neoplásica os papilomavírus podem ser classificados em baixo ou alto risco (MUÑOZ *et al.*, 2006). Atualmente, são conhecidos mais de 120 genótipos diferentes de HPV, dos quais cerca de quarenta são transmitidos sexualmente, podendo infectar a área anogenital de homens e mulheres, e destes, 15 são capazes de desenvolver em câncer genital (DE VILLIERS *et al.*, 2004).

Em pacientes com o sistema imune comprometido pela infecção do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) o risco de carcinoma anogenital é aumentado em 100 vezes na incidência de carcinoma anogenital, e em 14 vezes para o câncer cervical (MUÑOZ *et al.*, 2006). A co-infecção HIV/HPV é considerada comum devido ao comportamento de risco compartilhado para ambas as doenças, bem como uma susceptibilidade no aumento do HPV devido ao comprometimento do sistema imune (FERNANDES *et al.*, 2004).

Com base nos dados acima expostos, este trabalho objetivou identificar e analisar a prevalência dos genótipos de alto e baixo risco em mulheres HIV positivas com idades entre 18 e 45 anos da cidade de Pelotas-RS.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo contou com a participação de 71 mulheres, as quais assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, e tiveram coletada uma amostra de secreção cervical. Das amostras extraiu-se o DNA genômico e submeteu-se à reação em cadeia da polimerase *nested* (nPCR) utilizando os *primers* MY09/11 e GP5/6, cujos fragmentos obtidos de 450pb e 140pb foram visualizados em gel de agarose 1,5% e 2%, respectivamente (MANOS *et al.*, 1989; SNIJDERS *et al.*, 1990).

Nas amostras que se mostraram positivas para o HPV, o amplicons obtidos foram submetidos à purificação através de kit comercial (GFX –

Invitrogen) e sequenciadas em sequenciador Mega Bace®. Os resultados obtidos tiveram seus genótipos analisados com o auxílio do banco genômico disponível no site National Center for Biotechnology Information (Blast/NCBI). Utilizando o programa de estatística SPSS®, relacionou-se os tipos de HPV encontrados e obteve-se a percentagem de genótipos de alto e baixo risco neste grupo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os dados preliminares mostram que de um total de 71 amostras processadas, foi observada a positividade para o HPV em 42 (Tabela 1). A genotipagem por sequenciamento mostrou uma maior frequência de genótipos de baixo risco (15,5%), quando comparado aos de alto risco (Tabela 2). Estudos indicam que a infecção pelo HIV pode promover as manifestações clínicas da infecção por HPV latente ou subclínica. Assim, uma maior incidência de condiloma acuminado ou lesões cervicais foi observada na população infectada por HIV, em comparação a indivíduos HIV soronegativos (ARANY et al., 1998; FERNANDES et al., 2004). A infecção por HIV pode influenciar na patogênese de doenças associadas ao HPV diretamente por meio de interações moleculares entre os genes virais, ou indiretamente através dos efeitos sobre as funções imunológicas. A infecção pelo HIV pode mudar os padrões de transcrição do HPV, favorecendo a transcrição de genes precoces, como E7, responsáveis pela alteração celular (ARANY e TYRING, 1998). Resultados semelhantes ao presente estudo também foi observado anteriormente em outros estudos (ARANY e TYRING, 1998; ARANY et al., 1998), sugerindo que o comprometimento do sistema imune em infectados por HIV favoreceria à expressão de genes do HPV, devido a uma imunossupressão local a qual acarretaria em uma vigilância imune deficiente. Por consequência, aumentaria a susceptibilidade para a aquisição, prevalência e manifestação de lesões de HPV não-oncogênicos, eliminados em 90% dos casos de infecção em pessoas com o sistema imune competente. Porém, a importância relativa da alteração sistêmica ou resposta imune local causada pela infecção por HPV em indivíduos soropositivos para o HIV ainda não está bem documentada, nem compreendida.

Tabela 1. Status HPV observado em mulheres HIV positivas

HPV	Frequência	Percentual	Percentual Válido	Percentual Cumulativo
Negativo	29	40,8	40,8	40,8
Validado Positivo	42	59,2	59,2	100,0
Total	71	100,0	100,0	

Tabela 2. Identificação dos genótipos de HPV de alto e baixo risco

	Genótipo	Frequência	Percentual	Percentual Válido	Percentual Cumulativo
Validado	Alto Risco	6	8,5	8,5	8,5
	Baixo Risco	11	15,5	15,5	23,9
	HPV-X*	25	35,2	35,2	100,0
	NSA**	29	40,8	40,8	64,8
	Total	71	100,0	100,0	

*HPV-X: não identificado por sequenciamento; **NSA: amostras HPV negativas.

4. CONCLUSÕES

Os dados obtidos até o momento sugerem que mulheres infectadas por HIV apresentam maior tendência a se infectar por genótipos de HPV de baixo risco do que os de alto risco, e ressalta a importância do diagnóstico biomolecular na detecção precoce à manifestação clínica do HPV.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARANY I and TYRING SK. Systemic immunosuppression by HIV infection influences HPV transcription and thus local immune responses in condyloma acuminatum. **International Journal of STD and AIDS**, v.9, p.268-27, 1998.

ARANY I, EVANS T, TYRING SK. Tissue specific HPV expression and downregulation of local immune responses in condylomas from HIV seropositive individuals. **Sexually Transmitted Infections**, v.74, p.349-353, 1998.

DE VILLIERS EM, FAUQUET C, BROKER TR, BERNARD HU, ZUR HAUSEN H. Classification of papillomaviruses. **Virology**, v.324, p.17-27, 2004.

FERNANDES APM, GONÇALVES MAG, SIMÕES RT, QUINTANA SM, DUARTE G, DONADI EA. Influência da infecção pelo HIV-1 sobre a presença do HPV em lesões do colo uterino. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v.16, n.1, p.21-25, 2004.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). (2009) **Estimativas 2010: Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, p. 94, 2009.

MUÑOZ N, CASTELLSAGUÉ X, DE GONZALÉZ AB. GISSMAN L. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. **Vaccine**, v.24, n.S3, p.S3/1-S3/10, 2006.

MANOS MM, TING Y, WRIGHT DK, LEWIS AI, BROKER TR, WOLINSKY SM. The use of polymerase chain reaction amplification for the detection of genital human papillomaviruses. **Cancer Cells**, v7, p.209–214, 1989.

SNIJDERS PJF, Van Den Brule AJC, Schrijnemakers HFJ, SNOW G, MEIJER CJLM, WALBOOMERS JMM. The use of general primers in the polymerase chain reaction permits the detection of a broad spectrum of human papillomavirus genotypes. **Journal of General Virology**, v.71, p.173-181, 1990.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Comprehensive cervical cancer control: a guide to essential practice**. Geneva, p.259, 2006.

WHO/ICO Information Centre on HPV and Cervical Cancer (HPV Information Centre). **Summary report on HPV and cervical cancer statistics in Brazil**. P.28. Disponível on-line em www.who.int/hpvcentre. 2007.