



## FREQUÊNCIA DE HPV EM MULHERES COM HIV

Alana Suertegaray de Souza<sup>1</sup>  
Mirela Gehlen<sup>2</sup>  
Maria Lucia Rosa Rossetti<sup>3</sup>

### Resumo

A infecção por Papillomavírus humano (HPV) é a infecção sexualmente transmissível (IST) mais prevalente no mundo todo. A doença induzida por este vírus está na dependência de vários outros fatores que afetam o hospedeiro. O principal fator é a imunossupressão, principalmente associada à infecção por HIV. A replicação viral pode ser maior em indivíduos imunocomprometidos, contribuindo para maiores taxas de detecção e persistência viral. Portanto, este trabalho teve como objetivo identificar DNA de HPV em mulheres com HIV na região Leste Maranhense. Foram utilizadas 126 mostras cervicais de mulheres com HIV que eram acompanhadas pelo Serviço de Atendimento Especializado/Centro de Testagem e Aconselhamento (SAE/CTA) na cidade de Caxias, Maranhão. O DNA das amostras de células endocervicais foi extraído com o kit comercial High Pure Viral Nucleic Acid kit (Roche, EUA). O DNA extraído foi amplificado por PCR com os *primer* consenso (GP5+/GP6+) de uma região conservada em todos os subtipos de HPV, que geraram um fragmento de 150 pares de base da região L1 do genoma viral. Os amplicons obtidos foram visualizados em gel de agarose 2%, corado com brometo de etídio. A prevalência de DNA de HPV em pacientes infectadas por HIV foi de 44,44%.

Palavras chaves: IST; Papillomavírus humano; PCR;

### INTRODUÇÃO

A infecção por Papillomavírus humano (HPV) é a infecção sexualmente transmissível (IST) mais frequente no mundo. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que existam cerca de 630 milhões de novos casos por ano em todo o mundo, sendo 30 milhões associados aos condilomas acuminados, 30 milhões às lesões de baixo grau, 10 milhões às de alto grau e 500 mil ao câncer do colo do útero. Acredita-se, ainda, que uma em cada cinco mulheres é portadora desse vírus (GAO et al., 2010). O desenvolvimento destas lesões está diretamente relacionado com a presença dos diferentes tipos de HPV (TROTIER et al., 2006). A coinfeção HIV e HPV têm sido relatadas devido aos fatores de risco para essas duas infecções serem bastante similares, como múltiplos parceiros sexuais, idade precoce para a primeira relação sexual, sexo com homens que tiveram múltiplas parceiras, baixo nível socioeconômico e prática sexual sem proteção, são importantes fatores ou risco comuns às duas infecções virais (CRUZ et al., 2016).

A infecção por HPV é fortemente associada ao desenvolvimento do câncer de colo do útero (SOTLAR et al., 2004; NONENMACHER et al., 2003). Contudo, apesar desta infecção ser a mais comum das IST, apenas uma pequena parcela das mulheres infectadas

---

<sup>1</sup> Graduanda em Biomedicina- Bolsista CNPq- Bizuca@hotmail.com

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciência Pneumológicas, UFRGS, Porto Alegre- mirelagehlen@gmail.com

<sup>3</sup> Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular e Celular Aplicada à Saúde, ULBRA.- Mrossett@terra.com.br

pelo vírus desenvolve o câncer, o que demonstra que apenas a presença do HPV parece ser insuficiente para o desenvolvimento de câncer cervical (WRIGHT et al., 2007).

Em 1993, o câncer cervical invasivo foi adicionado à lista de doenças definidoras do quadro de síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) pelos Centers for Disease Control and Prevention (CDC) dos Estados Unidos (CDC, 1993). Estudos mostram que mulheres HIV-positivo têm uma maior prevalência de infecção por HPV (SANJOSÉ et al., 2002; PALEFSKY, 2006) e, frequentemente, estas mulheres estão infectadas com um maior número de tipos do vírus que às HIV-negativo (QUEIROZ et al., 2004). A presença de múltiplos tipos virais e de tipos virais (TROTIER et al., 2006) de alto risco oncogênico (CASTELLSAGUÉ, 2008) está relacionada a desfechos desfavoráveis, tais como persistência da infecção e aumento na prevalência e na progressão das lesões. Além disso, há evidências de uma maior prevalência de lesões intraepiteliais cervicais entre as mulheres HIV-positivo, quando comparadas às HIV-negativo (SANJOSÉ et al., 2002; PALEFSKY, 2003; PALEFSKY, 2006).

No Brasil, estudos na região sul e sudeste relataram a infecção HIV/HPV na população feminina com aumento da prevalência dos genótipos oncogênicos de HPV (CERQUEIRA et al., 2007; COELHO LIMA et al., 2009; ENTIAUSPE et al., 2010; MELGAÇO et al., 2011). Em um estudo realizado na Bahia, foi encontrada uma prevalência de 100% do DNA de HPV entre as mulheres HIV-positivo, com predomínio em indivíduos afrodescendente (QUEIROZ et al., 2004). Similarmente, uma prevalência de 98% para o HPV foi encontrada em um estudo utilizando a reação em cadeia da polimerase (PCR), que incluiu apenas mulheres HIV-positiva em São Paulo. Outro estudo dos mesmos autores, porém, utilizando o método da captura híbrida, mostrou uma prevalência do HPV de 64,5% entre mulheres HIV-positivo (LEVI et al., 2002). Ainda assim, há insuficiência de informações que instigam a curiosidade científica de investigar essa ocorrência em populações vulneráveis, principalmente em mulheres positivas para HIV, em serviços que atendam a essa população específica.

A variação nas prevalências encontradas entre diversos estudos pode em parte ser devido ao delineamento dos estudos e o uso de técnicas de identificação de DNA viral de diferentes sensibilidades. Entretanto, a maior positividade do HPV em mulheres HIV é observada independentemente do exame realizado.

Este trabalho teve como objetivo identificar DNA de HPV em amostras cervicais de mulheres com HIV na região do leste maranhense, onde os dados sobre o assunto ainda são escassos.

## **METODOLOGIA**

As análises foram realizadas em amostras cervicais de pacientes portadoras de HIV que são acompanhadas pelo Serviço de Atendimento Especializado/Centro de Testagem e Aconselhamento (SAE/CTA) na cidade de Caxias, Maranhão, no período de setembro de 2014 a setembro de 2016. Para realização da pesquisa, foi estimado um número (n) de 126 de mulheres com o HIV, considerando uma prevalência geral estimada da infecção genital por qualquer tipo de HPV de 55% (CECCATO et al., 2015).

### **Extração do DNA**

O DNA das amostras de células endocervicais foi extraído utilizando um kit comercial High Pure Viral Nucleic Acid kit (Roche, EUA) seguindo as instruções do fabricante. Após a extração, o DNA foi armazenado a -20°C.

## Amplificação por PCR

Primeiramente, o DNA extraído foi amplificado por PCR com os *primer* consenso (GP5+/GP6+) de uma região conservada de HPV, que geram um fragmento de 150 pares de base (pb) da região L1 do genoma viral, GP5+ (5' TTT GTT ACT GTG GTA GAT ACT AC 3') e GP6+ biotilado (5' Bio – GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT C 3') (de Roda Husman et al., 1995). A reação de PCR foi realizada com tampão (50nM de KCl, 10mM Tris\_HCl ph 8,5), 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,25 mM de dNTPs (desoxirribonucleosida 5'-triofosfatos – dATP, dCTP, dGTP e dTTP), 50 ng de cada *primer*, 2,5 U de Taq DNA polimerase (Invitrogen, Life Technologies®, São Paulo, Brazil), 5 µl de DNA no controle positivo (plasmídeo), por fim adicionado água ultrapura para completar o volume final de 50 µl. As condições da PCR utilizadas foram: desnaturação inicial 5 min a 95°C; 40 ciclos de 1 min a 95°C, seguidos de 1 min a 52°C e 1 min a 72°C; e extensão final 10 min a 72°C.

## Eletroforese

Os amplicons obtidos foram visualizados em gel de agarose 2%, corado com brometo de etídeo. O gel foi produzido no próprio laboratório. O tamanho dos fragmentos foi estimado por comparação com o marcador de tamanho molecular 100 pb (*ladder 100 pb*).

## RESULTADOS

A fim de verificar a presença de HPV nas pacientes, foram amplificadas todas as 126 amostras. Dessas, 56 (44,44%) foram consideradas positivas, pois as amostras apresentaram fragmentos de tamanho de 150 pb correspondentes à região L1 (figura abaixo). As amostras negativas não apresentavam amplificação do fragmento.

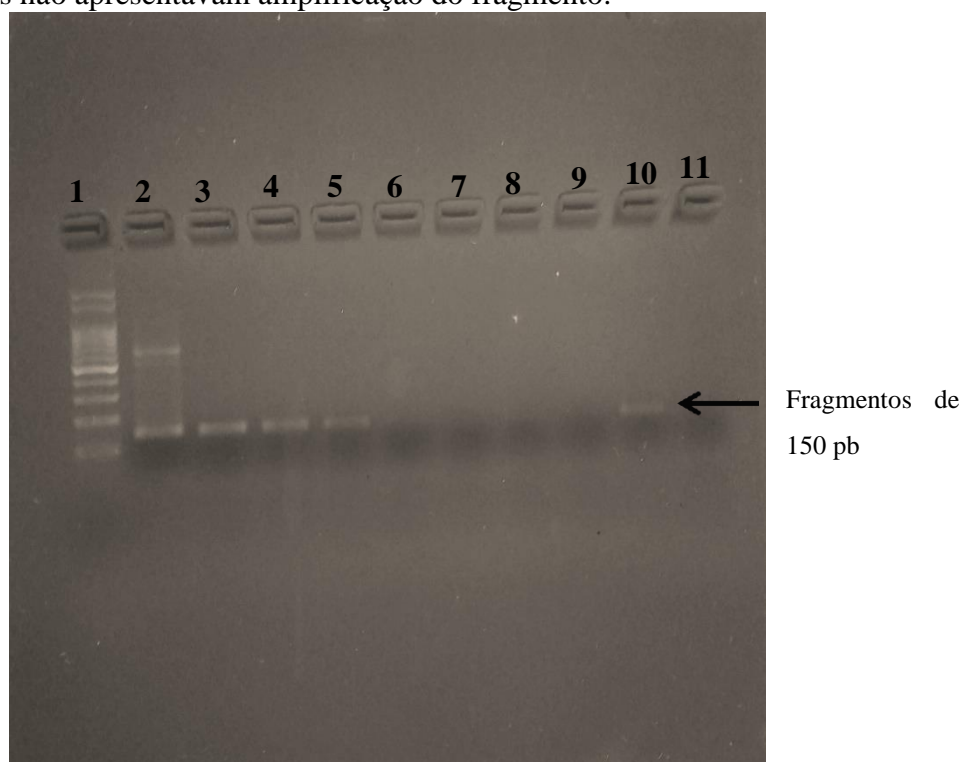


Figura: Fotografia de eletroforese em gel de agarose 2% de produtos amplificados por PCR.

Canaleta 1: Marcador; Canaleta 2: Controle Positivo; Canaleta 3 – 10: Amostras amplificadas por PCR; Canaleta 11: Controle Negativo;

Posteriormente, esses DNAs serão genotipados para determinar se o vírus

encontrado é de alto risco (16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52, 58).

## DISCUSSÃO

Nesse estudo a prevalência de HPV foi de 44,44% em mulheres com HIV. Essa prevalência está dentro do esperado. Em um estudo realizado por Sun et al. (2005), o DNA-HPV foi encontrado em 60% das mulheres HIV-positivo, ao passo que, entre as HIV-negativo, a prevalência foi de 36%. Campos et al., encontraram diferença significativa sendo a prevalência de DNA-HPV de 73,2% entre as mulheres infectadas pelo HIV, e de 23,7% entre as HIV-negativo. Outro estudo realizado no Sul do Brasil teve a prevalência do HPV de 27,5% (TEIXEIRA et al., 2016).

De tudo que já se conhece a respeito da infecção pelo HPV e neoplasia cervical em mulheres portadoras do HIV, muitas dúvidas levantadas permanecem sem resposta, incluindo o melhor seguimento para essas pacientes, estratégia de vigilância, o papel dos diferentes tipos de HPV e a identificação de fatores independentes, preditivos do desenvolvimento da doença. Mulheres coinfectadas pelo HPV/HIV tem probabilidade três vezes maior do que as não infectadas (soronegativas) de desenvolver neoplasias intraepitelial cervical (NIC). Como descrito, a vulnerabilidade da mulher com HIV ao câncer cérvicouterino se justifica pelo estado de imunodepressão que torna favorável a rápida evolução das lesões cervicais, em especial as causadas por HPV (PEREIRA et al., 2014).

## CONCLUSÃO

Esse estudo determinou que a prevalência de DNA de HPV em mulheres com HIV positivo na cidade de Caxias no Leste Maranhense foi de 44,44%. Esses DNAs serão genotipados para determinar subtipos de alto risco.

## REFERÊNCIAS

CAMPOS RR, MELO VH, CASTILHO DM. Prevalência do papilomavírus humano e seus genótipos em mulheres portadoras e não- portadoras do vírus da imunodeficiência humana. **Rev Bras Ginecol Obstet**. Minas Gerais. v. 27 n. 5, p. 248-56, abril de 2005.

CDC.1993 Revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. **MMWR** Druid Hills, Geórgia, v. 41, p.1-20, maio de 1993.

CERQUEIRA DM, MORAES DS, CAMARA GN, AMARAL FA, OYAMA CN, et al. High HPV genetic diversity in women infected with HIV-1 in Brazil. **Arch Virol**. Brasília, v. 152, n. 1, p. 75-83, 2007. [Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007/s00705-006-0828-6>>].

CECCATO VJ, CECCATO AP, FIORINI L, MAGALHÃES L, HUGO V, Prevalência infecção cervical por papilomavírus humano e neoplasia intraepitelial cervical em mulheres HIV-positivas e negativas. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet**. Rio de Janeiro, v. 37 n. 4, p. 178-85, 2015.

COELHO BM, GOLUB JE, TONANI A, FREITAS LB, SPANO LC, MIRANDA AE. Human papillomavirus in women with and without HIV-1 infection attending an STI clinic in Vitoria, Brazil. **J Int Assoc Physicians AIDS Care (Chic III)**. Vitória, v. 8, n. 5, p. 286-90, 2009.

ENTIAUSPE LG, TEIXEIRA LO, MENDOZA-SASSI RA, GONÇALVES CV, GONÇALVES P, MARTINEZ AMB. Papilomavírus humano: prevalência e genótipos encontrados em mulheres HIV positivas e negativas, em um centro de referência no extremo Sul do Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** Uberaba, v. 43 n. 3, p. 260-63, maio/jun. 2010.

LEVI JE, FERNANDES S, TATENO AF, MOTTA E, LIMA LP, ELUP-NETO J, et al. Presence of multiple human papillomavirus types in cervical samples from HIV-infected women. **Gynecol Oncol.** São Paulo, v. 92, p. 225-31, 2004.

MELGAÇO FG, ROSA MLG, AUGUSTO EF, HAIMURI JGS, JACINTHO C, SANTOS LSS, et al. Human papillomavirus genotypes distribution in cervical samples from women living with human immunodeficiency virus. **Arch Gynecol Obstet.** Rio de Janeiro, v. 283 p. 809–17, 2011.

MINKOFF H, FELDMAN J, DEHOVITZ J, LANDESMAN S, BURK R. A longitudinal study of human papillomavirus carriage in human immunodeficiency virus-infected and human immunodeficiency virus-uninfected women. **Am J Obstet Gynecol.** New York, v. 178, n. 5, p. 982-6, 1998.

NONNENMACHER B, BREITENBACH V, VILLA LL, PROLLA JC, BOZZETTI MC. Identificação do papilomavírus humano por biologia molecular em mulheres assintomáticas. **Rev Saúde Pública,** São Paulo, vol. 36 n. 1, fev. 2002.

NONNENMACHER B, PINTOS J, BOZZETTI MC. Epidemiologic correlates of antibody response to human papillomavirus among women at low risk of cervical cancer. **Int J STD AIDS.** Porto Alegre, v. 14, p. 258-65, 2003.

PALEFSKY JM. HPV infection and HPV-associated neoplasia in immunocompromised women. **Int J Gynaecol Obstet.** Germany, v. 94, n. 1, p. 6-64, 2006.

SOTLAR K, STUBNER A, DIEMER D, MENTON S, DIETZ K, WALLWIENER R, et al. Detection of high-risk human papillomavirus E6 and E7 oncogene transcripts in cervical scrapes by nested RT-polymerase chain reaction. **J Med Virol.** Germany, v. 74, p.107-16, 2004. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15258976>].

WRIGHT Jr TC, MASSAD LS, DUNTON CJ, SPITZER M, WILKINSON EJ, SOLOMON D, et al. 2006. Consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia or adenocarcinoma in situ. **Am J Obstet Gynecol.** New York, v. 197, p. 346-55, 2007.